



# Semi-quantitative röntgentomographische Untersuchungen zur Biodistribution von magnetischen Nanopartikeln in biologischem Gewebe

Der Fakultät Maschinenwesen  
der  
TECHNISCHEN UNIVERSITÄT DRESDEN  
zur  
Erlangung des akademischen Grades

Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)

Dipl.-Ing. (FH) Helene Rahn

Geb. am 21.05.1980 in Podolsk, Russland

Erster Gutachter:	Prof. Dr. rer. nat. habil. S. Odenbach
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. med. Ch. Alexiou
Betreuender Hochschullehrer:	Prof. Dr. rer. nat. habil. S. Odenbach

Tag der Einreichung:	25.07.2011
Tag der mündlichen Prüfung:	12.12.2011



*Behält man sich die kindliche Neugier und die Begeisterungsfähigkeit,  
so steht einem jede Welt offen.*

*Dresden, Januar 2012*



# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>v</b>
<b>Symbolverzeichnis .....</b>	<b>ix</b>
<b>1 Einleitung und Motivation .....</b>	<b>13</b>
<b>2 Ferrofluide – Grundlagen, Charakterisierung und Anwendungen ....</b>	<b>17</b>
2.1 Physikalische Grundlagen magnetischer Flüssigkeiten .....	17
2.1.1 Stabilitätskriterien .....	17
2.2 Magnetische Eigenschaften .....	21
2.2.1 Magnetisierung .....	21
2.2.2 Relaxation magnetischer Partikel .....	23
2.3 Magnetorelaxometrie – quantitative Bestimmung des Eisengehalts .....	25
2.4 Technische Anwendungen von Ferrofluiden .....	27
2.4.1 Dichtung rotierender Wellen .....	27
2.4.2 Lautsprechertechnik .....	28
2.5 Anwendung von Ferrofluiden in der Biomedizin .....	28
2.5.1 Magnetisches Drug Targeting .....	29
2.5.2 Magnetische Hyperthermie .....	31
<b>3 Röntgentomographie .....</b>	<b>35</b>
3.1 Historischer Hintergrund .....	35
3.2 Physikalische Grundlagen .....	36
3.2.1 Photoelektrischer Effekt .....	36
3.2.2 Comptoneffekt .....	37
3.2.3 Elektronenpaarbildung .....	37
3.3 Röntgenquellen .....	38
3.3.1 Röntgenröhre .....	38
3.3.2 Synchrotron .....	40
3.4 Messprinzip .....	43
3.4.1 Projektion .....	45
3.4.2 Fourier-Slice-Theorem .....	46
3.4.3 Rekonstruktion mit gefilterter Rückprojektion .....	49
3.4.4 Sinogramm .....	50
3.5 Kegelstrahlgeometrie .....	50
3.6 Artefakte .....	51
3.6.1 Bewegungsartefakt .....	52
3.6.2 Objektausrichtung .....	52
3.6.3 Strahlaufhärtung – beam hardening .....	53

3.6.4 Streustrahlung.....	55
3.6.5 Streifen- oder Sternartefakt.....	55
<b>4 Experimentelle Aufbauten .....</b>	<b>57</b>
4.1 DiTo – Multifunktionstomographieanlage - 2-D-Diffraktion und 3-dimensionale Mikrotomographie.....	57
4.2 Tomographiepart von DiTo.....	58
4.3 LeTo – Low Energy Tomography .....	64
4.4 TomoTU .....	65
<b>5 Basischarakterisierungen der verwendeten Apparaturen.....</b>	<b>67</b>
5.1 Bestimmung der räumlichen Auflösung von DiTo .....	67
5.1.1 Linearität des Detektorsystems .....	69
5.2 Räumliche Auflösung und Linearität von LeTo und TomoTU.....	70
5.2.1 Räumliche Auflösung .....	70
5.2.2 Linearität .....	71
5.3 Langzeitstabilität der Röntgenröhren von LeTo und TomoTU .....	73
5.3.1 LeTo .....	73
5.3.2 TomoTU .....	74
<b>6 Ergebnisse, Auswertung und Interpretation.....</b>	<b>77</b>
6.1 Tumorproben .....	77
6.2 Arterien .....	83
<b>7 Quantitative <math>\mu</math>CT .....</b>	<b>91</b>
7.1 Entwicklung eines Phantoms für biologische Gewebeproben mit magnetischen Nanopartikeln .....	93
7.1.1 Agarose-Gel .....	93
7.1.2 Ballistische Gelatine.....	98
7.1.3 Glyzerinseife .....	99
7.1.4 Polyurethan .....	101
7.2 Kalibrierkurve .....	107
7.2.1 $X_{\mu}$ CT .....	107
7.2.2 $SR_{\mu}$ CT .....	109
7.2.3 Wasserphantom - Kalibration der Tomographieanlage LeTo auf Hounsfieldeinheiten.....	110
7.3 Applikation der Kalibrationsgeraden .....	114
7.3.1 Anwendung der Kalibrationsgeraden für $X_{\mu}$ CT-Datensätze.....	114
7.3.2 Tumor 1 nach magnetischem Drug Targeting .....	117
7.3.3 Tumor 2 nach magnetischem Drug Targeting .....	119
7.3.4 Arteriensegment 1 aus dem ex-vivo Arterienmodell – monochromatisch .....	120
7.3.5 Arteriensegment 2 aus dem ex-vivo Arterienmodell – monochromatisch .....	123
7.3.6 Arteriensegment 3 aus dem ex-vivo Arterienmodell – monochromatisch und polychromatisch.....	124
7.3.7 Umrechnung in HE-Werte .....	127

---

<b>8 Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>129</b>
8.1 Zusammenfassung .....	129
8.2 Ausblick – Verbesserung der tomographischen Aufnahmen .....	132
8.2.1 Differentielle Tomographie unter Ausnutzung der Absorptions- kante .....	132
8.2.2 Dual-Energie-Verfahren.....	133
8.2.3 Dual-Energie-Verfahren in Kombination mit PUR-Ferrofluid- Phantomen .....	135
<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>139</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>153</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>161</b>





# Symbolverzeichnis

## Lateinische Buchstaben

<b>Formelzeichen</b>	<b>Einheit</b>	<b>Benennung</b>
<i>B</i>	<i>T (Tesla)</i>	magnetische Flussdichte
<i>c</i>	<i>kg/l</i>	Konzentration
<i>d</i>	<i>m</i>	Durchmesser
<i>E</i>	<i>J</i>	Energie
<i>F</i>	<i>N</i>	Kraft
<i>F</i>		2-dimensionale Fouriertransformierte
<i>f</i>	<i>s<sup>-1</sup></i>	Frequenz
<i>H</i>	<i>A/m</i>	magnetische Feldstärke
<i>H</i>	<i>g<sup>1/2</sup> cm<sup>-1/2</sup> s<sup>-1</sup></i>	Oersted – Einheit der magnetischen Feldstärke im CGS-Einheitensystem
<i>I</i>	<i>A</i>	elektrischer Strom
<i>I</i>	<i>W</i>	Intensität
<i>l</i>	<i>m</i>	Länge
<i>M</i>	<i>A/m</i>	Magnetisierung
<i>m</i>	<i>kg</i>	Masse
<i>m</i>	<i>Am<sup>2</sup></i>	magnetisches Moment
<i>P</i>		Projektion
<i>Q</i>		gefilterte Projektion
<i>r</i>	<i>m</i>	Radius
<i>S</i>		Fouriertransformierte
<i>T</i>	<i>K (Kelvin)</i>	absolute Temperatur
<i>T</i>	<i>°C (Grad Celsius)</i>	Temperatur

Formelzeichen	Einheit	Benennung
$t$	$s$	Zeit
$U$	$V$	Spannung
$V$	$m^3$	Volumen
$W$		Wahrscheinlichkeit
$Z$		Kernladungszahl

## Griechische Buchstaben

Formelzeichen	Einheit	Benennung
$\alpha$		Verhältnis von magnetischer zur thermischer Energie
€	<i>Euro</i>	Europäische Währung
$\Gamma$	$^\circ$ ( <i>Grad</i> )	Öffnungswinkel des Strahlkegels
	<i>vol%</i>	Volumenanteil
$\eta$	<i>Pa·s</i>	dynamische Viskosität
$\lambda$	$m$	Wellenlänge
$\mu_0$	$m^{-1}$	linearer Absorptionskoeffizient bzw. linearer Schwächungskoeffizient
$\rho$	$kg/m^3$	Dichte
$\Theta$	$^\circ$ ( <i>Grad</i> )	Winkel
$\tau$	$s$	Relaxationszeit
$\chi$		Suszeptibilität

## Indizes

<b>Index</b>	<b>Benennung</b>
<i>Anfang</i>	Anfang
<i>Brown</i>	Brown
<i>G</i>	Schwerefeld
<i>Néel</i>	Néel
<i>m</i>	magnetisches Material
<i>mag</i>	Magnetisierung
<i>p</i>	Partikel
<i>r</i>	Relaxationssignal
<i>S</i>	Sättigung
<i>s</i>	Strahlung
<i>T</i>	Temperatur
<i>t</i>	Strahlenpfad
<i>0</i>	Initialzustand

## Konstanten

<b>Konstante</b>	<b>Wert / Einheit</b>	<b>Benennung</b>
$f_0$	$10^9 \text{ s}^{-1}$	Larmour Frequenz
$g_0$	$9,81 \text{ m/s}^2$	Erdbeschleunigung
$\mu_0$	$1,256 \cdot 10^{-6} \text{ Vs / Am}$	Magnetische Permeabilität des Vakuums
$K$	$\text{J/m}^3$	Anisotropiekonstante
$k_B$	$1,38 \cdot 10^{-23} \text{ Nm/K}$	Boltzmannkonstante



# 1 Einleitung und Motivation

Krebs ist eine der häufigsten Todesursachen unserer Zeit [RKI 2006]. Neben den konventionellen Therapien wie Radio- und Chemotherapie werden seit einigen Jahren neue minimal-invasive Therapieansätze verfolgt. Der Fokus liegt dabei verstärkt auf einer Behandlung der Tumorregion, wobei der negative Einfluss von zum Beispiel Chemotherapeutika oder ionisierender Strahlung auf den Gesamtorganismus deutlich reduziert werden soll. Bei diesen minimal-invasiven Therapieansätzen handelt es sich um das magnetische Drug Targeting und die magnetische Wärmebehandlung. Die Besonderheit dieser Arten von Behandlungen ist, dass sie auf magnetischen Flüssigkeiten, Suspensionen magnetischer Partikel in einer Trägerflüssigkeit, basieren. Ferrofluide lassen sich durch moderate magnetische Felder beeinflussen und eröffnen damit ein weites Spektrum von Anwendungen auch im biomedizinischen Bereich. Zum Beispiel werden im Falle von magnetischem Drug Targeting die suspendierten magnetischen Nanopartikel als Transporter für ein Chemotherapeutikum in eine Zielregion, zum Beispiel einen Tumor, verwendet. Aufgrund dieser magnetisch unterstützten Therapie wird eine deutlich höhere Medikamentendosis im Tumor, bei gleichzeitig geringerer Dosis im gesamten Körper, erreicht. Die magnetische Wärmebehandlung profitiert von der Möglichkeit, mittels magnetischer Nanopartikel in der Zielregion eine lokale Temperaturerhöhung zu erzielen. Die Temperaturerhöhung wird über Ummagnetisierungsprozesse der Nanopartikel, hervorgerufen durch ein magnetisches Wechselfeld, erreicht.

Beide Therapien werden zum aktuellen Zeitpunkt überwiegend an Versuchstieren und in einigen Fällen an menschlichen Patienten mit einer Krebserkrankung im Endstadium untersucht. Der Erfolg dieser lokalen minimal-invasiven Therapien ist in starkem Maße von der korrekten Verteilung der magnetischen Nanopartikel aber auch von der Tatsache, dass diese in der Zielregion in einer ausreichenden Menge vorhanden sind abhängig. Die Untersuchung des Vorliegens dieser Voraussetzungen für den Therapieerfolg ist die Motivation dieser Arbeit.

Die magnetischen Suspensionen bilden die Grundlage der lokalen Krebstherapien. Ferrofluide, ihre magnetischen Eigenschaften, technischen Anwendungen sowie spezielle biomedizinische Applikationen werden in Kapitel 2 vorgestellt.

Die Untersuchung der Nanopartikelverteilung in Tumorproben und anderen Gewebeproben wird mit Hilfe der in der medizinischen Bildgebung weit verbreiteten Bildgebungsmethode Röntgencomputertomographie (XCT) durchgeführt. Dabei wird eine spezielle Form der Tomographie genutzt: die Röntgenmikrocomputertomographie ( $X\mu$ CT). Die Mikrocomputertomographie erlaubt die zerstörungsfreie 3-dimensionale Visualisierung opaquer Objekte mit einer Detailgenauigkeit von wenigen Mikrometern. Die physikalischen Grundlagen der Röntgenstrahlung sowie das Prinzip der tomographischen Vermessung und die mathematische Herleitung der Rekonstruktion der untersuchten Objekte werden in Kapitel 3 dargestellt.

Für die tomographischen Untersuchungen sind mehrere Computertomographen verwendet worden. Zum einen basieren diese auf Röntgenröhren und zum anderen auf Synchrotronstrahlung. Die Apparaturen, ihre Charakterisierung bis hin zu ihrer Kalibration werden in den Kapiteln 4 und 5 ausführlich beschrieben.

Das darauffolgende Kapitel 6 befasst sich mit qualitativen röntgentomographischen Untersuchungen zur Biodistribution von magnetischen Nanopartikeln in biologischem Gewebe. Dabei werden sowohl polychromatische als auch am Synchrotron aufgenommene monochromatische Daten präsentiert und einander gegenübergestellt.

Für den Erfolg der oben beschriebenen minimal-invasiven Krebstherapien ist es nicht nur von essentiellm Interesse, dass die magnetischen Nanopartikel homogen in der Zielregion verteilt sind, sondern dort auch in einer ausreichenden Menge vorhanden sind. Die Nanopartikelkonzentration kann mit Hilfe von sehr genauen Messtechniken, wie zum Beispiel der Magnetorelaxometrie oder der Histologie in Kombination mit der Magnetorelaxometrie, ermittelt werden. Diese liefern jedoch keine 3-dimensionalen Informationen.

Aufgrund der Polychromasie der Röntgenröhren und damit zusammenhängenden Artefakten konnten die tomographischen Daten von biologischem Gewebe bisher ausschließlich qualitativ ausgewertet werden. Eine im Rahmen der Arbeit entwickelte Kalibration der Tomographieanlagen eröffnet eine Möglichkeit, die tomographischen Daten semi-quantitativ auszuwerten. Für diesen Zweck ist ein geeignetes Phantomsystem entwickelt worden. Mit dessen Hilfe können die polychromatischen 3-dimensionalen Repräsentationen der Objekte im Hinblick sowohl auf die Biodistribution der Nanopartikel als auch auf deren Quantität untersucht werden.

Die Phantomentwicklung wird ausführlich in Abschnitt 7.1 dargelegt. Nachfolgend wird die Bestimmung der Kalibrationsgleichungen für die polychromatische To-

mographieanlage LeTo (Low Energy Tomography) erläutert sowie für eine dem Helmholtz Zentrum Geesthacht (HZG) gehörende Synchrotronkamera an der BWII Beamline am Deutschen Elektronen Synchrotron (DESY) in Hamburg. Zusätzlich wurde die  $\mu$ CT-Apparatur LeTo auf Hounsfield-Einheiten kalibriert. Die Erläuterung zum speziellen Wasserphantom sowie die Ermittlung der Kalibrationsgleichung zur Umrechnung von 16-Bit Grauwerten in Hounsfield-Einheiten sind in Abschnitt 7.3 beschrieben.

Die Anwendung der ermittelten Kalibrationsgleichungen für die Semi-Quantifizierung und Umrechnung in Hounsfield-Einheiten wird in Abschnitt 7.4 erörtert. An einigen ausgewählten biologischen Gewebeproben wurde beispielhaft die Semi-Quantifizierung durchgeführt. In diesem Rahmen wird die Software präsentiert, mit deren Hilfe 3-dimensionale tomographische Daten semi-quantitativ ausgewertet und die Konzentrationsbereiche in ausgewählten Gewebearealen farblich hervorgehoben werden können.

Der Ausblick in Kapitel 8 beschäftigt sich mit möglichen Verbesserungen von röntgentomographischen Aufnahmen, die zur Kontraststeigerung führen können. Hierbei werden einige vielversprechende Ansätze präsentiert.





## 2 Ferrofluide – Grundlagen, Charakterisierung und Anwendungen

Dieses Kapitel gibt einen Überblick zu magnetischen Flüssigkeiten, die auf magnetischen Nanopartikeln basieren und als Ferrofluide bezeichnet werden. Seit ihrer Synthese durch Papell [Papell 1964] ermöglicht vor allem die Beeinflussbarkeit von magnetischen Suspensionen durch moderate Magnetfelder eine Vielzahl von Anwendungen in Medizin und Technik. Zunächst wird auf die magnetischen Eigenschaften sowie die magnetische Charakterisierung dieser speziellen Fluide eingegangen. Dem folgend werden die verbreiteten technischen Anwendungen beschrieben und im Anschluss daran zwei spezielle biomedizinische Applikationen zur magnetisch unterstützten minimal-invasiven Krebstherapie vorgestellt.

### 2.1 Physikalische Grundlagen magnetischer Flüssigkeiten

Ferrofluide sind Suspensionen nanoskaliger magnetischer Partikel in nichtmagnetischen Trägerflüssigkeiten. Derartige magnetische Flüssigkeiten wurden zuerst durch Stephen Papell im Jahre 1964 synthetisiert [Papell 1964]. Die Nanopartikel können als Eindomänenteilchen betrachtet werden, da sie aufgrund ihrer geringen Größe keine magnetischen Domänenwände bilden. Die Partikel sind aus Magnetit  $Fe_3O_4$  oder Maghemit  $Fe_3O_2$ , gelegentlich wird ein Gemisch aus Magnetit und Maghemit verwendet [Dutz 2009]. Für einige technische Anwendungen sind auch Kobaltpartikel von Interesse. Die verwendeten Trägerflüssigkeiten können Wasser, Kohlenwasserstoffe sowie deren Verbindungen Kerosin, Paraffin und verschiedene Öle sowie synthetische Ester sein.

In den folgenden Abschnitten werden die Ferrofluide näher charakterisiert

#### 2.1.1 Stabilitätskriterien

Sowohl für technische als auch für medizinische Anwendungen von magnetischen Flüssigkeiten ist die Stabilität der kolloidalen Suspension von großer Bedeutung. Einige Kriterien bezüglich der Langzeitstabilität müssen hierbei erfüllt werden.

Dabei stehen die Stabilität gegen Agglomeration und die Stabilität im Schwerfeld sowie im Magnetfeld im Vordergrund. Dazu muss die thermische Energie  $E_T$  der Partikel

$$E_T = k_B T \quad (2.1)$$

mit der Boltzmann-Konstanten  $k_B = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ Nm} / \text{K}$  und der absoluten Temperatur  $T$  in Kelvin größer sein als die Energien im Magnetfeld  $E_H$  und im Gravitationsfeld  $E_G$ .

Die Sedimentationsstabilität der Partikel in einem Magnetfeldgradienten ist dann gegeben, wenn die thermische Energie  $E_T$  ausreichend groß ist, um eine freie Partikelbewegung zwischen einem Ort höchsten Magnetfeldeinflusses und einem Ort ohne Magnetfeldeinfluss zu gewährleisten. Die Energie eines sphärischen Partikels in einem magnetischen Feld kann wie in Gleichung (2.2) mit der Permeabilität des Vakuums  $\mu_0 = 1,256 \cdot 10^{-6} \text{ Vs} / \text{Am}$ , der spontanen Magnetisierung  $M_0$  des magnetischen Materials, der magnetischen Feldstärke  $H$  und dem Partikeldurchmesser  $d$  ausgedrückt werden [Rosensweig 1985, Odenbach 2002, S. 8f.]:

$$E_H = \frac{\mu_0 M_0 H \pi d^3}{6} \quad (2.2)$$

Unter Annahme typischer Werte für die magnetische Feldstärke von  $H = 5 \cdot 10^5 \text{ A} / \text{m}$  und für die spontane Magnetisierung von Magnetit  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  von  $M_0 = 4,5 \cdot 10^5 \text{ A} / \text{m}$  kann anhand der Gleichungen (2.1) und (2.2) der kritische Partikeldurchmesser  $d_{krit,m}$  errechnet werden:

$$d_{krit,m} \leq \left( \frac{6 k_B T}{\mu_0 M_0 H \pi} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (2.3)$$

Der kritische Durchmesser für eine Suspension mit Magnetitpartikeln beträgt  $d_{krit,m} = 11 \text{ nm}$ . Für die Teilchen kleiner als der kritische Durchmesser ist die thermische Energie der Partikel ausreichend groß um Sedimentation und demnach einer magnetfeldbedingten Entmischung entgegenzuwirken.

Wie oben erwähnt, ist die Stabilität der Suspension im Schwerfeld ebenfalls ein wichtiges Kriterium für deren Einsatz in Medizin und Technik. Die Energie im Schwerfeld kann wie folgt berechnet werden:

$$E_G = \frac{\Delta \rho g_0 h_s \pi d^3}{6} \quad (2.4)$$

Dabei wird die Dichtedifferenz zwischen der Trägerflüssigkeit und den Partikeln durch  $\Delta\rho$  ausgedrückt,  $h_s$  ist die Höhe der Probe und  $g_0$  gibt die Erdbeschleunigung an. Gemäß Gleichung (2.4) kann der maximale Partikeldurchmesser  $d_{krit,g}$  ermittelt werden, bei dem die thermische Energie ebenso groß ist wie die Energie im Schwerfeld:

$$d_{krit,g} \leq \left( \frac{6k_B T}{\Delta\rho g_0 h_s \pi} \right)^{\frac{1}{3}}. \quad (2.5)$$

Da Magnetit ein häufig verwendetes Material zur Partikelherstellung ist, wird auch in diesem Fall die Berechnung des kritischen Partikeldurchmessers auf die Materialparameter von Magnetit gestützt. So beträgt die Dichtedifferenz  $\Delta\rho = 4200 \text{ kg} / \text{m}^3$  für den Fall, dass Wasser als Trägermedium verwendet wurde. Bei einer Probenhöhe von  $h_s = 0,1 \text{ m}$  errechnet sich mittels Formel (2.5) der kritische Partikeldurchmesser zu  $d_{krit,g} = 13 \text{ nm}$ . Eine Suspension mit einem Partikeldurchmesser kleiner als der kritische Partikeldurchmesser  $d_{krit,g} = 13 \text{ nm}$  ist trotz des Einflusses durch das Schwerfeld langzeitstabil, da die thermische Energie die gleichmäßige Verteilung der Partikel in der Trägerflüssigkeit bedingt.

Die somit grundsätzlich gegebene Stabilität magnetischer Flüssigkeiten wird durch die interpartikulären Wechselwirkungen beeinträchtigt. Die magnetische Dipol-Dipol-Wechselwirkung sowie die van-der-Waals-Wechselwirkung können die Agglomeration der Partikel bewirken und dadurch eine Partikelgrößenzunahme hervorrufen. Die Erhöhung der Partikeldurchmesser führt zu einer Instabilität durch Magnetfeld- oder Gravitationsfeldeinfluss. Die Dipol-Dipol-Energie erreicht ihr Maximum bei direktem Kontakt der Partikeloberflächen und paralleler Ausrichtung der magnetischen Momente der Partikel. Für Magnetitpartikel wirkt die thermische Energie der Dipol-Dipol-Wechselwirkung entgegen, sofern die Partikeldurchmesser kleiner sind als der kritische Durchmesser  $d_{krit} = 10 \text{ nm}$ .

Um eine Agglomeration durch die van-der-Waals-Wechselwirkung zu verhindern, werden die magnetischen Nanopartikel mit einer Oberflächenbeschichtung versehen. Die sterische Stabilisierung der magnetischen Partikel kann mit Polymeren erreicht werden. Im Falle von Magnetitpartikeln mit einem Durchmesser von  $10 \text{ nm}$  ist eine Beschichtungsdicke von  $2 \text{ nm}$  ausreichend, um eine Agglomeration - hervorgerufen durch die van-der-Waals-Wechselwirkung - zu verhindern. Die Komponenten der Partikelhülle müssen gleiche dielektrische Eigenschaften aufweisen wie die verwendete Trägerflüssigkeit, um die van-der-Waals-Wechselwirkung zwischen den Oberflächenmolekülen zu verhindern [Odenbach 2001, Odenbach 2002, S. 8f.]. In Abbildung 2.1 ist eine schematische Darstellung der magnetischen Partikel mit einer Polymerhülle zu sehen.

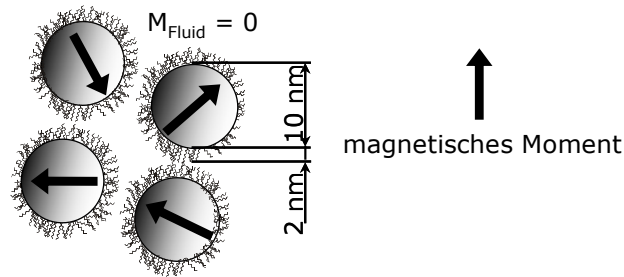
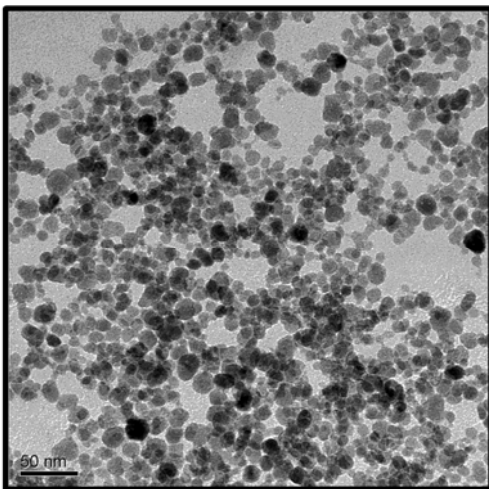


Abbildung 2.1 Schematische Darstellung von Eisenoxidpartikeln, die mit langkettigen Molekülen, dem sogenannten Surfactant, beschichtet sind.

Bei der Betrachtung der Mikrostruktur magnetischer Flüssigkeiten sind in den bisherigen Annahmen die suspendierten Partikel sphärisch und monodispers. Allerdings ist die Monodispersität nach wie vor nicht erreicht, wie es in der elektronenmikroskopischen Aufnahme in Abbildung 2.2a) ersichtlich ist - die Partikel sind nur bedingt sphärisch und polydispers. Die Variation der Partikeldurchmesser eines kommerziell erwerblichen Ferrofluids kann zwischen 2 und 20 nm betragen. Abbildung 2.2b) zeigt solch eine Partikelgrößenverteilung.

a)



b)

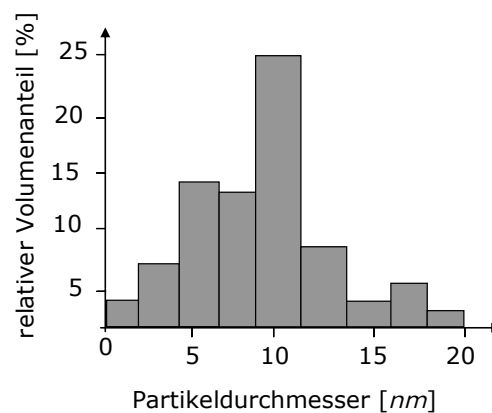


Abbildung 2.2 a) Transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Aufnahme von  $Fe_3O_4$  Nanopartikeln [Odenbach 2001]. b) Partikelgrößenverteilung eines magnetitbasierten Ferrofluids [Rosensweig 1985, S. 41].

Durch die Polydispersität der Suspensionen sind die oben getroffenen Angaben bei der Stabilitätsbetrachtung nicht für alle Partikelgrößen gültig. Insbesondere für große Partikel kann unter Magnetfeldeinfluss die magnetische Dipol-Dipol-Wechselwirkung so groß werden, dass es zur Bildung von Ketten und Strukturen kommen kann.

Im Rahmen dieser Arbeit sind sowohl kommerzielle [Ferrotec 2010] als auch experimentelle magnetische Flüssigkeiten [Dutz 2009] verwendet worden. Aufgrund der biomedizinischen Anwendung waren die Ferrofluide wasserbasiert. Auf die Biokompatibilität wird in Abschnitt 2.5 noch näher eingegangen.

Eine Eigenschaft von wasserbasierten Ferrofluiden ist es, dass sie über einen Zeitraum von mehreren Monaten zur Instabilität neigen. So war die Stabilitätsbetrachtung von magnetischen Flüssigkeiten wichtig für die Semi-Quantifizierung und die dazugehörige Phantomentwicklung. Aus diesem Grund sind die verwendeten Flüssigkeiten magnetisch vermessen worden. Die in folgendem Abschnitt vorgestellte Magnetisierungskurve ist ein ideales und einfaches Werkzeug, um magnetische Materialien zu untersuchen. Zum einen kann aus der Kurvenform der Zustand der Flüssigkeit festgestellt werden, zum anderen eignet sie sich hervorragend zur Bestimmung der Volumenkonzentration und des mittleren Partikeldurchmessers. Diese beiden experimentellen Parameter sind für die Phantomentwicklung, die in Abschnitt 7.3 erörtert wird, essentiell. Daher werden in Abschnitt 2.2 die magnetischen Eigenschaften sowie Methoden zur Basischarakterisierung der magnetischen Suspensionen vorgestellt.

## 2.2 Magnetische Eigenschaften

### 2.2.1 Magnetisierung

Die magnetischen Nanopartikel können aufgrund ihrer geringen Größe, wie in Abbildung 2.1 skizziert, als kleine magnetische Dipole mit einem magnetischen Moment als Eindomänenteilchen betrachtet werden [Odenbach 2001]. Das magnetische Moment  $m$  kann aus der spontanen Magnetisierung  $M_0$  des magnetischen Materials und dem magnetischen Partikelvolumen  $V_p$  berechnet werden:

$$m = M_0 \cdot V_p. \quad (2.6)$$

Unter Annahme der spontanen Magnetisierung von Magnetit von  $M_0 = 4,5 \cdot 10^5 \text{ A/m}$  und einem Partikeldurchmesser von  $d = 10 \text{ nm}$  liegen die Werte für das magnetische Moment bei  $m \approx 2 \cdot 10^{-19} \text{ Am}^2$ .

Wirkt kein Magnetfeld auf die Suspension, so sind die magnetischen Momente der Partikel statistisch verteilt und das Fluid ist nicht magnetisiert. Durch den Einfluss eines externen Magnetfeldes richten sich die magnetischen Momente der Partikel entlang der Magnetfeldlinien aus. Damit ist die Suspension magnetisiert.

Bei Wegnahme des Magnetfeldeinflusses bedingt die thermische Energie eine erneute zufällige Verteilung der magnetischen Momente. Dieses Verhalten der magnetischen Suspension kann makroskopisch als paramagnetisch bezeichnet werden.

Die in Abbildung 2.3 dargestellte Kurve zeigt die typische Magnetisierungskurve eines Ferrofluids, d. h. die Magnetisierung als Funktion der magnetischen Feldstärke. Im Gegensatz zu paramagnetischen Salzlösungen steigt die Magnetisierung bereits bei kleinen Feldern stark an, da das magnetische Moment der Partikel um ca. vier Größenordnungen über dem eines Salzmoleküls liegt. Aus diesem starken Magnetisierungsanstieg ergibt sich, dass die Kraft, die ein magnetischer Feldgradient auf ein Volumenelement ausübt, bei relativ kleinen magnetischen Feldstärken groß ist, da sie proportional zur Magnetisierung der Flüssigkeit ist [Rosensweig 1985, S. 58f., Odenbach 2002, S 14f.].

Aufgrund dieses Zusammenhangs sind magnetische Flüssigkeiten für medizinische und technische Anwendungen interessant, da moderate Magnetfelder ausreichend sind, um einen starken Einfluss auf die Strömungs- bzw. Materialeigenschaften auszuüben.

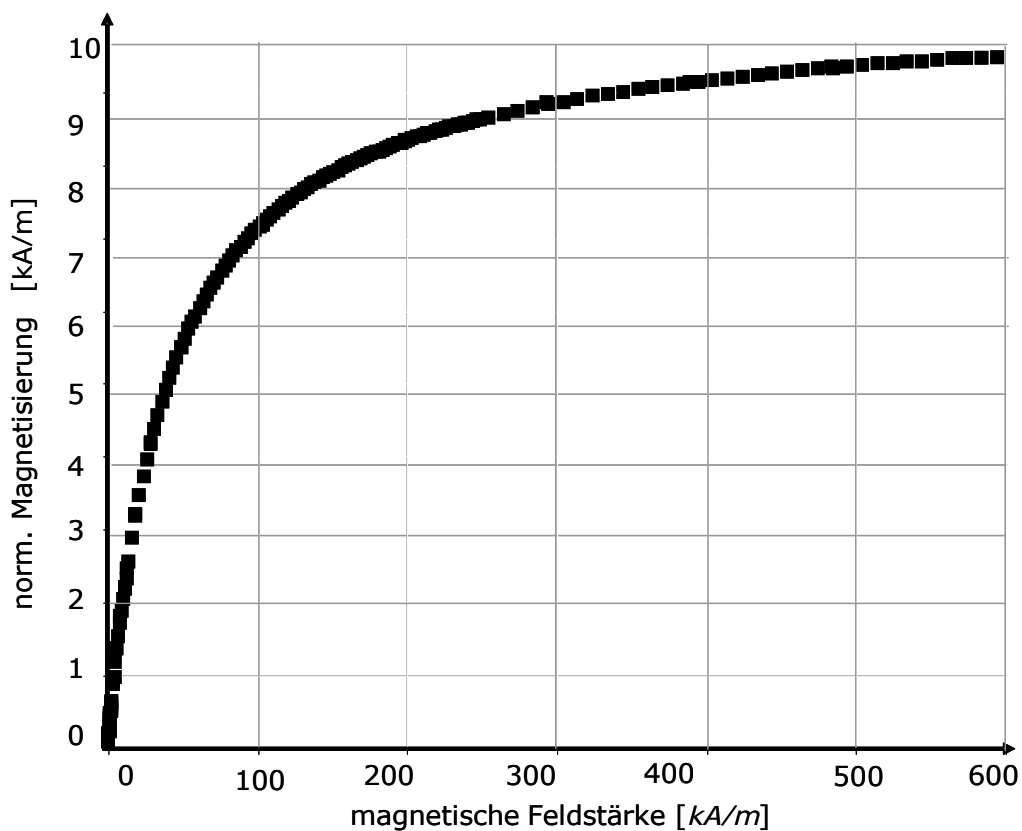


Abbildung 2.3 Magnetisierungskurve von wasserbasiertem Ferrofluid W12.

Um das in Abbildung 2.3 gezeigte magnetische Verhalten paramagnetischer Systeme zu beschreiben, kann die Langevin-Funktion verwendet werden [Rosenweig 1985, S. 58f., Odenbach 2002, S. 14f.]:

$$M = M_s \left( \operatorname{ctgh} \alpha - \frac{1}{\alpha} \right). \quad (2.7)$$

Bei dieser Funktion beschreibt der Parameter  $\alpha$  das Verhältnis der magnetischen zur thermischen Energie:

$$\alpha = \frac{\mu_0 m H}{k_B T}. \quad (2.8)$$

Die Sättigungsmagnetisierung  $M_s$  ist durch die Volumenkonzentration  $\phi$  des magnetischen Anteils sowie dessen spontaner Magnetisierung  $M_0$  gegeben.

Mithilfe der Sättigungsmagnetisierung  $M_s$  kann anhand der Formel (2.10) aus der experimentell ermittelten Magnetisierungskurve die Volumenkonzentration  $\phi$  der magnetischen Partikel im Fluid abgeschätzt werden:

$$M_s = \phi \cdot M_0. \quad (2.9)$$

Aus der Steigung der experimentell ermittelten Magnetisierungskurve, die im Bereich niedriger Magnetfelder als Anfangssuszeptibilität bezeichnet wird, kann der mittlere magnetische Durchmesser der Nanoteilchen aus dem folgenden Zusammenhang ermittelt werden [Odenbach 2001]:

$$\chi_{\text{Anfang}} = \frac{\mu_0 \pi M_s^2}{18 \phi k_B T} d^3. \quad (2.10)$$

### 2.2.2 Relaxation magnetischer Partikel

In diesem Absatz wird das dynamische Verhalten der Magnetisierung einer magnetischen Flüssigkeit betrachtet. Hierbei können zwei Mechanismen aufgeführt werden, nach denen die magnetischen Momente  $m$  der Partikel entlang der Magnetfeldlinien ausgerichtet werden.

Die Relaxationsmechanismen sind nach den Wissenschaftlern Louis Eugène Felix Néel und William Fuller Brown, Jr. benannt. Ist das magnetische Moment fest mit dem Teilchen verankert, weil die Anisotropieenergie des Teilchens ausreichend ist

um die interne Magnetisierung zu blocken, kann sich der Partikel als Ganzes drehen. Dieser Mechanismus wird als Brownsche Relaxation bezeichnet. Die Zeit für die Brownsche Relaxation ist mit

$$t_{Brown} = \frac{3 \cdot V_h \cdot \eta}{k_B T} \quad (2.11)$$

angegeben [Brown 1963]. Dabei entspricht  $V_h$  dem hydrodynamischen Volumen des Magnetitpartikels,  $\eta$  der Viskosität der Trägerflüssigkeit und  $T$  der absoluten Temperatur.

Der Relaxationsmechanismus wird als Néel'sche Relaxation bezeichnet, wenn sich das magnetische Moment des Teilchens relativ zum Partikel bewegen kann. Die Zeitkonstante für die Néelsche Relaxation kann aus folgendem Zusammenhang berechnet werden:

$$t_{Néel} = f_0^{-1} \exp\left(\frac{K \cdot V}{k_B T}\right) \quad [\text{Néel 1949}]. \quad (2.12)$$

Dabei sind  $K$  die Anisotropiekonstante und  $V$  das Kernvolumen der magnetischen Partikel. Die Larmour Frequenz  $f_0$  wird mit  $10^9 \text{ s}^{-1}$  angenommen.

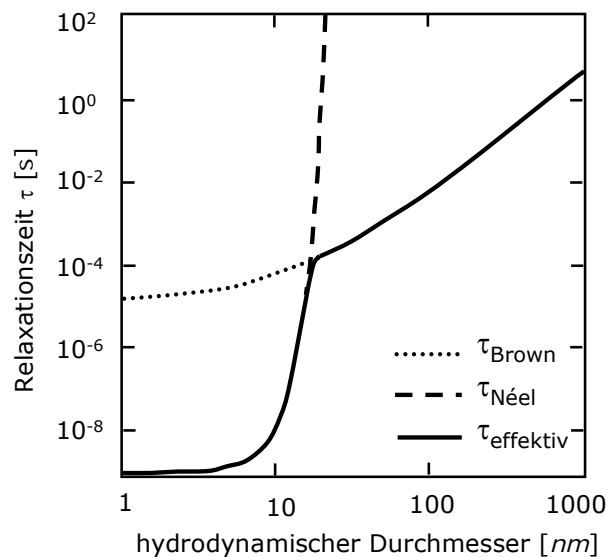


Abbildung 2.4 Die Relaxationszeit in Abhängigkeit des Partikeldurchmessers. Die Zunahme des Partikeldurchmessers hat die Zunahme der Relaxationszeit zur Folge [Ludwig 2006].

In Abbildung 2.4 ist die Relaxationszeit  $\tau$  als Funktion des Partikeldurchmessers dargestellt. Mittels des Graphen wird deutlich, dass die Relaxationszeiten mit wachsender Partikelgröße ansteigen. Die Relaxationszeit nach Brown steigt linear mit der Partikelgröße an, während die nach Néel exponentiell zunimmt. Für die Berechnung nach (2.11) und (2.12) wurden folgende Annahmen getroffen: Vis-



kosität  $\eta = 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ , Temperatur  $T = 298 \text{ K}$  und Anisotropiekonstante  $K = 20 \text{ kJ} / \text{m}^3$ .

Die kürzere Relaxationszeit bestimmt die Relaxation der Magnetisierung. Für Magnetitpartikel mit einem Kerndurchmesser kleiner als  $15 \text{ nm}$  ist die Néel'sche Relaxation vorherrschend, für Partikel mit Kerndurchmesser oberhalb von  $20 \text{ nm}$  ist die Brown'sche Relaxation dominierend [Ludwig 2006].

Eine Messtechnik, welche die oben beschriebenen Relaxationsmechanismen nutzt, ist die Magnetorelaxometrie (MRX). Das physikalische Messprinzip wird in dem nun folgenden Abschnitt 2.3 erläutert.

## 2.3 Magnetorelaxometrie – quantitative Bestimmung des Eisengehalts

Die Magnetorelaxometrie basiert auf der Tatsache, dass die Relaxation eines magnetisierten superparamagnetischen Nanopartikels von der Partikelgröße abhängig ist sowie von der Frage ob dieser mobil oder immobilisiert ist. Die Magnetorelaxometriemessungen können mit Hilfe von so genannten SQUID-Sensoren oder Fluxgate-Magnetfeldsensoren durchgeführt werden. Die Abkürzung SQUID steht für „Superconducting Quantum Interference Device“ [Lange 2002, Eberbeck 2005, Heim 2008].

Das Prinzip solch einer Messung ist in Abbildung 2.5 dargestellt und kann wie folgt beschrieben werden. Vor der Magnetisierung liegt das magnetische Teilchen frei beweglich in der Trägerflüssigkeit vor, das Nettosignal der Probe ist gleich Null. Danach wird das Magnetfeld spontan abgeschaltet, dabei verringert sich das Nettosignal der Probe infolge der Relaxationsprozesse mit der Zeit. Die Abschaltzeit von einer typischen Magnetfeldstärke von  $1$  bis  $2 \text{ mT}$  auf Null beträgt wenige  $100 \mu\text{s}$ .

Die Relaxationszeit für die Brownsche Relaxation ist gemäß Gleichung (2.11) angegeben. Die Zeitkonstante für die Néelsche Relaxation ist in Gleichung (2.12) beschrieben. Bei einer MRX-Messung ist stets die kürzere Relaxationszeit dominierend.

Das Relaxationssignal  $m_r$  für kugelförmige magnetische Nanopartikel berechnet sich aus:

$$m_r = \left( t, t_{mag}, H \right) = M_s \int f(d, \mu, \sigma) \frac{\pi d^3}{6} L(d, H, T) \cdot \left\{ 1 - \exp \left[ - \frac{f_{mag}}{\tau_{B,NH}(K, d, H)} \right] \right\} \cdot \exp \left[ - \frac{t}{\tau_{B,N}(K, d)} \right] \quad [\text{Ludwig 2006}] \quad (2.13)$$

Die Abkürzung  $t_{mag}$  steht für die Magnetisierungszeit und  $L(d, H, T)$  für die Langevin-Funktion.

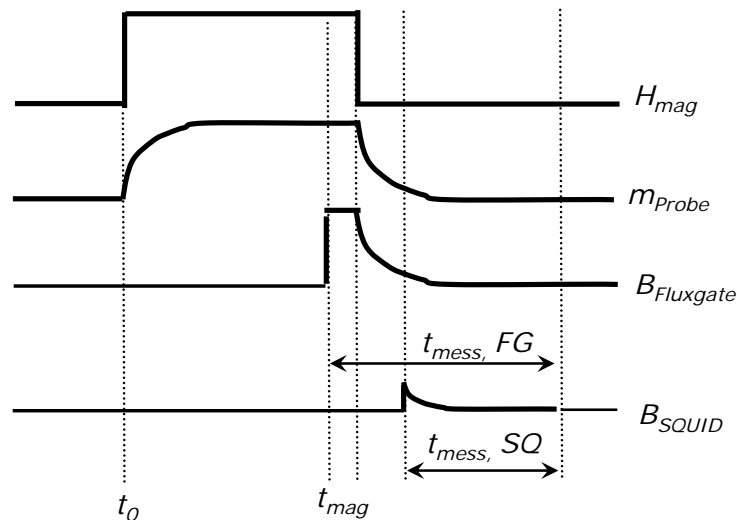


Abbildung 2.5 Messprinzip für eine Magnetorelaxometrie Messung. Nach einer Aufmagnetisierung wird das magnetische Feld spontan abgeschaltet und die Relaxationszeit detektiert [Ludwig 2006].

Die Magnetorelaxometrie ermöglicht eine Quantifizierung des Eisengehalts mit einer spezifischen Masseauflösung bis zu einigen Hundert Nanogramm [Richter 2009]. Die Anwendung dieser Messtechnik wird im Rahmen der Bestimmung des Nanopartikelgehalts in biomedizinischen Gewebeproben in Kapitel 6 näher beschrieben.

Die oben beschriebenen Methoden zur magnetischen Charakterisierung sind sowohl an magnetischen Flüssigkeiten als auch an mit magnetischen Nanopartikeln beladenen Gelen angewendet worden. Die entsprechenden Ergebnisse sind in den Kapiteln 6 und 7 zusammengefasst.

## 2.4 Technische Anwendungen von Ferrofluiden

Die folgenden Abschnitte erörtern zunächst einige der gängigsten Ferrofluidanwendungen in der Technik. Im Anschluss daran werden vielversprechende biomedizinische Applikationen der magnetischen Flüssigkeiten beschrieben.

### 2.4.1 Dichtung rotierender Wellen

Die Dichtung von Wellendurchführungen ist eines der Haupteinsatzgebiete für magnetische Flüssigkeiten. Das Prinzip der Dichtung ist in Abbildung 2.6 dargestellt. Eine hochpermeable Welle wird mit Permanentmagneten umgeben. Die Magnete werden auf solche Weise angeordnet, dass ein starker Magnetfeldgradient im Spalt herrscht. In diesen Spalt wird eine magnetische Flüssigkeit gefüllt, die durch die Magnete fixiert wird.

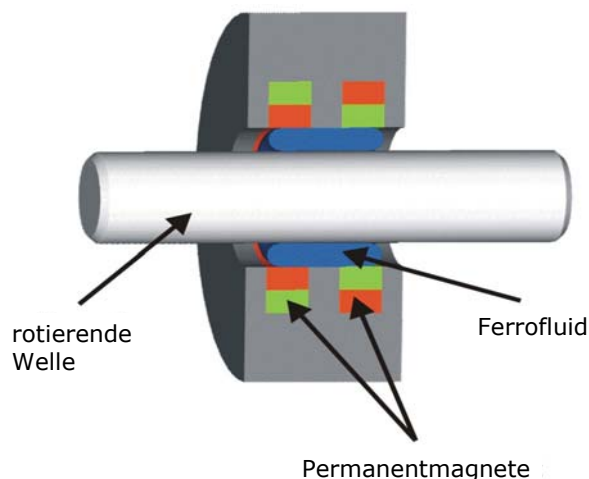


Abbildung 2.6 Dichtung einer nichtmagnetischen Welle mit Ferrofluid [Odenbach 2002, S. 26f.].

Derartige Dichtungen können - je nach Bauweise - Druckdifferenzen von  $10^6 \text{ Pa}$  aufrecht erhalten [Odenbach 2002, S. 26f., Berkovsky 1996]. Im Falle einer Unterschreitung des Druckdurchbruchpunktes stellt sich mit der Drucknormalisierung die volle Dichtungsfähigkeit wieder ein. Ein weiterer Vorteil dieser Dichtung sind die geringe Reibung und damit auch eine geringe Wärmeentwicklung. Aufgrund der hohen Zuverlässigkeit wird diese Art von Dichtungen auch in der Raumfahrt eingesetzt. Besonders verbreitet ist sie bereits bei Festplattenlaufwerken in Computern [Berkovsky 1996].

## 2.4.2 Lautsprechertechnik

Moderne Lautsprecher müssen hohen Ansprüchen genügen, insbesondere in Bezug auf die immer kompaktere Bauweise bei steigender Leistung. Die starke Bestromung der Schwingspule führt zu einer hohen Wärmeentwicklung. Die Wärme der Schwingspule kann nur unzureichend aus dem Gehäuse abgeführt werden, weil ein Luftspalt zwischen Spule und Gehäuse dies aufgrund der geringen Wärmeleitfähigkeit von Luft stark einschränkt. Der Wärmestau führt in der Regel zu einem Leistungsverlust. Flüssigkeiten haben eine deutlich höhere Wärmeleitfähigkeit als Luft, können jedoch nicht in diesem Spalt fixiert werden.

Diese Tatsache eröffnet eine weitere Anwendung von magnetischen Flüssigkeiten, da diese im Spalt durch einen Permanentmagneten gehalten werden können. Die Flüssigkeitsschicht ermöglicht einen besseren Wärmetransport und begünstigt eine Leistungssteigerung bei einer kompakten Bauweise. Zudem hat das Fluid eine dämpfende Wirkung auf die Schwingspule, was bei Tieftönern zur Reduktion des Klirrfaktors führt [Berkovsky 1996, Buschow 2006]. Das Ferrofluid ist in Abbildung 2.7 grün dargestellt.

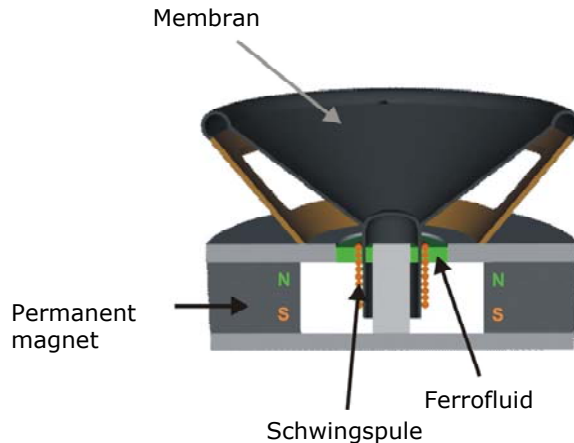


Abbildung 2.7 Schematische Darstellung eines durch ein Ferrofluid gekühlten Lautsprechers [Odenbach 2002, S. 27f.].

## 2.5 Anwendung von Ferrofluiden in der Biomedizin

Im Laufe der letzten Jahrzehnte ist die Zahl der Anwendungen magnetischer Nanopartikel in der Biomedizin stark gestiegen [Pankhurst 2009]. Auf den folgenden Seiten werden zwei spezielle Applikationen lokaler Krebstherapien betrach-

tet. Hierbei handelt es sich um das magnetische Drug Targeting und die magnetische Wärmebehandlung.

Im Vordergrund jeglichen biomedizinischen Einsatzes magnetischer Nanopartikel steht die Biokompatibilität – das heißt es darf keine Toxizität gegenüber dem menschlichen Körper vorliegen. Schließt man die toxischen Materialien aus, so verbleiben nur wenige bioverträgliche magnetische Werkstoffe zur Auswahl. Die meistverwendeten superparamagnetischen Nanopartikel sind aus Eisenoxid ( $Fe_3O_4$ ), da es biokompatibel und inert ist [Dutz 2008, S. 25f.]. Die Gruppe der Eisenoxide wird im Bundesgesetzblatt unter der Kennzeichnung „Lebensmittelzusatzstoff E172“ geführt [ZVerkV 1998]. Sie finden in der Lebensmittelindustrie als Farbstoffe Verwendung. Die Eisenoxide werden nahezu unverändert vom menschlichen Körper ausgeschieden. Für ihre Verwendung ist kein Grenzwert vorgeschrieben (quantum satis). Von Weissleder [Weissleder 1988] und Lübbe [Lübbe 1996] durchgeführte klinische Studien lieferten keine Anhaltspunkte für eine Toxizität von Eisenoxidsuspensionen.

Nicht nur die Partikel sondern auch das Trägermedium und die Beschichtungsmaterialien dürfen keine Toxizität auf menschliche oder tierische Zellen aufweisen. Aus diesem Grund wird ausschließlich Wasser als Trägerfluid verwendet. Für die Hülle können Stärke [Alexiou 2003], Silan, Dextran [Jordan 1999], Albumin, Silikon [Babes 1999] und Polyethylenglycol (PEG) [Mahmoudi 2009] verwendet werden.

### 2.5.1 Magnetisches Drug Targeting

Nach dem heutigen Stand der Krebsforschung ist der größte Nachteil von Chemotherapeutika, dass sie unspezifisch wirken. In den meisten Fällen wird das Medikament dem Patienten intravenös verabreicht. Über den Blutkreislauf wird es im ganzen Körper systemisch verteilt. Das Medikament wirkt auf alle Zellen, insbesondere auf sich schnell reproduzierende wie Haar- oder Knochenmarkszellen. Es führt zu starken Nebenwirkungen wie Unterdrückung der Immunabwehr, Übelkeit und Erbrechen sowie Haarverlust.

Bereits seit den späten 70er Jahren des 20. Jahrhunderts unternehmen Wissenschaftler den Versuch, das Medikament mittels magnetischer Trägersubstanzen in der Zielregion, bevorzugt in der Tumorregion, anzureichern [Widder 1978, Sényei 1978, Mosbach 1979]. Bei dieser Behandlung werden zwei grundlegende Vorteile der lokalen Medikamentkonzentration deutlich. Zum einen konnte die Gesamtmenge des Medikamentes reduziert werden, die durch die übliche syste-

mische Verabreichung dem Patienten zugeführt wird. Infolge der geringeren Chemotherapeutikumdosis können die mit dem Medikament verbundenen Nebenwirkungen deutlich reduziert werden. Zum anderen wird die Behandlung effektiver, da eine höhere Dosis des zytotoxischen Medikaments in der Zielregion konzentriert ist und dort seine Wirkung entfalten kann.

Das grundlegende Prinzip von magnetisch unterstützter Krebstherapie basiert auf der magnetischen Kraft, die mittels des Magnetfeldgradienten auf Eisenoxidnanopartikel wirkt. Diese Kraft kann aus dem folgenden Zusammenhang ermittelt werden:

$$F_m = V_m \cdot \Delta\chi \cdot \nabla \left( \frac{1}{2} B \cdot H \right) \quad [\text{Pankhurst 2003}]. \quad (2.14)$$

Das Chemotherapeutikum wird an die Eisenoxidpartikel eines biokompatiblen Ferrofluids gekoppelt und in den Blutkreislauf injiziert. Die Injektion erfolgt zu meist intravenös oder intraarteriell. Sobald sich die Nanopartikel im Blut befinden, wird oberhalb der Zielregion ein externes Magnetfeld angelegt. Über den starken Magnetfeldgradienten sollen die Nanopartikel, die als Medikamententransporter fungieren, in die Zielregion geleitet und dort konzentriert werden. Das von Alexiou et al. [Alexiou 2000] etablierte Prinzip ist in Abbildung 2.8 dargestellt.

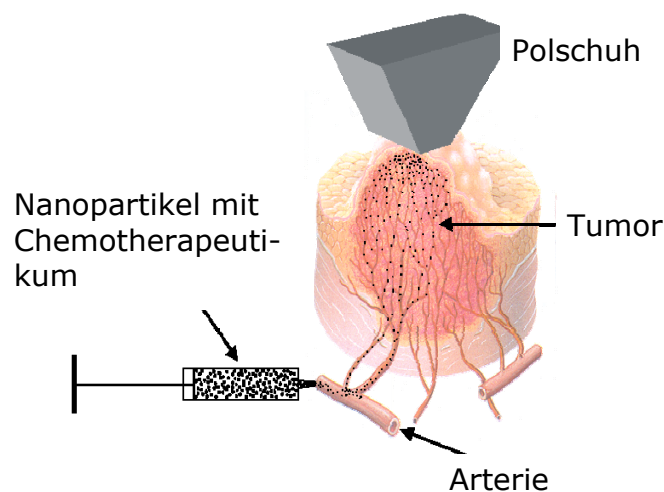


Abbildung 2.8 Prinzip des magnetischen Drug Targetings [Alexiou 2001].

Das verwendete Magnetfeld wird in den meisten Fällen durch einen Elektromagneten, dessen Polschuh schematisch in Abbildung 2.8 abgebildet ist, generiert. Dabei sollen magnetische Flussdichten von  $0,2 \text{ T}$  gewährleistet sein, mit Magnetfeldgradienten von mindestens  $8 \text{ T/m}$  für femorale Arterien und  $10 \text{ T/m}$  für karotide Arterien (Kopfschlagader, Halsschlagader) [Voltairas 2002].

Wenn sich das Medikament in der Zielregion befindet, kann es freigesetzt werden. Die Medikamentenfreisetzung kann über enzymatische Aktivität oder Änderung physikalischer Zustände wie *pH*-Wert, Osmolalität oder Temperatur bedingt werden [Alexiou 2000].

Die Effektivität der lokalen Krebstherapie hängt von einer Vielzahl physikalischer Parameter ab. Das sind unter anderem die Magnetfeldstärke und der Magnetfeldgradient sowie die volumetrischen und magnetischen Eigenschaften der Nanopartikel [Pankhurst 2003]. Da die Injektion der magnetischen Flüssigkeit entweder intravenös oder intraarteriell erfolgt, müssen auch hydrodynamische Faktoren wie Flussrate des Blutes, Ferrofluid- und Nanopartikelkonzentrationen, Infusionsweg und Zirkulationszeit beachtet werden. Zeitliche Faktoren betreffen die Bindungskinetik, also die Bindungsstärke und die Reversibilität, sowie die kontrollierte Medikamentenfreisetzung. Weiterhin relevant sind physiologische Gegebenheiten wie die Distanz zwischen der Tumorregion und der Magnetfeldquelle sowie das Tumolvolumen [Lübbe 1999].

Während einige Arbeitsgruppen das magnetische Drug Targeting an Versuchstieren durchführen, um die grundlegenden Abläufe zu erforschen, wie zum Beispiel die Arbeitsgruppe von Prof. Alexiou (SEON/Erlangen), wird diese Methode der lokalen Krebstherapie auch an menschlichen Patienten angewendet. Zum Beispiel berichtete Krukemeyer über den erfolgreichen Einsatz von magnetischem Drug Targeting an einer 70-jährigen weiblichen Patientin mit Brustkrebs. Die lokale Therapie wurde von einer Radiotherapie und konventioneller Chemotherapie begleitet [Krukemeyer 2009].

## 2.5.2 Magnetische Hyperthermie

Hyperthermie bedeutet soviel wie Übererwärmung. Eine künstlich von außen herbeigeführte Temperaturerhöhung kann zu therapeutischen Zwecken verwendet werden. Mit Hilfe der Hyperthermie versuchen Ärzte schon seit ca. 100 Jahren, Krebsleidende durch Übererwärmung des Tumorgewebes zu behandeln. Dabei geht es nicht primär um eine direkte Abtötung der Krebszellen, sondern um eine Sensibilisierung dieser gegenüber natürlichen Abbauprozessen sowie Strahlen- oder Chemotherapie. Es können sowohl der gesamte Körper erwärmt werden als auch einzelne Körperteile. Der Wärmeeintrag wird über Ultraschall, elektromagnetische Wellen (Radio- und Mikrowellen) oder auch durch Spülen mit erwärmter Flüssigkeit induziert. Das Ziel, malignes Gewebe zu schädigen ohne da-

bei das gesunde zu beeinträchtigen, führte zur Entwicklung von einer Vielzahl an Apparaten und Vorrichtungen [Wust 2010].

Eine besondere Form der lokalen Hyperthermie basiert auf magnetischen Partikeln. Diese werden meist ohne jegliche Medikamente direkt in das Tumorgewebe injiziert. Die Tumorregion wird anschließend einem magnetischen Wechselfeld ausgesetzt. Durch Energiedissipationsprozesse, die durch den Ummagnetisierungsvorgang entstehen, wird Wärme im Tumorinneren erzeugt. Bei Temperaturen oberhalb von  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  spricht man von Thermoablation. Dabei wird die Zielregion nur für wenige Minuten dem magnetischen Wechselfeld ausgesetzt. Eine längere Dauer wird seitens des Versuchstieres oder des menschlichen Patienten schlecht toleriert [Hilger 2001].

Die Anfänge der magnetischen Hyperthermie gehen auf das Jahr 1957 zurück. Gilchrist et al. nutzten 20 bis 100 nm  $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ -Partikel, ein alternierendes Magnetfeld mit  $f = 1,2\text{ MHz}$  und magnetische Feldstärken bis zu  $H = 240\text{ Oersted}$  (entspricht ca.  $H = 19,5\text{ kA/m}$ ), um verschiedene Gewebeproben zu erwärmen [Gilchrist 1957].

Seitdem wurden Parameter, wie das magnetische Material und dessen Anreicherung in der Zielregion, sowie magnetische Feldstärke und Frequenzen von weiteren Forschungsgruppen variiert und optimiert [Pankhurst 2003].

Insbesondere die Frequenz und die magnetische Feldstärke des externen Magnetfeldes können zu schädlichen Nebenwirkungen führen. Dies bedeutet, dass die niedrigen Frequenzen die periphere Muskulatur und die Skelett-Muskulatur stimulieren sowie die Herzmuskulatur ansprechen und dadurch eine Arrhythmie verursachen können. Sind die gewählten Frequenzen deutlich zu hoch, das heißt im Bereich der Mikrowellenfrequenz ( $\text{MHz bis GHz}$ ), führt dies zu einer Erhitzung aller Zellen. Daher wird der verwendete Bereich an Frequenzen und Amplituden auf  $f = 0,05\text{ bis }1,2\text{ MHz}$  und  $H = 0\text{ bis }15\text{ kA/m}$  beschränkt. Atkinson et al. schlussfolgerten: Wenn das Produkt  $H \cdot f$  den Wert von  $4,85 \cdot 10^8\text{ A/(m} \cdot \text{s)}$  nicht überschreitet, dann ist die Exposition des Patienten in einem magnetischen Wechselfeld unkritisch und von diesem tolerierbar [Atkinson 1984].

Die magnetisch unterstützte Erwärmung ist erfolgreich an Versuchstieren getestet worden. Zum Beispiel wiesen Hilger et al. nach, dass eine Erwärmung der Zielregion bis zu einer mittleren Temperatur von  $T = 71^{\circ}\text{C} \pm 8^{\circ}\text{C}$  möglich ist. Dafür wurden folgende Parameter verwendet: die Konzentration des magnetischen Materials betrug ca.  $\phi_{\text{Fe}} = 70\text{ mg/ml} \pm 9\text{ mg/ml}$ , die magnetische Feldstärke  $H = 8,8\text{ kA/m}$ , die Frequenz  $f = 400\text{ kHz}$  und die Dauer der magnetischen Wärmebehandlung betrug  $t = 242\text{ s}$  [Hilger 2005].



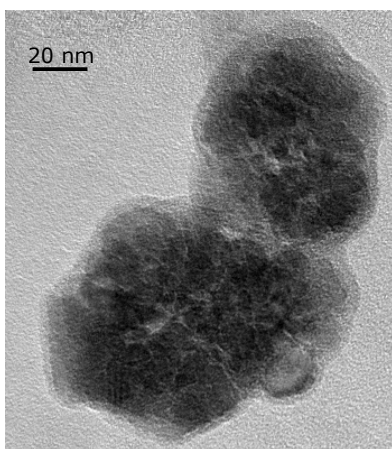
Erste klinische Studien wurden bei Patienten mit einem Prostatakarzinom von Johannsen et al. [Johannsen 2005, Johannsen 2007], Maier-Hauff et al. [Maier-Hauff 2006] und Wust et al. [Wust 2006] erfolgreich durchgeführt. Jordan et al. zeigten eine therapeutische Behandlung mittels magnetischer Hyperthermie an Patienten mit Glioblastomen und Prostatakarzinomen [Jordan 2001]. Maier-Hauff et al. demonstrierten eine gelungene Verbindung von magnetischer Hyperthermie und Strahlentherapie [Maier-Hauff 2006].

Derzeit ist man bemüht, die überwiegend intratumorale Verabreichung des magnetischen Materials bei magnetischer Hyperthermie durch das magnetische Targeting zu ersetzen. Dabei ist man bestrebt, das Tumorgewebe nicht zu punktieren und die damit einhergehende Verletzung und Verbreitung der Tumorzellen zu vermeiden. Hierfür müssen spezielle Nanopartikel entwickelt werden, die ausreichende Heizleistung erbringen und sich durch ein definiertes äußeres Magnetfeld in die Zielregion dirigieren lassen.

Theoretisch betrachtet sollen diese Partikel ein relativ großes Volumen haben um eine hohe magnetische Anziehung zu gewährleisten. Dabei soll die magnetische Koerzitivfeldstärke  $H_c$  nicht zu groß sein, damit auch bei geringen magnetischen Feldstärken eine Aufheizung möglich ist [Dutz 2008, S. 109f.].

Vielversprechend für diese Voraussetzungen sind die sogenannten „multicore“ Nanopartikel [Dutz 2009]. Der magnetische Kern dieser Partikel besteht aus agglomerierten Partikeln mit einem Durchmesser zwischen 12 und 14 nm, die als ein Cluster vorliegen. In Abbildung 2.9 sind Transmissionselektronen-Mikroskopie (TEM)-Aufnahmen von „multicore“ Nanopartikeln gezeigt [Dutz 2011].

a)



b)

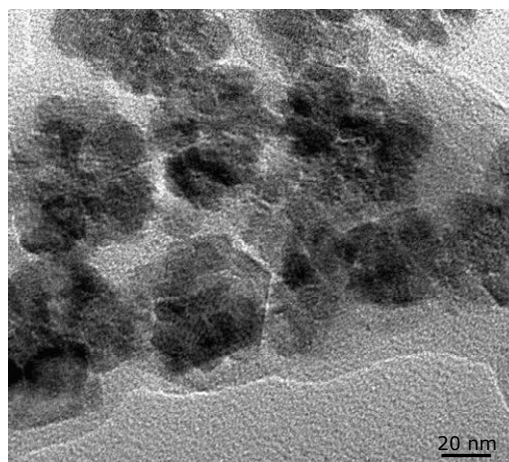


Abbildung 2.9 a) und b) TEM-Aufnahmen eines „multicore“ Nanopartikels [Dutz 2011].

Die „multicore“ Nanopartikel sind ebenfalls mit einer Oberflächenbeschichtung umgeben. Diese Carboxymethyldextran-Hülle dient der sterischen Stabilisation in wässrigen Medien. Mit Hilfe von dynamischer Lichtstreuung (DLS) wurde ein mittlerer hydrodynamischer Durchmesser  $d_h$  von 158 nm ermittelt. Dieses Ausgangsfluid hatte eine spezifische Heizleistung von ca. 60 W/g. Durch Fraktionierung des Ausgangsfluids erhielt man eine Fraktion von Nanopartikeln mit mittleren hydrodynamischen Durchmessern von  $d_h$  von 50 bis 164 nm. Eine Fraktion mit  $d_h = 82$  nm zeigte eine deutlich erhöhte spezifische Heizleistung von 330 W/g [Dutz 2009].

Die magnetischen Partikel stellen die Grundlage der oben beschriebenen lokalen magnetisch unterstützten Krebstherapien dar. Eine der Voraussetzungen für den Erfolg dieser therapeutischen Anwendungen ist die korrekte Verteilung der magnetischen Nanopartikel im Tumorgewebe.

Für die Untersuchung der Partikeldistribution im Tumorgewebe werden üblicherweise histologische Schnitte angefertigt und diese mittels Elektronen- oder Lichtmikroskopie untersucht. Mit dieser Methode kann zwar die Detailgenauigkeit im Nanometerbereich erreicht werden, jedoch ist die Information 2-dimensional und sehr zufallsbedingt, abhängig von der Position des jeweiligen Schnitts. Zudem wird bei diesem Vorgehen das untersuchte Objekt als Ganzes zerstört.

Um eine zerstörungsfreie 3-dimensionale Abbildung der Gewebeprobe zu erhalten, kann die Computer-Tomographie (CT) verwendet werden [Buzug 2004]. Sie ist ein bildgebendes Verfahren der Röntgendiagnostik. Im Gegensatz zur 2-dimensionalen radiographischen Bildgebung können mit Hilfe der Röntgencomputertomographie ebenfalls zerstörungsfrei, jedoch 3-dimensional, opake Objekte dargestellt werden. Diese analytische Methode wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit angewendet, um die Distribution der Nanopartikel im biologischen Gewebe zu untersuchen. Diese Methode wird im folgenden Kapitel vorgestellt.

## 3 Röntgentomographie

Dieses Kapitel beschäftigt sich mit den theoretischen und technischen Grundlagen der Röntgencomputertomographie. Dabei wird die besondere Form die Mikrocomputertomographie ( $\mu$ CT) hervorgehoben. Zunächst wird der historische Hintergrund zur Computertomographie beschrieben. Im Anschluss daran werden die unterschiedlichen Röntgenquellen, die physikalischen Grundlagen der Röntgenabsorption, das Prinzip der röntgentomographischen Bildgebung sowie die dabei auftretenden Artefakte beschrieben.

### 3.1 Historischer Hintergrund

Seit der Entdeckung der Röntgenstrahlen durch Conrad Röntgen im Jahre 1895 [Roentgen 1895] gewannen bildgebende Methoden mit Röntgenstrahlen sowohl in der Medizin als auch in der Technik eine immense Bedeutung. Die Röntgencomputertomographie nimmt dabei einen besonderen Rang in der Bildgebung ein, da diese Messtechnik die Erzeugung 3-dimensionaler Repräsentationen einer opaquen Struktur ermöglicht.

Die mathematische Grundlage für die Computertomographie liefert ein Theorem, das im Jahre 1917 von dem österreichischen Mathematiker Johan Radon postuliert wurde. Radon zeigte, dass die 2-dimensionale Verteilung einer Variablen bestimmt werden kann, wenn die Linienintegrale dieser Variablen unter allen Betrachtungswinkeln bekannt sind [Radon 1917].

Erst in den Jahren 1950 bis 1970 ist die Computertomographie durch den Physiker Allan M. Cormack und den Elektrotechniker Godfrey Hounsfield als bildgebendes Verfahren etabliert worden. Sie entwickelten ein Verfahren, bei dem eine Serie von Absorptionsbildern aufgenommen wurde, während entweder die Position des Objektes oder der Röntgenquelle variiert wurde. Zwischen 1957 und 1963 entwickelten Hounsfield und Cormack eine Reihe von Prototypen eines Computertomographen (CT) und generierten 1971 den ersten CT-Scan eines Menschen. Dafür wurden sie 1979 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet [Hounsfield 1980, Cormack 1980]. Seitdem findet die tomographische Bildgebung in der Medizin ein breites Spektrum von Anwendungen [Buzug 2004, S. 5f., Brunke 2006].

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine spezielle Form der konventionellen Tomographie, wie sie häufig in der Medizin oder Industrie benutzt wird, verwendet. Sie wird als Mikrocomputertomographie ( $\mu$ CT) bezeichnet und kann als miniaturisierte Form der klinischen CT-Scanner beschrieben werden. Der Index ( $\mu$ ) drückt aus, dass die Größe der Volumenelemente = Voxel (Volumenpixel) des 3-dimensionalen Datensatzes im Mikrometerbereich unter  $100 \mu m$  liegt.

Die erste  $\mu$ CT-Apparatur wurde von Jim Elliott in den frühen 80er Jahren des letzten Jahrhunderts etabliert. Die ersten tomographischen Abbildungen mit einer räumlichen Auflösung im Mikrometerbereich zeigen eine kleine tropische Schlange [Elliott 1982].

In den folgenden Abschnitten werden die physikalischen Grundlagen der Röntgenabsorption, der Computertomographie sowie die Prozedur von tomographischen Messungen erläutert.

## 3.2 Physikalische Grundlagen

Röntgenstrahlen entstehen durch starke Beschleunigungen von geladenen Elementarteilchen in elektromagnetischen Feldern oder durch hochenergetische Übergänge in den Elektronenhüllen von Atomen sowie Molekülen. Röntgenphotonen haben eine Energie von wenigen Elektronenvolt ( $eV$ ) bis zu einigen Mega-elektronenvolt ( $MeV$ ). Im elektromagnetischen Spektrum umfasst dies einen Wellenlängenbereich von  $0,01 \text{ \AA} < \lambda < 10 \text{ \AA}$ . Die hohe Energie der Röntgenphotonen führt dazu, dass diese deutlich geringer von der Materie absorbiert werden als sichtbares Licht.

Während der Durchstrahlung von Materie treten Wechselwirkungen zwischen den Photonen und den Atomen der Materie auf. Diese Wechselwirkungen sind für die Abschwächung der Ausgangsintensität der Röntgenstrahlung verantwortlich und erfolgen prinzipiell auf drei verschiedene Arten.

### 3.2.1 Photoelektrischer Effekt

Der Photoelektrische Effekt tritt auf, wenn die gesamte Strahlungsenergie eines Röntgenphotons auf ein Hüllenelektron übertragen wird und dies zur vollständigen Absorption des Photons führt. Das herausgeschlagene Photoelektron wird im Material abgebremst. Der photoelektrische Effekt dominiert bei Photonenenergien bis  $200 \text{ keV}$ . Die Wahrscheinlichkeit  $W$  für das Auftreten des photoelektrischen

Effekts ist von der Kernladungszahl ( $Z$ ) und der Energie des Strahlungsquants ( $E_s$ ) gemäß Gleichung (3.1) abhängig:

$$W_{Photo} \approx \frac{Z^5}{\sqrt[7]{E_s}} \quad [\text{Kohlrausch 1996, S. 442f.}] \quad (3.1)$$

### 3.2.2 Comptoneffekt

Beim Comptoneffekt werden die Röntgenphotonen inelastisch aus der Primärstrahlrichtung gestreut. Dabei wird nur ein Teil der Gesamtenergie eines Röntgenphotons auf ein herausgeschlagenes Hüllenelektron übertragen. Die dabei entstehende Sekundärstrahlung wird durch weitere Wechselwirkungsprozesse absorbiert.

Die Wahrscheinlichkeit  $W_{Compton}$  steigt proportional mit der Kernladungszahl und sinkt ebenfalls proportional mit der Strahlungsenergie:

$$W_{Compton} \approx \frac{Z}{E_s} \quad [\text{Kohlrausch 1996, S. 442f.}] \quad (3.2)$$

Bis zu einer Photonenenergie von 200 keV findet die Röntgenabsorption gemäß dem photoelektrischen Effekt statt. Bei höher liegenden Photonenenergien dominiert der Comptoneffekt. Aus diesem Zusammenhang kann der Absorptionskoeffizient  $\mu$  näherungsweise beschrieben werden. Für den Absorptionskoeffizienten gilt die in Gleichung (3.3) beschriebene Beziehung zwischen der Photonenenergie der einfallenden Strahlung, der Materialdichte  $\rho$  sowie der Kernladungszahl  $Z$  des Objektes:

$$\mu \propto \frac{Z^4}{E_s^3} \quad [\text{Attix 2004, S. 140}] \quad (3.3)$$

### 3.2.3 Elektronenpaarbildung

Der Absorptionseffekt tritt bei sehr hohen Photonenenergien oberhalb von 1 MeV auf und spielt in der Bildgebung von biologischen Gewebeproben eine untergeordnete Rolle. Ein Röntgenphoton erzeugt in der Nähe der Atomkerne ein Elektron und ein Positron. Das Photon wird dabei vernichtet und seine Strahlungsenergie wird in materielle Teilchen umgewandelt. Positronen werden beim Zusammenprall mit Elektronen der Materie innerhalb kürzester Zeit vernichtet. In der Regel werden zwei Photonen in entgegengesetzte Richtungen emittiert.

Der Schwächungskoeffizient  $\mu$  setzt sich linear aus den Koeffizienten der drei Absorptionseffekte Photoelektrischer-, Comptoneffekt sowie Elektronenpaarbindung zusammen:

$$\mu = \mu_{Photo} + \mu_{Compton} + \mu_{Elektronenpaar} \quad [\text{Kohlrausch 1996, S. 442f.}] \quad (3.4)$$

Die Strahlungsintensität vor und hinter einem Objekt mit der Dicke  $x$  wird durch das exponentielle Schwächungsgesetz nach Lambert-Beer beschrieben:

$$I = I_0 \exp\left(-\int_L \mu(x) dx\right). \quad (3.5)$$

Dabei ist  $I$  die geschwächte Intensität nach dem Objekt,  $I_0$  die ungeschwächte Intensität vor dem Objekt,  $x$  kennzeichnet die Objektdicke und  $\mu$  ist der Schwächungskoeffizient. Dieser Fall gilt nur für monochromatische Strahlung.

Die starke Energieabhängigkeit des Absorptionskoeffizienten führt dazu, dass sich das Spektrum bei polychromatischer Strahlung verändert, während die Strahlen das Objekt durchdringen. Diese Energieabhängigkeit wird in der Gleichung (3.6) durch die Erweiterung mit dem Index  $E$  verdeutlicht:

$$I_E = I_{0E} \exp\left(-\int_L \mu_E(x) dx\right) \quad [\text{Hsieh 2003, S. 221}]. \quad (3.6)$$

## 3.3 Röntgenquellen

In diesem Abschnitt werden zwei Arten der Röntgenquellen vorgestellt, die im Rahmen dieser Arbeit zur Vermessung von biologischen Gewebeproben nach minimal-invasiven Krebstherapien verwendet wurden.

### 3.3.1 Röntgenröhre

Wie oben beschrieben entstehen Röntgenstrahlen durch starkes Beschleunigen von geladenen Elementarteilchen in elektromagnetischen Feldern. In einer konventionellen Röntgenröhre wird dieser Effekt wie folgt ausgenutzt: Die von einer Glühkathode emittierten Elektronen werden im elektrischen Feld mit Potentialdifferenz  $U$  beschleunigt und auf eine Zielanode geschossen. Beim Auftreffen auf das Anodenmaterial werden die Elektronen stark negativ beschleunigt, dabei

werden Röntgenquanten in Form von Bremsstrahlung emittiert. Durch die Anregung von kernnahen Elektronen entsteht ein spezifisches Bremsspektrum, dessen maximale Photonenenergie gleich der Beschleunigungsenergie der Elektronen ist. Ein typisches Röntgenenergiespektrum für eine Röntgenröhre mit einer Wolframanode bei einer Beschleunigungsspannung von 120 kV ist in Abbildung 3.1 gezeigt. Bei Röntgenröhren, die für die Mikrocomputertomographie zum Einsatz kommen, findet eine extreme Bündelung der Elektronen auf der Kathode statt, um eine hohe Ortsauflösung bei ausreichender Photonendichte zu ermöglichen.

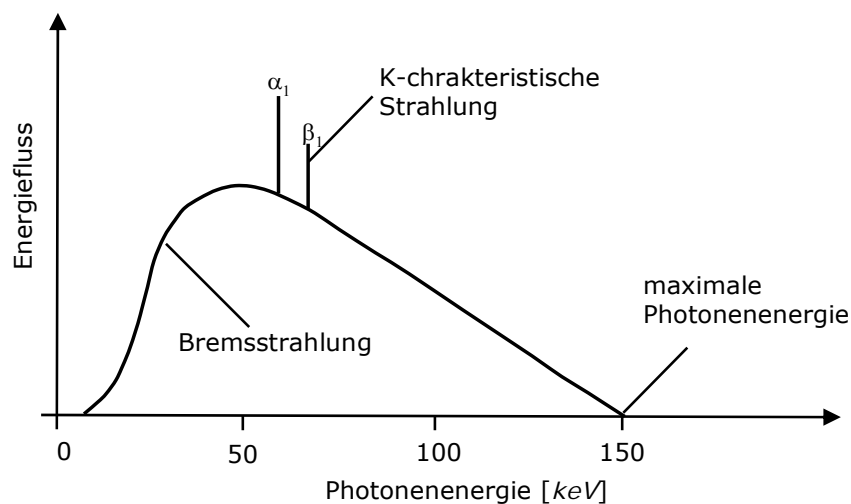


Abbildung 3.1 Bremsspektrum einer Wolframanode [Als-Nielsen 2000, S. 31].

Bei der Bündelung entsteht ein „Brennfleck“ mit einer Ausdehnung von wenigen Mikrometern. Vom Brennfleck breitet sich die Röntgenstrahlung kugelförmig aus und wird bei Röntgenröhren für computertomographische Anwendungen meist kegelförmig abgeblendet. Die elektromagnetische Röntgenstrahlung folgt optischen Gesetzen [Kalender 2006, S. 72f.]. Dies kann für die optische Vergrößerung des Objektes verwendet werden, was zum Beispiel durch eine Verschiebung des Objektes zwischen der Röntgenquelle und dem Detektor realisiert werden kann.

Folgende Parameter der Röntgenröhre beeinflussen die Qualität eines Absorptionbildes:

- Die erreichbare Photonenenergie wird durch die maximale Beschleunigungsspannung limitiert. Dies muss bei der Auswahl der Röntgenröhre in Bezug auf das Absorptionsverhalten der untersuchten Objekte beachtet werden. Je größer die räumliche Ausdehnung des Objektes und je höher seine Dichte, desto höher sollte die Photonenenergie sein.

- Der Photonenfluss der Röntgenröhre ist durch thermische Belastungen des Anodenmaterials begrenzt, da ca. 99 % der Elektronenenergie in Wärme umgewandelt werden. Die Photonenflussdichte kann deutlich verbessert werden, wenn anstelle einer statischen Anode eine Drehanode verwendet wird. Bei einer Drehanode mit einem festliegenden Elektronenbündel ändert der Brennfleck seine Position auf dem schnell rotierenden Target, wodurch die lokale Temperaturbelastung und die damit in Zusammenhang stehende Verlustleistung deutlich geringer sind. Die in der Literatur angegebenen Werte für den Photonenfluss von Röntgenröhren mit statischen Anoden sind  $10^5$  (Photonen  $\backslash$ s  $\text{mrad}^2 \text{ mm}^2$  0,1% Bandbreite)) [Als-Nielsen 2000, S. 1].
- Die starke Energieabhängigkeit der Röntgenabsorption in Materie führt zu einer Veränderung des kontinuierlichen Spektrums, während die Strahlung ein beliebiges Objekt passiert. Der niederenergetische Bereich des Spektrums wird absorbiert und die verbleibende Strahlung ist im Vergleich zum Ausgangszustand höherenergetisch. Diesen Effekt bezeichnet man als Aufhärtung der Strahlung (engl. beam hardening). Durch die Strahlaufhärtung kommt es während der Rekonstruktion der Absorptionbilder in einem 3-dimensionalen Datensatz zu unerwünschten Artefakten [Kak 1999, S. 118]. In Abschnitt 3.6 wird näher auf diese Artefakte eingegangen.

### 3.3.2 Synchrotron

Röntgenstrahlung kann auch mit Hilfe eines Teilchenbeschleunigers erzeugt werden. Ein spezieller Teilchenbeschleuniger ist das Synchrotron. Auch hier entsteht die Strahlung durch die Beschleunigung von geladenen Teilchen. Diese Elektronen oder Positronen werden in einem Ringbeschleuniger mittels Wechselspannung auf nahezu Lichtgeschwindigkeit beschleunigt und mit Hilfe von starken Dipolmagneten in Kreissegmenten auf eine Kreisbahn abgelenkt. Damit der Strahl stets eine bestimmte Kreisbahn beschreibt, wird das Magnetfeld der Ablenkmagnete synchron zum Teilchenimpuls erhöht. Bei der Ablenkung wird tangential zur Bewegungsrichtung der geladenen Teilchen elektromagnetische „weiße“ Strahlung emittiert. Eine Prinzipskizze ist in Abbildung 3.2 dargestellt.

Der erzeugte Strahlkegel ist sehr schmal und wird daher als parallel betrachtet. Die Divergenz der Synchrotronstrahlung ist umgekehrt proportional zur Bewegungsenergie der Teilchen. Zum Beispiel betragen die horizontale und vertikale Divergenz am DORIS III-Speicherring am DESY  $4 \cdot 10^{-4} \text{ rad}$  und  $1,5 \cdot 10^{-4} \text{ rad}$  bei einer Energie von 30 keV [Beckmann 2004].



Die Strahlungsintensität kann durch die Änderung der Bewegungsrichtung der geladenen Teilchen deutlich erhöht werden. Das geschieht durch hintereinander geschaltete Dipolmagnete mit alternierender magnetischer Feldrichtung. Durch die Ablenkung erfährt das geladene Teilchen eine Beschleunigung. Die Intensität der emittierten Strahlung wird bei jeder Ablenkung vervielfacht. Diese technischen Vorrichtungen werden Undulatoren oder Wiggler genannt [Als-Nielson 2000, S. 40f.].

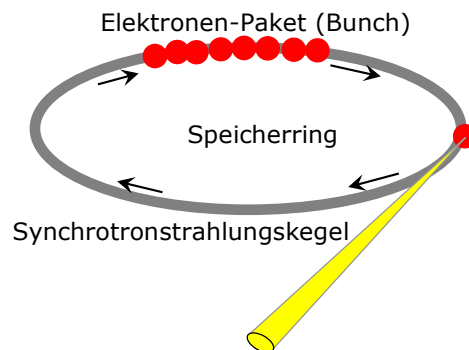


Abbildung 3.2 Prinzipskizze der Synchrotronstrahlungsentstehung an einem Kreisbeschleuniger. Tangential zur Beschleunigungsrichtung der geladenen Teilchen entsteht hochenergetische Röntgenstrahlung [Als-Nielsen 2000, S. 2].

Die Qualität der erzeugten Strahlung hängt stark von der Länge der Einzelmagnete, der Magnetfeldstärke sowie von der Geschwindigkeit, Ladung und Masse des Teilchens ab.

Das kontinuierliche Spektrum der Synchrotronstrahlung umfasst den Bereich von Infrarot bis zu harter Röntgenstrahlung. Verglichen mit konventionellen Röntgenröhren bietet die Synchrotronstrahlung neben dem breiten kontinuierlichen Spektrum einen um viele Größenordnungen höheren spektralen Photonenfluss. Der Photonenfluss ist das Maß, welches die Anzahl der emittierten Photonen in einem schmalen Spektralband  $\Delta\lambda / \lambda = 10^{-3}$  pro Zeiteinheit wiedergibt. Zusammen mit der Strahldivergenz bestimmt der Photonenfluss die so genannte Brillanz der Synchrotronquelle, welche das Maß für die Photonenzahl am Untersuchungsobjekt ist.

Der am DORIS III-Speicherring / DESY verwendete Wiggler ermöglicht zum Beispiel eine Brillanz von  $10^{15}$  Photonen  $(s \text{ mrad}^2 \text{ mm}^2 0,1\% \text{ Bandbreite})$ . Wie in Abbildung 3.3 zu sehen ist, ist eine höhere Brillanz am DORIS-Speicherring mit Hilfe von Undulatoren erreichbar. Die umgebaute Quelle PETRA III gehört zu den besten Synchrotronquellen der Welt, ihre Brillanz liegt im Bereich von  $10^{18}$  Photonen  $(s \text{ mrad}^2 \text{ mm}^2 0,1\% \text{ Bandbreite})$  [DESY 2011].

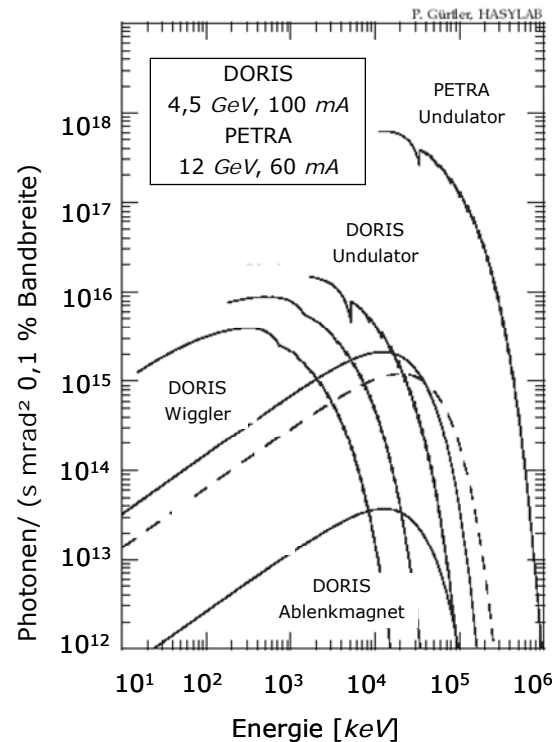


Abbildung 3.3 Übersicht über die derzeitige Brillanz der Synchrotronquellen am DESY [DE-SY 2011].

Die Brillanz einer Synchrotronquelle ist um ca. 10 Größenordnungen höher als die von Röntgenröhren mit rotierenden Anoden [Als-Nielsen 2006, S. 32]. So genannte Mikrofokusröhren bieten heutzutage eine höhere Brillanz als konventionelle Röntgenröhren, die allerdings deutlich geringer ist als die Brillanz von Synchrotronquellen.

Der höhere Photonenfluss ermöglicht eine deutliche Steigerung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses und damit eine Kontraststeigerung in den Projektionsbildern. Ein weiterer Vorteil des hohen Photonenflusses ist die Verkürzung der Belichtungszeit von Detektoren bei vergleichbarer Pixelauflösung, die in den meisten Fällen mit gleichzeitiger Verbesserung der Bildqualität einhergeht. Die hohe Energie der Synchrotronstrahlung und der hohe Photonenfluss lassen die Verwendung von Gitter- oder Kristallmonochromatoren zu. Damit lässt sich monoenergetische Strahlung mit einer Energieauflösung von wenigen Elektronenvolt mit extrem hoher Photonendichte am Objekt einstellen. Durch die präzise Wahl einer Wellenlänge, bezogen auf die Zusammensetzung des Untersuchungsobjektes, kann der Absorptionskoeffizient  $\mu$  mit einer relativen Genauigkeit von 1 % quantitativ bestimmt werden [Baruchel 2000, S. 51f.].

Die Monochromasie hat einen weiteren entscheidenden Vorteil gegenüber polychromatischer Strahlung: der Effekt der Strahlaufhärtung sowie damit zusammenhängende Rekonstruktionsartefakte entfallen.

Weiterhin erlaubt die sehr geringe Strahldivergenz die Annahme einer nahezu parallelen Strahlausbreitung. Dies ermöglicht die Verwendung von einfacheren Datenakquisitions- sowie Rekonstruktionsalgorithmen, verglichen mit denen für die kegelförmige Strahlausbreitung. Für den Fall der parallelen Strahlausbreitung ist eine mathematisch geschlossene Inversion der Radontransformation gegeben, wodurch eine vollständige Rekonstruktion der tomographischen Daten möglich ist [Kak 1999, S. 60f.].

Der markanteste Nachteil der Synchrotronstrahlungsquellen ist ihre geringe Verfügbarkeit. Im Durchschnitt beträgt die Messzeit für einen externen Nutzer einige Tage bis Wochen pro Jahr. Daher können nur einige wenige Proben mit monochromatischer Strahlung untersucht werden. Im Rahmen einer Kooperation mit SEON Erlangen sind Reihenuntersuchungen von großer Wichtigkeit. Das hat eine hohe Probenanzahl zur Folge. Aufgrund der begrenzten Synchrotronmesszeit können die, für die medizinischen Partner notwendigen Serienuntersuchungen, nur an polychromatischen Labortomographieanlagen vorgenommen werden.

Aus diesem Grund liegt der Schwerpunkt dieser Arbeit auf tomographischen Messungen an Tomographieanlagen, die auf Röntgenröhren basieren. Die Vermessungen am Synchrotron sind ausschließlich besonders interessanten Objekten und Referenzproben vorbehalten.

Im folgenden Abschnitt werden das tomographische Messprinzip, die Grundlagen der Rekonstruktion sowie Artefakte vorgestellt. Im Anschluss daran erfolgt die Beschreibung der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Tomographieanlagen.

## 3.4 Messprinzip

Mit Hilfe der tomographischen Bildgebung ist es möglich, Volumeninformationen eines Objektes aus dessen Projektionen zu bestimmen. Projektionen sind Radiogramme, welche die Schwächung der Röntgenstrahlung beim Durchgang durch die Materie detektieren. Bei der tomographischen Messung werden Projektionen aus verschiedenen Winkeln aufgenommen. Ist die Drehachse des Objektes senkrecht zur Strahlrichtung, so sind die Projektionen einzelner Schichten voneinander unabhängig.

Die experimentelle Realisierung einer radiographischen Messung ist in Abbildung 3.4 ersichtlich. Das Koordinatensystem ist gemäß der am HASYLAB/DESY üblichen Weise definiert. Die emittierte Strahlung, die aus einer Röntgenröhre oder einem Synchrotron abgegeben werden kann, durchstrahlt ein Objekt entlang linearer Pfade an den Positionen  $z_p$  in  $y$ -Richtung zum Detektor.

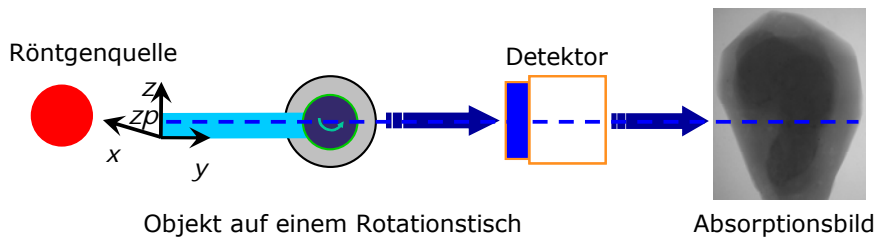


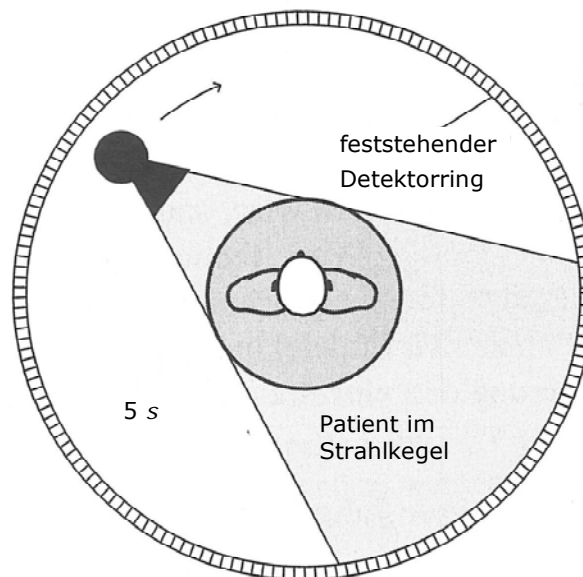
Abbildung 3.4 Prinzip einer mikrocomputertomographischen Messung. Im Gegensatz zu konventionellen medizinischen CT-Scannern wird hierbei das Objekt rotiert. Zudem kann es noch in  $x$ -,  $y$ - und  $z$ -Richtung manipuliert werden.

In Abhängigkeit von der Zusammensetzung und den geometrischen Abmaßen des Objektes wird das Absorptionsverhalten gemäß der Gleichung (3.3) beeinflusst. Diese Dichteveriationen führen zur Kontrastbildung in den Absorptionsbildern, die in geeigneten Detektoren aufgenommen werden können. Dazu muss die Röntgenstrahlung in Lichtstrahlung oder messbare Strom- oder Spannungssignale umgewandelt werden. In den meisten Fällen werden für Detektoren fluoreszierende Materialien wie zum Beispiel  $CdWO_4$ ,  $CsI$  oder  $ZnS$  verwendet. Diese können in dünnen Schichten auf optische Glassubstrate aufgedampft sein oder liegen in Form von Kristallplatten vor.

Die Umwandlung von Röntgen- in Lichtstrahlung erfolgt durch Wechselwirkung von Röntgenphotonen mit Hüllenelektronen der aufgeführten Detektormaterialien. Anschließend wird das sichtbare Licht zum Beispiel von CCD-Kameras in digitale Daten umgewandelt [Bernhardt 2006].

Für eine tomographische Messung werden mehrere Hundert oder sogar Tausende Projektionen aufgenommen. Die folgenden Arten werden dabei in der medizinischen und technischen Praxis am häufigsten verwendet. In medizinischen Computertomographen wird in der Regel die Einheit, bestehend aus Röntgenquelle und Detektor, um den Patienten rotiert [Kalender 2006, S. 38] (siehe Abbildung 3.5). In der Labortomographie hingegen, insbesondere in der Mikrotomographie, wird auf die Rotation der Probe zurückgegriffen, während die Röntgenquelle und der Detektor definierte Positionen haben [Brunke 2006].

Abbildung 3.5 Tomographische Messung mit einem medizinischen CT-Scanner: der Patient liegt, während ein Assembly aus einem Detektorring und einer Röntgenröhre um ihn rotiert wird [Kalendar 2006, S. 38].



### 3.4.1 Projektion

Aus einem Datensatz, bestehend aus einer Anzahl von 1-dimensionalen Projektionen einer Schicht im Objekt, lässt sich die 2-dimensionale Verteilung des Absorptionskoeffizienten  $\mu$  jedes einzelnen Volumenelementes innerhalb eines 3-dimensionalen Objektes bestimmen. Abbildung 3.6 zeigt die Projektion eines Objektes unter dem Projektionswinkel Theta  $\Theta$ . Das Untersuchungsobjekt wird durch die Ortsfunktion  $\mu(x,y)$  beschrieben. Eine Projektion  $P_{\Theta}(t)$  einer 2-dimensionalen Funktion  $\mu(x,y)$  unter einem Winkel  $\Theta$  lässt sich durch ein Linienintegral entlang des Strahlengangs wie in Gleichung (3.7) beschreiben:

$$P_{\Theta}(t) = \int_{(\Theta, t) \text{ Linie}} \mu(x, y) ds. \quad (3.7)$$

Die Detektorkoordinate  $t$  kann im Koordinatensystem mit Hilfe der Geradengleichung:

$$t = x \cos \Theta + y \sin \Theta \quad (3.8)$$

berechnet werden.

Jedes der Linienintegrale entlang des Strahlengangs ergibt einen Punkt  $P_\Theta(t_\Theta)$  auf dem Detektor. Die Gesamtheit aller Punkte kann durch die Verwendung der Dirac'schen Delta-Funktion wie in Gleichung (3.9) berechnet werden:

$$P_\Theta(t) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \mu(x, y) \cdot \delta(x \cos \Theta + y \sin \Theta - t) dx dy. \quad (3.9)$$

Die oben aufgeführte Gleichung (3.9) wird zu Ehren des Mathematikers J. Radon als die Radontransformierte bezeichnet. Sie beschreibt die 2-dimensionale Bestimmung einer Größe, in diesem Fall des Absorptionskoeffizienten  $\mu(x, y)$ . Unter der Annahme, dass alle Projektionen für alle Projektionswinkel  $\Theta \in [0, \pi[$  verfügbar sind, ist die 3-dimensionale Transformation der Funktion  $\mu(x, y)$  bekannt.

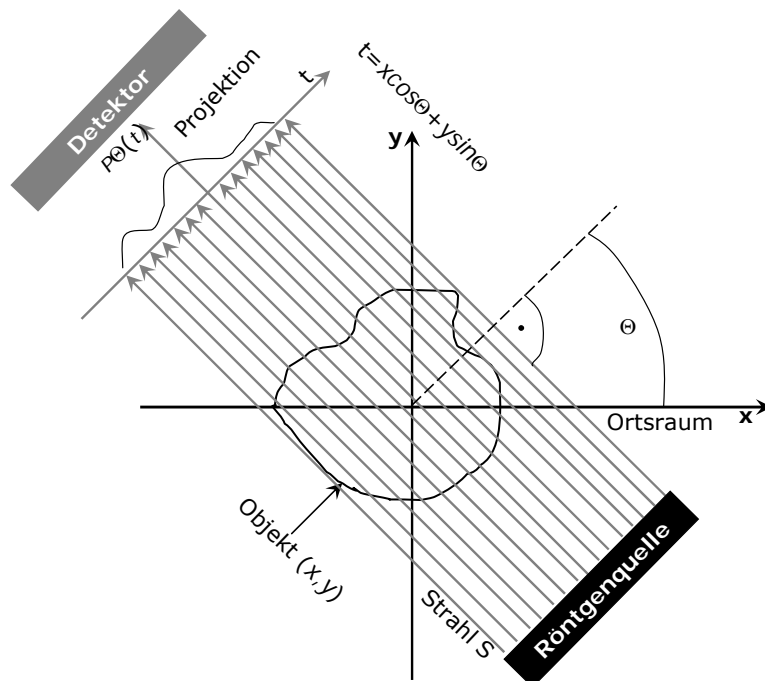


Abbildung 3.6 Projektion eines Objektes unter dem Projektionswinkel Theta [Baruchel 2000, S. 51].

### 3.4.2 Fourier-Slice-Theorem

Ziel der Rekonstruktion ist es, aus den messtechnisch ermittelten 1-dimensionalen Projektionen  $P_\Theta(t)$  durch die inverse Radon-Transformation die entsprechende 2-dimensionale Funktion  $\mu(x, y)$  zu berechnen. Die Grundlage dazu liefert das Fourier-Slice-Theorem (FST).

Dazu werden zunächst die Fouriertransformierte  $S_\Theta(w)$  von  $P_\Theta(t)$  mittels

$$S_{\Theta}(w) = \int_{-\infty}^{\infty} P_{\Theta}(t) \exp(-j2\pi wt) dt \quad (3.10)$$

sowie die 2-dimensionale Fourier-Transformation  $F(u,v)$  der Objektfunktion

$$F(u,v) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \mu(x,y) \exp(-j2\pi(ux+vy)) dx dy \quad (3.11)$$

betrachtet. Setzt man  $u = w \cos \Theta$  und  $v = w \sin \Theta$ , so gilt

$$F(u,v) = S_{\Theta}(w). \quad (3.12)$$

Das bedeutet, dass die Fouriertransformierte  $S_{\Theta}(w)$  für eine unter dem Winkel  $\Theta$  aufgenommene Projektion  $P_{\Theta}(t)$  eine Linie im Frequenzraum der Fouriertransformierten  $F(u,v)$  der Ortsfunktion  $\mu(x,y)$  beschreibt. Diese Linie AB schneidet den Ursprung der  $(u,v)$ -Ebene unter einem Winkel  $\Theta$ , siehe dazu die Abbildung 3.7 [Kak 1999, S. 57].

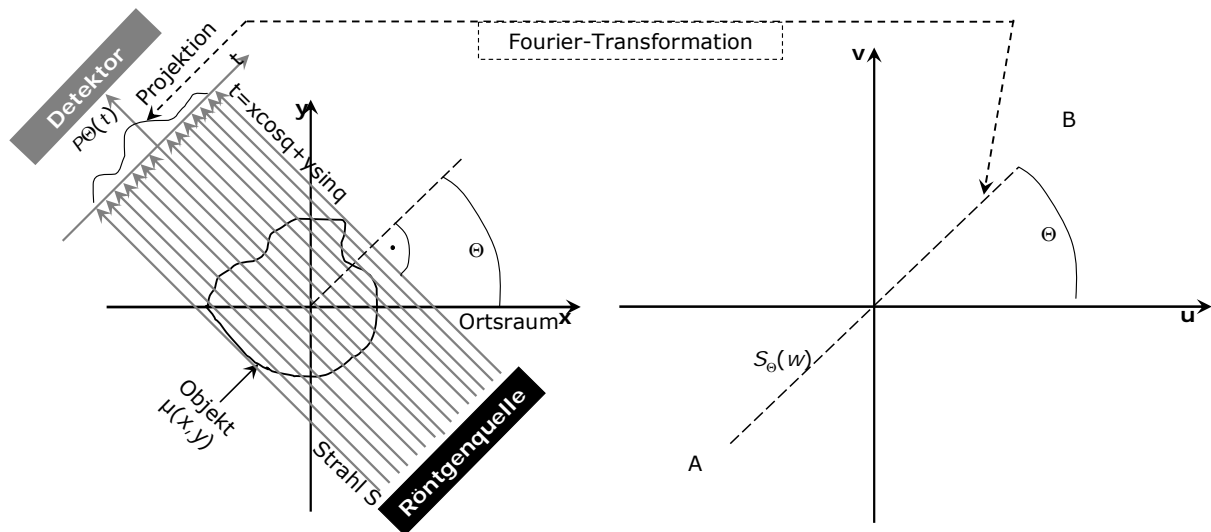


Abbildung 3.7 Prinzip des Fourier-Slice-Theorems [Kak 1999, S. 57].

Ist die Projektion  $P_{\Theta}(t)$  für jeden Winkel  $\Theta$  und damit die Fouriertransformierte  $F(u,v)$  gemäß den Gleichungen (3.9) und (3.11) für jeden Punkt im Frequenzraum bekannt, so kann die Ortsfunktion  $\mu(x,y)$  rücktransformiert werden [Baruchel 2000, S. 56]. Abbildung 3.8 zeigt einige Punkte im Fourierraum, die Projektionen entsprechen.

In Abbildung 3.9 ist der logische Zusammenhang zwischen der gesuchten Ortsfunktion  $m(x,y)$ , der messbaren Projektion  $P_{\Theta}(t)$  sowie deren Fouriertransformierten  $F(u,v)$  und  $S_{\Theta}(w)$  graphisch dargestellt [Buzug 2004, S. 125].

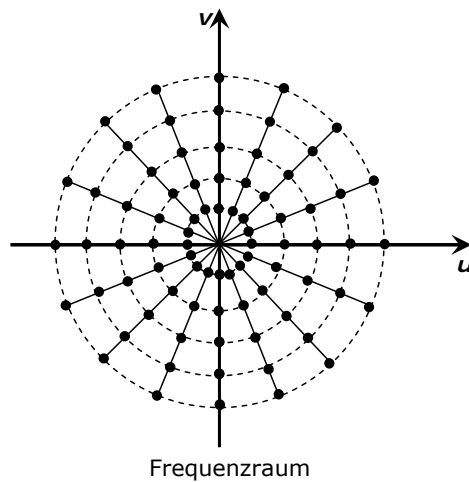


Abbildung 3.8 Bestimmung von  $F(u, v)$  aus  $S_\theta(w)$  für einige Projektionen [Kak 1999, S. 59].

Die oben getroffenen Annahmen beruhen auf der Tatsache, dass für jeden Winkel  $\theta$  die entsprechende Projektion  $P_\theta(t)$  bekannt ist. In der Realität werden nur endlich viele Projektionen gemessen, das bedeutet, dass die Fouriertransformierte  $F(u, v)$  der Projektionen nur für die endliche Anzahl gemessener radialer Linien bekannt ist [Buzug 2004, S. 125].

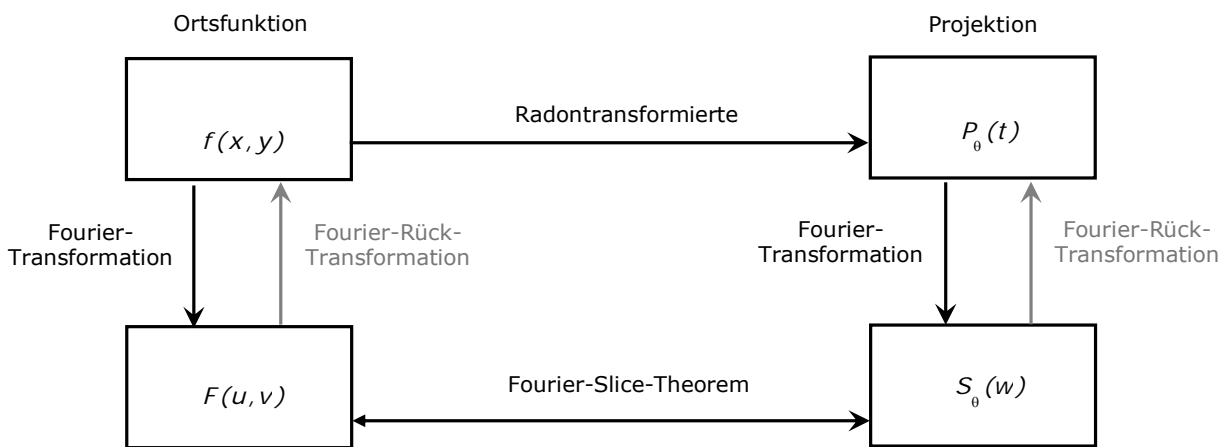


Abbildung 3.9 Zusammenhang zwischen der Ortsfunktion  $\mu(x, y)$ , der messbaren Projektion  $P_\theta(t)$ , sowie deren Fouriertransformierten  $F(u, v)$  und  $S_\theta(w)$  [Buzug 2004, S. 122f.].

Beim Betrachten der Abbildung 3.8 wird deutlich, dass für kleine Werte von  $v$  und  $u$  die rekonstruierten Werte deutlich näher beieinander liegen. Das führt dazu, dass niedrige Frequenzen, die groben Strukturen im Objekt gleichstehen, stärker betont werden als hohe Frequenzen, die den feinen, detaillierten Strukturen entsprechen. Das wiederum führt zu erheblichen Artefakten in der Rekonstruktion der Ortsfunktion [Kak 1999, S. 59]. Daher wird auf eine Rekonstruktion



tionsmethode mit gefilterter Rückprojektion zurückgegriffen, die nachfolgend erläutert wird.

### 3.4.3 Rekonstruktion mit gefilterter Rückprojektion

Die Methode der gefilterten Rückprojektion basiert auf dem im vorangegangenen Abschnitt 3.4.2 beschriebenen Fourier-Slice-Theorem. Die gesuchte Ortsfunktion  $\mu(x, y)$  in Polarkoordinaten wird durch die inverse Fourier-Transformation wie folgt bestimmt:

$$\mu(x, y) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\infty} F(w, \Theta) \cdot \exp(j2\pi w(x \cos \Theta + y \sin \Theta)) dw d\Theta. \quad (3.13)$$

Auf der Grundlage von Gleichung (3.9) können die Projektionsdaten in den Frequenzraum überführt werden. Durch die Substitution der Variablen sowie der Integrationsgrenzen erhält man die folgende Gleichung:

$$\mu(x, y) = \int_0^{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} S_{\Theta}(w) \cdot |w| \exp(j2\pi w(x \cos \Theta + y \sin \Theta)) dw d\Theta. \quad (3.14)$$

Die obige Gleichung (3.14) ist die analytische Grundlage für die kompakte Realisierung der gefilterten Rückprojektion. Zuerst sollen die Projektionen im Frequenzraum gefiltert werden. Das geschieht durch die Multiplikation mit einer rampenförmigen Funktion. Dieser Filter verstärkt die Fourierkoeffizienten mit hoher räumlicher Frequenz. Die Fourierkoeffizienten, die eine niedrige räumliche Frequenz haben, werden geschwächt. Durch eine inverse Fourier-Transformation werden die Projektionsdaten in den Ortsraum rücktransformiert und man erhält die gefilterte Projektion  $Q_{\Theta}(t)$ :

$$\mu(x, y) = \int_0^{\pi} Q_{\Theta}(x \cos \Theta + y \sin \Theta) d\Theta \quad (3.15)$$

mit

$$Q_{\Theta}(t) = \int_{-\infty}^{\infty} S_{\Theta}(w) \cdot \exp(j2\pi w t) |w| dw. \quad (3.16)$$

Die gefilterte Projektion  $Q_{\Theta}(t)$  für eine feste Detektorkoordinate  $t$  definiert die Werte entlang einer Linie im Ortsraum gemäß der Geradengleichung (3.8). Die Gesamtheit aller Geraden ergibt die 2-dimensionale Rückprojektion.

Durch die Summierung dieser Rückprojektionen über alle Winkel kann die gesuchte Objektfunktion  $\mu(x, y)$  berechnet werden:

$$\mu(x, y) = \int_0^{\pi} Q_{\theta} \left( t_{\rho} \right) d\theta \quad [\text{Brunke 2006}]. \quad (3.17)$$

Dieser Algorithmus wird als „Back Projection of Filtered Projections Algorithm“ (BKFIL) bezeichnet [Herman 1979a, S. 643f.].

### 3.4.4 Sinogramm

Für jede aufgenommene Schicht des Objektes, das bedeutet für jede Detektorzeile, werden Projektionen aus vielen verschiedenen Winkeln errechnet und zu einem Gesamtdatensatz zusammengesetzt. Dadurch entsteht eine 2-dimensionale Abbildung, die in jedem Punkt durch eine Orts- und eine Winkelkoordinate definiert ist. Dabei beschreibt jeder Punkt der Schicht eine sinusförmige Bahn. Daher wird diese Form der Repräsentation des Objektes als Sinogramm bezeichnet. Ein Sinogramm einer Tumorschicht ist in Abbildung 3.10 dargestellt.

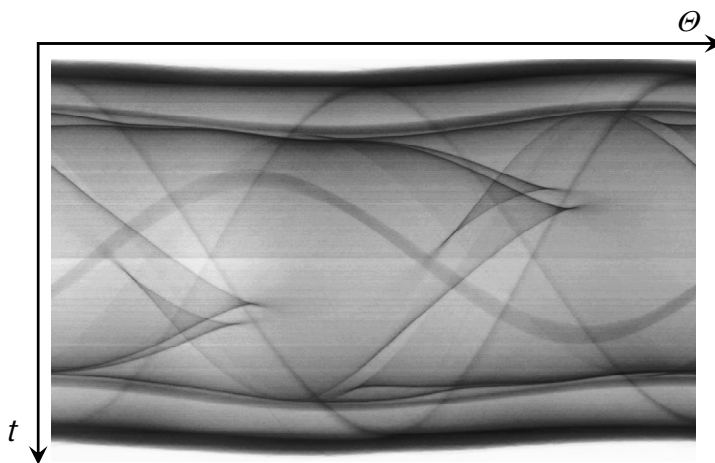


Abbildung 3.10 Sinogramm einer Tumorschicht.

## 3.5 Kegelstrahlgeometrie

Abschnitt 3.3 beschäftigte sich mit Röntgenquellen. Dabei wurde schon auf die Nutzung der kegelförmigen Strahlausbreitung zur Einstellung von optischen Vergrößerungen eingegangen. Die Kegelstrahlgeometrie muss sowohl während der tomographischen Vermessung als auch bei der Rekonstruktion in Betracht gezogen werden. Dies wird nachfolgend erörtert.

Für die vollständige Radon-Transformation sind im Falle der Parallelstrahlung, so wie sie am Synchrotron verfügbar ist, Projektionen in einem Winkelraum von  $0^\circ$  bis  $180^\circ$  ausreichend, da diese den Projektionen zwischen  $180^\circ$  und  $360^\circ$  spiegelbildlich entsprechen. Für den Fall, dass eine Röntgenröhre als Strahlungsquelle verwendet wird, muss deren divergente, meist kegelförmige Strahlausbreitung berücksichtigt werden. Werden nicht adaptierte Algorithmen für die Rekonstruktion verwendet, so sind Projektionen über einen Winkelbereich von  $0^\circ$  bis  $360^\circ$  erforderlich. Allerdings kann durch eine geeignete Wichtung der Projektionen der Winkelbereich verkleinert werden. Das führt in der Praxis zu einer schnelleren Erstellung von tomographischen Messungen sowie der Rekonstruktion.

Der Öffnungswinkel der Röntgenröhre beschreibt die kegelförmige Strahlausbreitung. Abhängig vom Typ kann der Winkel  $10^\circ \leq \Gamma \leq 180^\circ$  betragen. Dabei haben insbesondere die sogenannten Mikrofokusröhren einen weiten Öffnungswinkel zwischen  $140^\circ \leq \Gamma \leq 180^\circ$ , welcher durch geeignete Blenden beliebig eingeschränkt werden kann.

Durch die kegelförmige Strahlausbreitung können die Projektionen nicht in unabhängige Schichten und Sinogramme aufgeteilt werden, wie es im Falle von Parallelstrahlung möglich ist. In der zentralen Ebene des Strahlkegels verlaufen die Strahlen senkrecht zur Rotationsachse durch ein Objekt, während die Strahlenpfade mit wachsendem Abstand zur zentralen Ebene einen immer größer werdenden Winkel haben. Dies führt dazu, dass Strahlen, die außerhalb der Zentralebene liegen und damit schräg durch die Probe laufen, in den Detektorzeilen „verfälschte“ Schwächungsinformationen verursachen. Mit dieser Problemstellung haben sich einige Arbeitsgruppen beschäftigt. Der so genannte Feldkampalgorithmus ist der bekannteste und wohl der am häufigsten verwendete Kegelstrahl-Rekonstruktionsalgorithmus [Feldkamp 1984].

Dieser Algorithmus wurde für alle im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Rekonstruktionen von polychromatischen Daten verwendet.

## 3.6 Artefakte

In diesem Abschnitt werden kurz einige Artefakte, die bei der Erstellung eines Tomogramms auftreten können, beschrieben.

### 3.6.1 Bewegungsartefakt

Bewegung, das heißt zeitliche und räumliche Veränderung des Objektes während einer tomographischen Messung, führt nicht nur zu lokalen Unschärfen, sondern zu einer Verschlechterung des gesamten Datensatzes. Für diesen Fall beschreiben die Projektionen aus unterschiedlichen Winkeln nicht die gleiche Objektfunktion  $\mu(x,y,z)$ . Durch die Inkonsistenz zwischen den Projektionen treten Kantenverwischungen auf [Kalender 2006, S. 122f.]. Dies führt zu einer Verminderung der räumlichen Auflösung. Aus diesem Grund muss bei den Probenjustagen darauf geachtet werden, dass sich die Probe über die Dauer der Messung – soweit es möglich ist – weder zeitlich noch räumlich verändert.

### 3.6.2 Objektausrichtung

Ein so genanntes Phantom- oder Schattenbild erscheint im tomographischen Datensatz, wenn die Rotationsachse des Objektes nicht mit der Rotationsachse des Positioniertisches übereinstimmt. Dieses Artefakt entsteht zum Beispiel durch eine ungenaue Einstellung des Rotationszentrums oder eine unzureichende Bestimmung des Rekonstruktionszentrums.

Die Auswirkung dieses Artefaktes kann anhand von Abbildung 3.11a) demonstriert werden. Sie zeigt die Draufsicht eines Tumors, dessen Rotationsachse absolut symmetrisch mit dem Drehzentrum ist. In diesem Fall sind die entsprechenden Projektionen an derselben Stelle auf dem Detektor lokalisiert. Es entsteht keine Phantomabbildung im rekonstruierten Datensatz. Befindet sich das Objekt jedoch nicht im Drehzentrum, so kommt es zu einer sinusförmigen Bewegung des Objektes um das Drehzentrum. Betrachtet man eine Detektorzeile, so führt die sinusförmige Bewegung des Objektes zu einer Verzerrung des Sinogramms. Das bedingt wiederum die Phantomabbildung, die in Abbildung 3.11b) veranschaulicht ist.

Dieses Artefakt lässt sich weitestgehend vermeiden. Zum einem kann schon bei der Auswahl der Probenpositioniereinheit auf die Präzision der Rotationsbewegung geachtet werden. Zum anderen kann bei der Justage, insbesondere bei Anbringung des Objektes auf einem Probenhalter und bei der Positionierung des Objektes mit Hilfe eines X-Y-Tisches darauf geachtet werden, dass die Rotationsachse des Objektes so genau wie mechanisch realisierbar mit dem Drehzentrum übereinstimmt. Weiterhin kann die Abweichung bereits mittels einer einfachen Datenverarbeitungssoftware durch Versetzen der Projektionsbilder korrigiert werden.

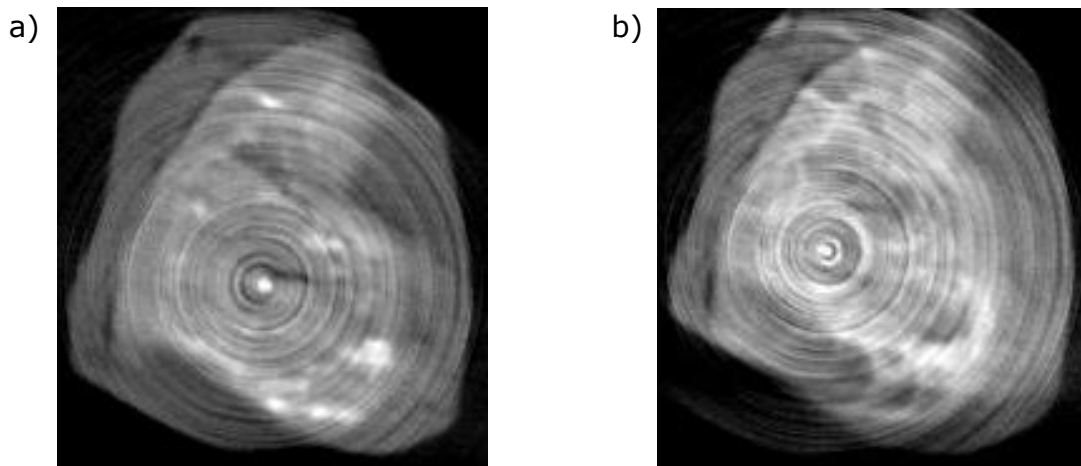


Abbildung 3.11 Draufsicht einer Tumorschicht. a) Der Datensatz ist mit korrektem Rekonstruktionszentrum rekonstruiert worden. b) Der gleiche Datensatz wurde unter Vernachlässigung der Rekonstruktionszentrumskorrektur nochmals rekonstruiert. Es sind helle ringförmige Strukturen zu erkennen. Dies sind Schattenbilder von Bereichen starker Nanopartikelakkumulationen, die im linken Bild deutlich sind. Zudem werden die Ringartefakte durch die Schattenbilder verstärkt.

### 3.6.3 Strahlaufhärtung – beam hardening

Das Strahlaufhärtungsartefakt wurde bereits in Abschnitt 3.1.2 Röntgenquellen angesprochen. Der Ursprung dieses Artefaktes ist die starke Energieabhängigkeit des Absorptionskoeffizienten  $\mu$ .

Dieses Artefakt kann wie folgt erläutert werden: Die Computertomographie basiert auf der Annahme, dass sich ein Röntgenstrahl geradlinig durch ein Objekt ausbreitet und dabei materialspezifisch geschwächt wird. Die Schwächung des Strahls ist von der Photonenenergie abhängig. Die rekonstruierte Repräsentation eines Objektes besteht aus Voxeln, deren Grauwerte dem Schwächungskoeffizienten  $\mu$  entsprechen.

Der Schwächungskoeffizient ist stark energieabhängig, infolgedessen werden die niederenergetischen Photonen überproportional stark in den Randbereichen des durchstrahlten Objekts absorbiert. Das von der Quelle ausgehende Strahlspektrum wird mit zunehmender Objektstärke zu höheren Energien verschoben [Buzug 2004, S. 368]. Die Verschiebung des Röntgenspektrums ist qualitativ in Abbildung 3.12 dargestellt.

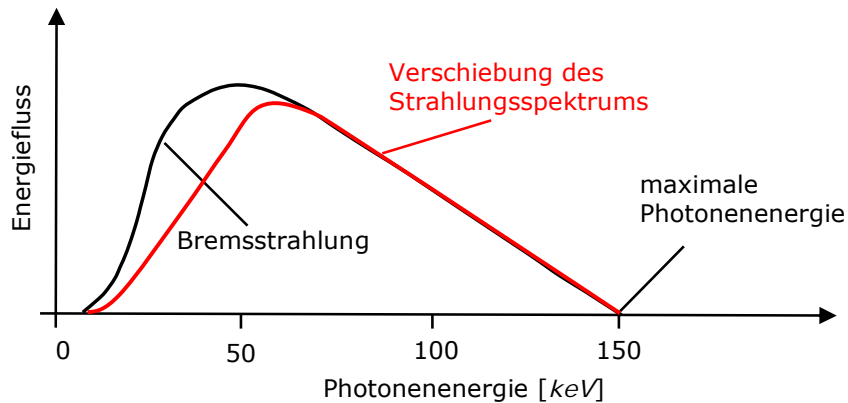


Abbildung 3.12 Qualitative Verschiebung (rot) des Strahlungsspektrums zu höheren Energien.

Die Grafik in Abbildung 3.13 zeigt die Draufsicht eines mit Nanopartikeln beladenen Tumors. Hier ist das Strahlauhärtungsartefakt deutlich abgegrenzt als cyanfarbener Rand zu erkennen. Dieser Bereich der Tumorseite weist eine scheinbare spezifische Dichte auf, die im Objekt nicht vorhanden ist.

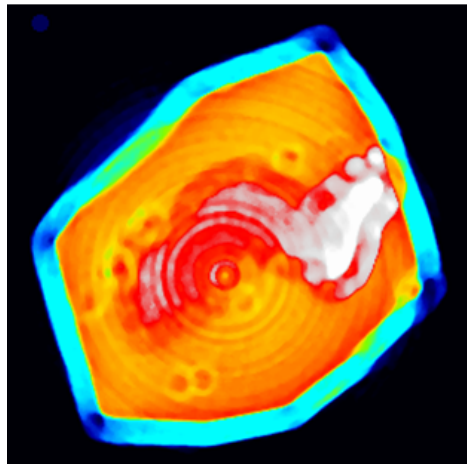


Abbildung 3.13 Tomographische Draufsicht eines Tumors, der mit magnetischem Drug Targeting behandelt wurde. Das Strahlauhärtungsartefakt ist als cyanfarbener Bereich in der äußeren Region des Tumors zu sehen.

Der Artefaktentstehung kann während der Messung durch Einsetzen von Filterscheiben aus Aluminium oder Kupfer in begrenztem Maße entgegengewirkt werden. Auf diese Weise kann ein großer Teil der niederenergetischen Strahlung im Filter, der zwischen dem Objekt und der Röntgenquelle angebracht wird, absorbiert werden, was zu einer Vorhärtung der Strahlung führt.

Eine andere Möglichkeit dieses Artefakt zu reduzieren bietet die digitale Nachbearbeitung der aufgenommenen Daten mittels geeigneter Algorithmen. Einige Arbeitsgruppen zeigten bereits in den späten 70er Jahren des 20. Jahrhunderts Ansätze zur Strahlauhärtungskorrektur [Brooks 1976, Herman 1979b]. Die Arte-

faktkorrektur bleibt jedoch nach wie vor eine aktuelle Herausforderung in der radiographischen und tomographischen Bildgebung, die zum Beispiel in [So 2009] diskutiert wird.

### 3.6.4 Streustrahlung

Röntgenstrahlung kann am Objekt oder an der unmittelbaren Probenumgebung sowie an Luftbestandteilen gestreut werden. Diese nicht absorbierten sondern abgelenkten Photonen tragen nicht zum effektiven Signal bei, sondern erhöhen im Gegenteil das Rauschen und verringern damit den Kontrast. Der Streuung von Röntgenstrahlen kann zum Beispiel durch adäquate Abschirmung des Strahlenganges oder Minimierung des Abstandes zwischen dem Objekt und dem Detektor (Szintilationsschirm) entgegengewirkt werden.

### 3.6.5 Streifen- oder Sternartefakt

Bei Objekten geringer bis mittlerer Dichte, zum Beispiel biologischem Gewebe, welches Komponenten deutlich höherer Dichte wie Metall enthält, tritt an Phasengrenzen das Strahlaufhärtingsartefakt besonders intensiv auf. In unmittelbarer Nähe des Metallgegenstandes kann es zur vollständigen Löschung der Bildinformation durch „Überblenden“ kommen. Dabei treten an den Phasengrenzen störende Rauschstrukturen in Form von Streifen oder Sternen auf. Das streifenförmige Artefakt breitet sich entlang der Schicht aus und ist auch noch in einiger Entfernung zum Ursprung deutlich erkennbar. Dieses Artefakt ist ein Indiz dafür, dass die Abtastung an diesem äußerst starken Phasenübergang nicht ausreichend fein gewählt wurde [Kalender 2006, S. 122f.]. Durch die geschickte Wahl zweier Beschleunigungsspannungen, wie sie bei der sogenannten Dual-Energie-Methode angewendet wird, und der damit einhergehenden Verdopplung der Projektionenanzahl, kann dieses Artefakt vermieden werden [Kalender 2006, S. 122f.].





## 4 Experimentelle Aufbauten

In den vorangegangenen Kapiteln wurden die theoretischen Grundlagen der tomographischen Messtechnik und Datenrekonstruktion sowie Beispiele von dabei auftretenden Artefakten dargestellt. Ebenso wurden die verwendeten Röntgenquellen und die aus deren Nutzung resultierenden Vor- und Nachteile erläutert. Darauf aufbauend werden nun zunächst die Tomographieanlagen beschrieben und im anschließenden Kapitel deren technische Charakterisierung erörtert.

Für die Untersuchungen zur Biodistribution der magnetischen Nanopartikel in biologischem Gewebe standen drei Tomographieanlagen zur Verfügung. Die Multifunktionsanlage DiTo basiert auf Synchrotronstrahlung, LeTo ist auf einer konventionellen Röntgenröhre aufgebaut und TomoTU auf einer Nanofokusröhre. Nachdem die synchrotronbasierte Tomographie-Kamera DiTo detailliert beschrieben wurde, wird zu den Anlagen LeTo und TomoTU eine kurze Übersicht gegeben.

### 4.1 DiTo – Multifunktions-tomographieanlage – 2-D-Diffraktion und 3-dimensionale Mikrotomographie

DiTo ist eine kombinierte Diffraktometrie- und Tomographieanlage, die in den Jahren 2006 bis 2009 an der HARWI-II Beamline am Hasylab/DESY in Hamburg installiert und in Betrieb genommen wurde [Hasse 2008]. An dieser Beamline sind Energiebereiche von 17 bis 250 keV [DESY 2011] sowie hohe Emissionsströme bis zu  $10^{13}$  Photonen pro 0,1% Bandbreite  $s^{-1}$  verfügbar [Kohlrausch 1996, S. 282].

Die Apparatur kombiniert zwei Messtechniken: die Mikrocomputertomographie und die 2-D-Diffraktion. Daher sind die beiden Messmethoden „Diffraktometrie“ und „Tomographie“ im Akronym DiTo zusammengefasst. Abbildung 4.1 zeigt die CAD-Repräsentation der Multifunktionsanlage DiTo. Für die Vermessungen von biologischen Gewebeproben im Rahmen dieser Arbeit wurde ausschließlich die tomographische Komponente der Anlage verwendet, daher wird im Folgenden lediglich diese beschrieben.

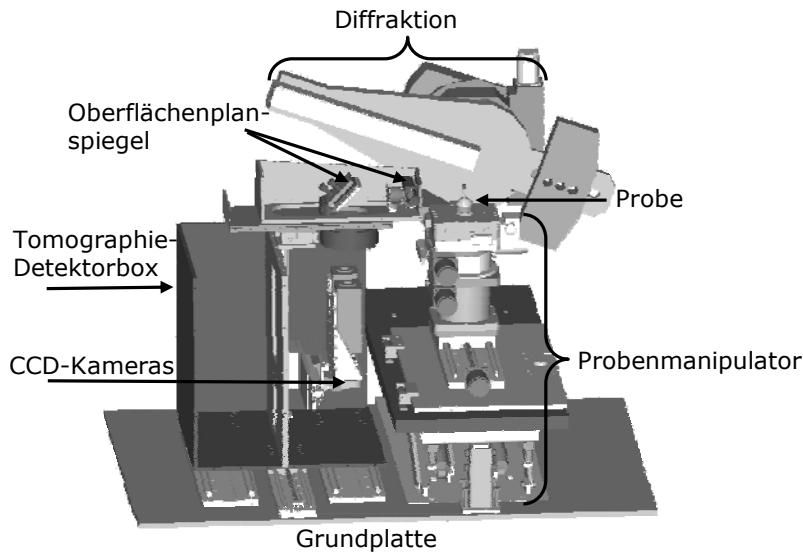
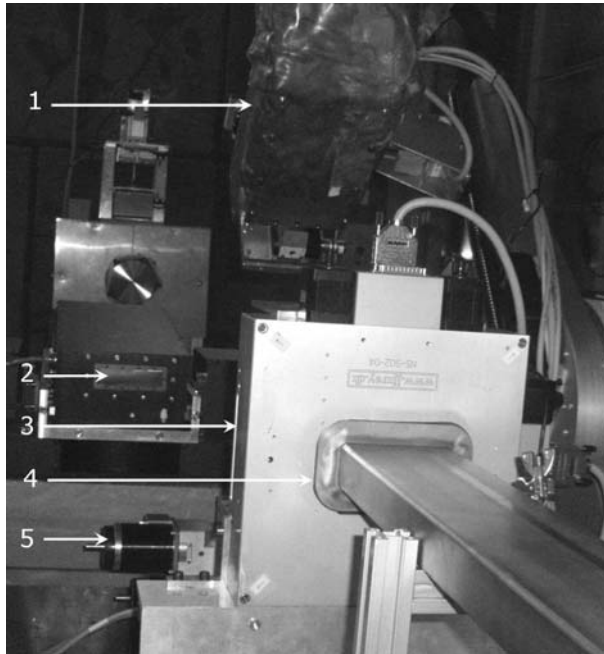


Abbildung 4.1 CAD-Model der Di und To Parts der Multifunktionsanlage DiTo [Hasse 2008].

## 4.2 Tomographiepart von DiTo

Die DiTo-Apparatur ist auf einer Hebebühne ca. 8 m entfernt vom Monochromator aufgebaut. Über diese Entfernung kann eine starke Interaktion der Photonen mit Luftmolekülen stattfinden, die mit einer Schwächung der Strahlungsintensität einhergeht. Viel kritischer als der Intensitätsverlust sind die Erhöhung der Streustrahlung sowie die Strahlenbelastung in der Messhütte. Sobald die Strahlenbelastung innerhalb der Messhütte einen kritischen Wert von  $50 \mu\text{Sv}/\text{h}$  überschreitet, wird der Strahl am Monochromator abgeschottet. Aus diesen Gründen wird der monochromatisierte Synchrotronstrahl bis zum Probenmanipulator über evakuierte Strahlrohre geleitet, welche zwischen dem Monochromator und der jeweiligen Messeinrichtung platziert sind. Das Spaltsystem sowie ein Teil des Vakuumrohrs sind in Abbildung 4.2 zu sehen.

Das Spaltsystem wird verwendet, um die Strahlgröße (Höhe und Breite) für die Messung zu definieren. Während der Strahlausschnitt für tomographische Messungen so hoch und breit wie möglich sein soll, ist der Strahlausschnitt für die Diffraktionsmessungen sehr fokussiert. Das Spaltsystem besteht aus vier beweglichen hochdichten Platten in einem Rahmen. Jede dieser Spaltbacken kann unabhängig bis zu einem maximalen Rechteckfenster von  $100 \text{ mm}$  in die Höhe und  $100 \text{ mm}$  in die Breite bewegt werden.



1. Diffraktionskamera hinter einer Bleiabschirmung
2.  $CdWO_4$ -Einkristall hinter einer Kapton<sup>®</sup>-Folie
3. Spaltsystem
4. Strahlrohr
5. Teil des Probenmanipulators

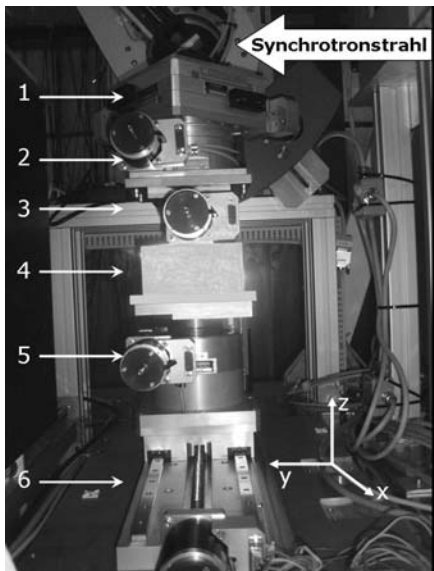
Abbildung 4.2 Die Multifunktionsapparatur DiTo aus der Strahlrichtung: Strahlrohr (4) und Spaltsystem (3) sind im Vordergrund zu sehen. Im Hintergrund sind Tomographie- (2) und Diffraktionsdetektor (1) sowie Teile des Probenmanipulators (5) erkennbar.

Bei einer Positronenenergie von 10 bis 25  $keV$  kann ein maximaler Strahlauschnitt von 20  $mm$  Breite und bis zu 2,5  $mm$  Höhe eingestellt werden. Die geringe Strahlhöhe ist die Folge von hoher Wärmelast auf den Monochromatorkristallen, die bei geringen Photonenenergien einen großen Anteil der Strahlung absorbieren. Dieser Umstand führt zu einer Erwärmung und damit zu einer Verformung bis hin zur Zerstörung der Kristalle. Dies ist bei höheren Energien nicht der Fall. Jedoch liegt der optimale Energiebereich für biologische Gewebeproben zwischen 5 und 25  $keV$ . Somit konnte lediglich ein maximaler Strahlauschnitt von 20 x 2,5  $mm$  für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Vermessungen von Weichgewebeobjekten eingestellt werden.

Nachdem der Synchrotronstrahl durch das Spaltsystem begrenzt worden ist, trifft er auf das zu untersuchende Objekt. Das Objekt, mit oder ohne Probenumgebung, kann mit Hilfe eines Probenmanipulators translatorisch in X-, Y-, und Z-Richtung sowie rotatorisch justiert werden. Die einzelnen Komponenten, die zur Positionierung eines Objektes – zum Beispiel eines Metallschmelzofens – verwendet werden, sind so ausgewählt, dass eine Last von 40 kg mit einer Verfah- und Wiederholgenauigkeit von 1  $\mu m$  [HUBER 2011] bewegt werden kann.

In Abbildung 4.3 ist der Probenmanipulator dargestellt. Die Spitze des Manipulators bildet in der Regel ein 2-Kreis-Segment (hier nicht montiert), mit dem eine

Verkipfung des Objektes ausgeglichen werden kann. Auf diese Weise kann die Schwerpunktschwerachse des Objektes senkrecht zum Strahl und parallel zur Rotationsachse positioniert werden.



1. X-Y-Tisch
2. Rotationsachse
3. 1-Kreis-Goniometer
4. Höhenadapter für kleine Objekte
5. Z-Tisch für die vertikale Bewegung der Probe  
(Verfahrbereich von 90 *mm*)
6. X-Tisch

Abbildung 4.3 Der Probenmanipulator mit den beschriebenen Komponenten ist für eine Belastung von 40 *kg* ausgelegt [Huber 2011].

Die zweite Verfahreinheit bildet ein X-Y-Tisch, welcher sich oberhalb der Rotationsachse befindet. Durch das Verfahren der translatorischen Achsen kann das Objekt in optimale Position parallel zur Rotationsachse gebracht werden.

Die Rotationsbewegung des Objektes wird über ein 1-Kreis-Goniometer mit einer Stellgenauigkeit von  $1,75 \cdot 10^{-5} \text{ rad}$  gewährleistet [Huber 2011].

In der Regel sind die zu untersuchenden Objekte vielfältig in ihrer geometrischen Struktur und müssen dementsprechend in vertikaler Richtung an die Strahlhöhe justiert werden. Weiterhin sind die Proben höher als 2,5 *mm*, so dass das Objekt in der Höhe verfahren werden muss, um Radiogramme in mehreren Schritten über einen größeren Bereich des Objektes aufnehmen zu können. Für die vertikale Justage und Positionierung wird ein Z-Tisch mit einem Verfahrbereich bis zu 90 *mm* eingesetzt.

Für ein Referenzbild muss das Objekt aus dem Primärstrahl entfernt werden, um die ungeschwächte Intensität der Strahlung aufnehmen zu können. Am DORIS-Ringbeschleuniger sinkt der Ringstrom in einem Zeitfenster von 5 Stunden von ca. 140 auf 90 *mA*, was dokumentiert und während der Rekonstruktion beachtet werden muss. In der Messprozedur werden deshalb in kurzen Abständen Referenz-

renzbilder aufgenommen. Das bedeutet, dass die Probe während einer Messung einige Hundert Mal translatorisch verfahren wird. Da ein Objektversatz um einige Pixel zu starken Bewegungsartefakten im Tomogramm führen kann, wie in Abschnitt 3.6.1 beschrieben, ist eine hohe Stellgenauigkeit des Linearschlittens wichtig. Dieser wurde im Rahmen der Aufbauphase auf seine Stellgenauigkeit mit Hilfe von Laserinterferometrie (Renishaw ML 10 „GOLD STANDARD“ [Renishaw 2001]) überprüft. Die Auswertung ergab, dass der Linearschlitten auf  $4,8 \mu\text{m}$  genau verfahren werden kann. Um dennoch eine räumlicher Auflösung  $\leq 2 \mu\text{m}$  zu erreichen, wird der im Detektorkopf platzierte Szintillationsschirm mit einer weiteren Verfahrereinheit so nah wie möglich an das Objekt gebracht.

Nachdem die Röntgenstrahlung das Objekt durchdrungen hat, kann die Schwächung mit Hilfe eines Szintillationsschirms in sichtbares Licht umgewandelt werden. Am Tomographiedetektor von DiTo wird ein Kadmiumwolframateinkristall ( $\text{CdWO}_4$ ) verwendet. Der Einkristall wurde aufgrund geringen Nachglühens, hoher Lichtausbeute von 5,26 % und einer hohen Bestrahlungsstabilität ausgewählt [Nagornaya 2002]. Der Einkristall hat eine Größe von  $70 \times 20 \times 1 \text{ mm}$  und ist am Detektorkopf senkrecht zum Primärstrahl zwischen der Probe und der Kamera eingebaut.

Trotz der Stabilität des Kristalls gegenüber Röntgenstrahlung kann eine chemische Reaktion der Röntgenphotonen mit Luft Oberflächendefekte verursachen, was wiederum die Lebensdauer des Kristalls beeinträchtigen kann [Donath 2006]. Um dem vorzubeugen, ist in dem Leuchtschirmhalter eine Heliumspülung installiert, so dass während der Messung eine Schutzatmosphäre um den Kristall aufgebaut werden kann.

Nach der Umwandlung der Röntgenphotonen in sichtbares Licht wird die Projektion in einer Doppelspiegelanordnung um  $20 \text{ mm}$  nach unten versetzt, wodurch sich der Weg des Lichts verlängert, bevor es in einem Objektiv fokussiert wird. Die Verlängerung des optischen Weges wirkt sich positiv auf den Bereich der möglichen optischen Vergrößerungen aus. Nach der Fokussierung trifft das Licht auf einen Oberflächenplanspiegel, welcher das Licht senkrecht zum Strahl durch einen optischen Schacht zum CCD-Chip der jeweiligen Kamera reflektiert. CCD-Sensoren sind lichtempfindliche elektronische Elemente. CCD steht für Charge Coupled Device [Holst 2007, S. 1]. Der Grund für diesen räumlichen Versatz der Objektive und der Kameras gegenüber dem Primärstrahl ist der Schutz der Objektive und der empfindlichen CCD-Chips vor gestreuten oder nicht transformierten Röntgenstrahlen. Dies ist in Abbildung 4.4 dargestellt.

Für die Einstellung der optischen Vergrößerungen werden die Distanzen zwischen dem Leuchtschirm und dem Objektiv sowie dem Objektiv und dem CCD-Chip genutzt. Hierbei werden drei Schneider Kreuznach Objektive mit den Brennweiten 60, 80 und 100 mm im sogenannten Retrofokus Modus eingesetzt [Schneider 2011]. Die kurzen Brennweiten ergeben sich aus den kurzen Distanzen zwischen dem Leuchtschirm und dem CCD-Chip. Sie ermöglichen einen Bereich optischer Vergrößerungen von 1,68 bis 7,9.

Die Kameraelektronik ist äußerst sensitiv gegenüber Röntgenstrahlung. Dies erfordert einen zusätzlichen Schutz vor nicht absorbierten oder gestreuten Röntgenphotonen. Hierfür sind die Kameras räumlich versetzt und es ist eine zusätzliche Bleiabschirmung zwischen den Kameras und der einfallenden Strahlung implementiert. Der gesamte optische Pfad sowie die Strahlabschirmung sind in Abbildung 4.4 dargestellt.

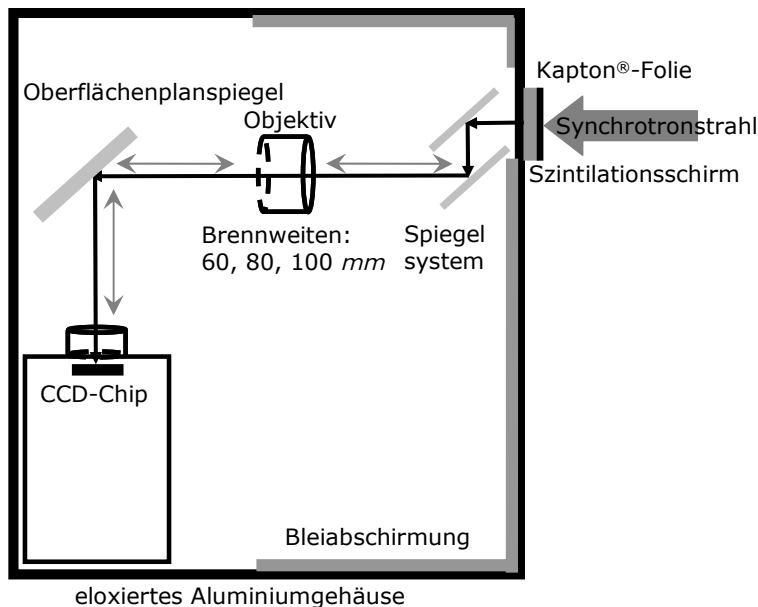


Abbildung 4.4 Skizze des optischen Pfades innerhalb der Tomographie – Detektorbox von DiTo. Die Abstände zwischen dem Leuchtschirm und dem Objektiv sowie dem Oberflächenplanspiegel und dem CCD-Chip werden zur Einstellung der gewünschten optischen Vergrößerung verwendet.

Zur Verhinderung des Einflusses von sichtbarem Licht aus der Umgebung auf die CCD-Chips beider Kameras ist eine Kapton®-Folie [Goodfellow 2011] auf dem Szintillationsschirm angebracht. Die 100  $\mu\text{m}$  dünne Kapton®-Folie ist transparent für Röntgenstrahlung, jedoch opak für sichtbares Licht. Darüber hinaus sind alle mechanischen Komponenten des optischen Pfades schwarz eloxiert, um Lichtreflexionen und damit einhergehende Beeinflussungen der Kameras zu vermeiden.

Die Besonderheit dieser  $\mu$ CT-Anlage ist das Detektorsystem, welches aus zwei unterschiedlichen CCD-Kameras von PCOimaging zusammengesetzt ist [PCO 2011].

Mit der Kamera PCO2000 ist es möglich, schnell Daten bei einer räumlichen Auflösung von  $40 \mu\text{m}$  zu erfassen. Im Rahmen der Inbetriebnahme der Anlage wurde mit dieser Kamera ein tomographischer Scan binnen 5,2 Sekunden erstellt [Waske 2010].

Die zweite Kamera PCO4000 ist mit einem  $36,6 \times 24,5 \text{ mm}$  großen CCD-Chip und einer Pixelanzahl von  $4008 \times 2672$  ausgestattet. Die Spezifikationen der beiden CCD-Kameras von PCOimaging [PCO 2011] sind in der folgenden Tabelle 4.1 aufgelistet.

Tabelle 4.1 Technische Details der CCD-Kameras, welche in DiTo für die tomographische Datenakquisition verwendet werden.

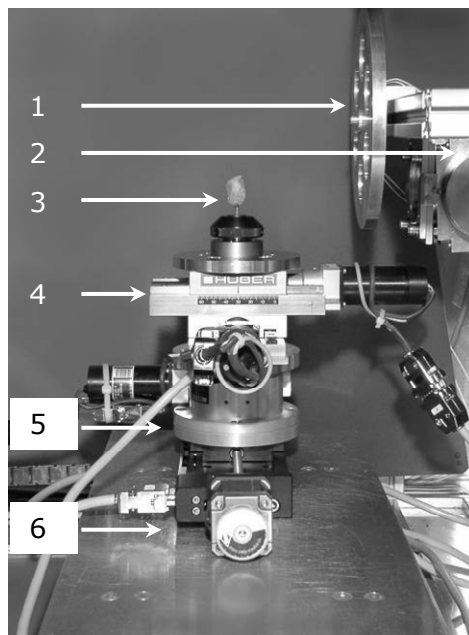
	<b>PCO4000 - hohe Auflösung</b>	<b>PCO2000 - hohe Auflösung und Aufnahmegeschwindigkeit</b>
<b>CCD-Chip-Größe</b>	36,6 x 24,5 mm	15,1 x 15,1 mm
<b>Pixelanzahl</b>	4008 x 2672	2048 x 2048
<b>Pixelgröße</b>	9,1 x 9,1 $\mu\text{m}$	7,37 x 7,37 $\mu\text{m}$
<b>Dynamikbereich</b>	14-Bit	14-Bit
<b>Geschwindigkeit</b>	5 fps	14,7 fps
<b>räumliche Auflösung</b>	6,4 $\mu\text{m}$	4,9 $\mu\text{m}$
<b>opt. Vergrößerung</b>	1,68 - 6,05	2,86 - 7,9
<b>Scan-Zeit</b>	2 - 4 h	2 - 3 h

Aktuell können mit PCO4000 und PCO2000 räumliche Auflösungen zwischen  $6,4$  und  $4,9 \mu\text{m}$  erreicht werden, allerdings können aufgrund des vergleichsweise großen CCD-Chips der PCO4000 bis zu  $20 \text{ mm}$  breite Objekte mit hoher räumlicher Auflösung von  $6,4 \mu\text{m}$  abgebildet werden. Die aktuell mit der PCO2000 erzielbare räumliche Auflösung von  $4,9 \mu\text{m}$  kann durch eine Erweiterung des Vergrößerungsbereiches auf bis zu  $1 \mu\text{m}$  verbessert werden.

### 4.3 LeTo – Low Energy Tomography

Die zweite Anlage befindet sich am Lehrstuhl für Magnetofluidynamik an der Technischen Universität Dresden [MFD 2011]. Diese Anlage basiert auf einer konventionellen Röntgenröhre. Die maximale Beschleunigungsspannung der polychromatischen Strahlungsquelle beträgt 50 kV bei einem maximalen Emissionsstrom vom 1 mA. Die kegelförmige Aufweitung des Röntgenstrahls kann dazu verwendet werden, um optische Vergrößerungen einzustellen. Mit der an LeTo verfügbaren geometrischen Anordnung sind optische Vergrößerungen von 1,3 bis 5 möglich. Die räumliche Auflösung beträgt zwischen 100 und 17  $\mu\text{m}$  [Brunke 2006]. Die Basischarakterisierung der verwendeten Tomographieanlagen wird im folgenden Kapitel 5 beschrieben.

Die Fotografie in Abbildung 4.5 zeigt rechts im Bild den Aluminiumfilter, welcher zur Reduktion der Strahlaufhärtung eingesetzt wird. Der in der Mitte abgebildete Probenmanipulator setzt sich aus einer Y-Translationsachse, einem Rotationstisch und einem X-Y-Tisch zusammen.



1. Aluminiumfilter
2. Röntgenröhre
3. Tumorprobe
4. X-Y-Tisch
5. Rotationstisch
6. Y-Tisch

Abbildung 4.5 LeTo – Low Energy Tomography. Von rechts nach links sind im Bild die Röntgenquelle (2), der Aluminiumfilter (1) zur Strahlaufhärtungsartefaktsreduktion und ein auf dem Probenmanipulator (4 bis 6) montierter, in Paraffin eingebetteter Tumor nach MDT (3) zu sehen.

An dieser Anlage wurden alle tomographischen Messungen dieser Arbeit sowie die Vorcharakterisierung der Proben für DiTo durchgeführt.



## 4.4 TomoTU

Im Laufe des Jahres 2008 ist am Lehrstuhl für Magnetofluidynamik der TU Dresden eine begehbare Tomographieanlage „TomoTU“ aufgebaut worden [MFD 2011]. Das Akronym TomoTU steht für Tomographie an der TU Dresden. Diese Anlage wurde speziell für die Voruntersuchungen für DiTo konzipiert. Die notwendigen, meist zeitaufwändigen Tests von Probenumgebungen können an TomoTU durchgeführt werden, um die zeitlich begrenzte Synchrotronmesszeit optimal nutzen zu können. Aus diesem Grund ist zum Beispiel die Probenmanipulatoreinheit mit exakt den gleichen Parametern installiert worden. Die schematische Draufsicht der begehbaren Apparatur ist in Abbildung 4.6 dargestellt.

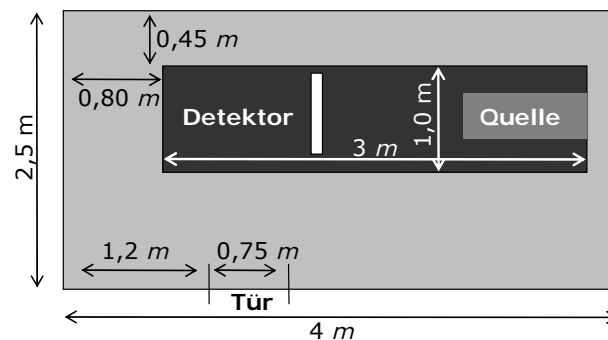


Abbildung 4.6 Prinzipskizze der TomoTU-Anlage. Der 3 Meter lange optische Tisch bietet ausreichend Raum für Erweiterungen, wie zum Beispiel Probenumgebungen (Schmelzofen, etc.).

TomoTU basiert auf einer Nanofokusröhre mit einer maximalen Beschleunigungsspannung von 160 kV und einem maximalen Emissionsstrom von 160  $\mu\text{A}$ . Die Nanofokusröhre kann in 4 verschiedenen Modi betrieben werden. Der Modus „0“ ist der leistungsstärkste Modus und kann für hochabsorbierende Objekte wie poröse Keramiken oder Metallschäume verwendet werden. Der Modus „3“ eignet sich gut für weiche biologische Gewebeproben und ermöglicht durch den 200 nm großen Fokuspunkt eine hohe Detailgenauigkeit. Die Übersicht zu den einzelnen Modi ist in Tabelle 4.2 dargestellt.

Tabelle 4.2 Parameter, die an der Nanofokusröhre der TomoTU-Anlage eingestellt werden können [Phoenix 2011].

Modus	0	1	2	3
Maximale Leistung [W]	15	2,7	1,1	0,7
Fokusgröße [ $\mu\text{m}$ ]	0,9	0,65	0,33	0,2



## 5 Basischarakterisierungen der verwendeten Apparaturen

Dieser Abschnitt beschäftigt sich mit der grundlegenden Charakterisierung der Tomographie-Apparaturen. Dabei wird insbesondere auf die Bestimmung der räumlichen Auflösung eines realen Abbildungssystems, die Linearität der verwendeten Detektoren sowie die Langzeitstabilität der Röntgenquellen eingegangen. Die beschriebenen Tests werden anhand der DiTo-Apparatur erläutert. Im Anschluss daran werden die Ergebnisse bezüglich der Eigenschaften der Tomographie-Anlagen LeTo und TomoTU tabellarisch zusammengefasst.

### 5.1 Bestimmung der räumlichen Auflösung von DiTo

Ein ideales optisches System bildet ein Untersuchungsobjekt mit allen darin vorkommenden Strukturen unter optimalen Kontrastverhältnissen ab. In einem realen System, zum Beispiel bestehend aus einem Szintillationsschirm, Oberflächenplanspiegel und einer CCD-Kamera, kann es im Absorptionsbild zu Kontrastverlusten mit zunehmender Feinheit der im Objekt beinhalteten Strukturen kommen. Die Kontrastauflösung einer Abbildung über die gesamte Abbildungskette kann mit Hilfe der Modulationstransferfunktion (MTF) ermittelt werden [Semei 1998]. Die MTF beschreibt den Kontrast in Abhängigkeit der Ortsfrequenz  $R$ , die in Linienpaaren pro Millimeter [ $Lp\ mm^{-1}$ ] angegeben wird. Eine MTF kann über die Abbildung einer scharfen Kante ermittelt werden. Eine scharfe Kante entspricht einer Sprungfunktion. Sie liefert eine Edge Spread Function (ESF). Die räumliche Ableitung einer Sprungfunktion ergibt eine Stoßfunktion, was wiederum einem Spalt, d.h. einer Line Spread Function (LSF) entspricht. Die FFT (Fast Fourier Transformation) der LSF ergibt die Modulationstransferfunktion MTF [Semei 1998].

Für die praktische Umsetzung ist eine Kalibrierkante aus Edelstahl mit rechtwinkligen und geschliffenen Oberflächen gefertigt worden. Es sind Absorptionsbilder bei einer Positronenenergie von 25 keV und Vergrößerungen von 5,58 und 6,05 erstellt worden. Die digitale Nachbearbeitung erfolgte mit der Software „ImageJ“ [ImageJ 2011].

Die Grenzfrequenz wurde für die Kamera PCO4000 bei 10 % Kontrast ermittelt. Die Frequenz von 26,41 Linienpaaren pro Millimeter bei einer optischen Vergrößerung von 6,05 entspricht einer räumlichen Auflösung von  $6,3 \mu m$ . Die Erweiterung des Bereiches der optischen Vergrößerung auf 15 bis 20 hätte eine räumliche Auflösung von  $2,6$  bis  $1,9 \mu m$  zur Folge. Hierbei ist die Chipgröße von  $36,6 \times 24,5 mm$  von großer Bedeutung. Dadurch können entweder vergleichbar große Objekte bis zu  $20 mm$  Breite mit einer räumlichen Auflösung von kleiner  $10 \mu m$  oder kleine Objekte bis  $5 mm$  Breite mit einer räumlichen Auflösung von kleiner  $4 \mu m$  abgebildet werden. Dieselbe MTF-Bestimmungsprozedur wurde für die PCO2000 durchgeführt. Hierbei wurde eine räumliche Auflösung von  $4,7 \mu m$  bei einer optischen Vergrößerung von 5,58 erreicht. Die entsprechenden MTF-Kurven sind in Abbildung 5.1 dargestellt.

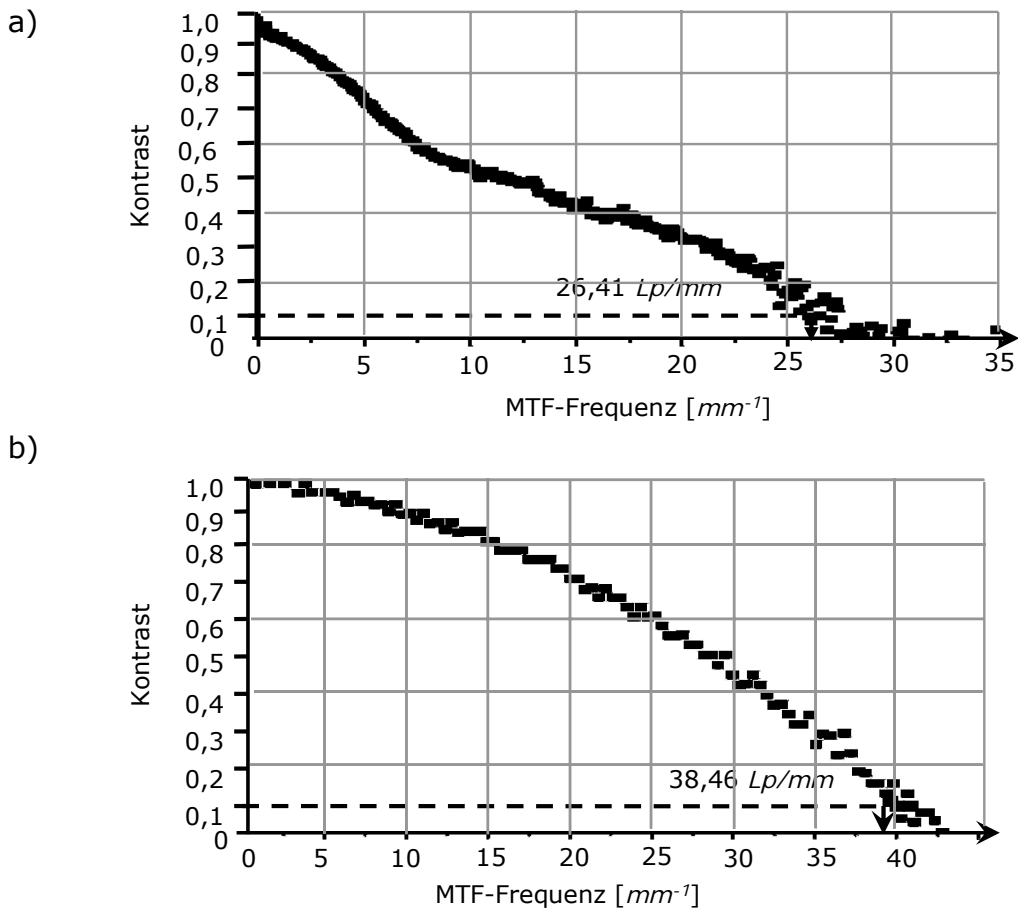


Abbildung 5.1 Gemessene Modulationstransferfunktionen für a) die Kamera PCO4000 und für b) die Kamera PCO2000.

### 5.1.1 Linearität des Detektorsystems

Die Linearität des CCD-Chips ist für korrektes Abbilden ebenso erforderlich wie die Langzeitstabilität der Röntgenquellen, die in Abschnitt 5.4 beschrieben wird. Der Linearitätstest wurde wie folgt durchgeführt. Bei einer gegebenen Intensität des Synchrotronstrahls wurden die Belichtungszeit stufenweise erhöht und die detektierte Helligkeitszunahme gespeichert.

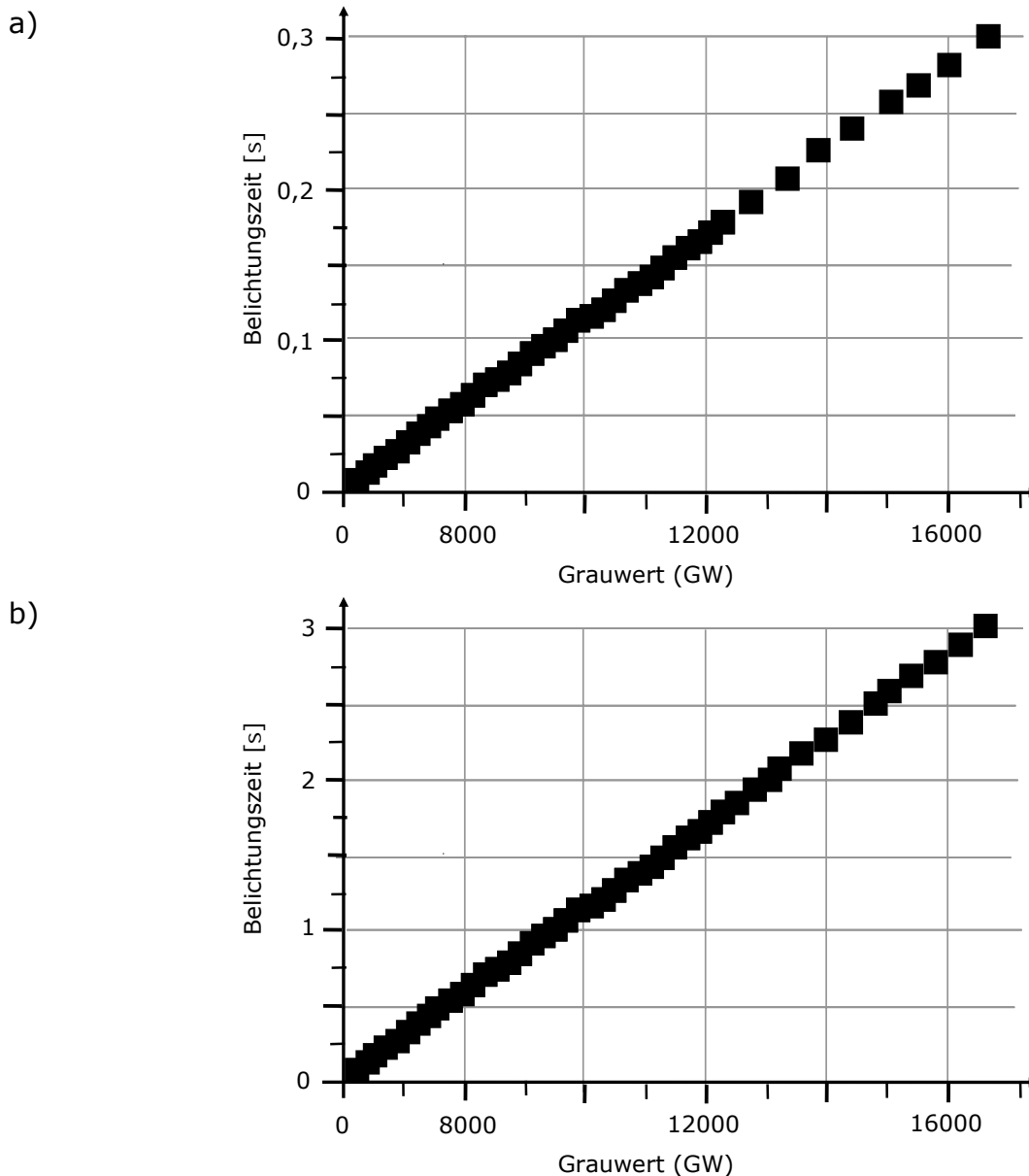


Abbildung 5.2 Linearitätsnachweise für den Zusammenhang zwischen Grauwert und Belichtungszeit für die Kameras a) PCO4000 und b) PCO2000.

Das Ergebnis soll eine lineare Zunahme des Grauwertes mit zunehmender Belichtungszeit sein. In Abbildung 5.2 sind die Linearitätsgeraden der beiden CCD-Kameras abgebildet.

Die Auswertung der Belichtungsreihe ergab, dass sowohl PCO4000 als auch PCO2000 über den gesamten Sensitivitätsbereich von 14-Bit verwendet werden können.

## 5.2 Räumliche Auflösung und Linearität von LeTo und TomoTU

### 5.2.1 Räumliche Auflösung

Die räumlichen Auflösungen der LeTo- und TomoTU-Anlagen werden in erster Linie durch den Quellpunkt des Röntgenstrahls und den verwendeten Detektor limitiert. Im Fall der Oxford-Röntgenröhre [Oxford 2010], die in LeTo verwendet wird, ist der Fokuspunkt  $40\ \mu\text{m}$  groß. Im Fall der in TomoTU installierten Nanofokusröhre kann je nach Modus ein Fokuspunkt von  $0,9$  bis  $0,2\ \mu\text{m}$  eingestellt werden [Phoenix 2011]. Tabelle 5.1 fasst die möglichen räumlichen Auflösungen dieser beiden Apparaturen zusammen.

Die geometrischen Einschränkungen ermöglichen bei LeTo eine maximale räumliche Auflösung von  $17\ \mu\text{m}$ . Trotz des Nachteils in Bezug auf die räumliche Auflösung im Vergleich zu DiTo und TomoTU liefert LeTo seit dem Jahr 2005 technisch zuverlässig reproduzierbare Tomogramme.

Die erreichbaren räumlichen Auflösungen bei TomoTU sind dank der Nanofokusröhre vergleichbar mit den räumlichen Auflösungen, die mit DiTo realisierbar sind. Es ist allerdings festzustellen, dass bei den Modi 2 und 3 eine scheinbare Verschlechterung der räumlichen Auflösung mit steigender optischer Vergrößerung einhergeht. Dies ist auf den vergleichsweise geringen Emissionsstrom und die folglich geringere Leistung zurückzuführen. Dadurch kann es zu erhöhtem Rauschen in den Absorptionbildern kommen. Die Grenzfrequenzen konnten daher nicht absolut genau bestimmt werden. Abhilfe kann eine Evakuierung des Strahlenganges schaffen, zum Beispiel mittels evakuierter Strahlrohre, wie sie bei DiTo verwendet werden (siehe Abschnitt 4.2).

Tabelle 5.1 Räumliche Auflösung der röhrenbasierten Tomographieranlagen LeTo und TomoTU.

opt. Vergrößerung	räumliche Auflösung [ $\mu\text{m}$ ]					
	LeTo		TomoTU			
		Modus	0	1	2	3
		Fokus- punkt	0,9 $\mu\text{m}$	0,7 $\mu\text{m}$	0,5 $\mu\text{m}$	0,2 $\mu\text{m}$
<b>1,3</b>	66		95,46	101,1	101,1	97,45
<b>2</b>	43		62,85	55,6	72,07	74,25
<b>3</b>	29		52,01	35,55	52,51	49,2
<b>4</b>	21		40,29	31,03	40,82	38,4
<b>5</b>	17		30,62	27,93	32,66	31,31
<b>5,97</b>			27,54	19,6	27,44	28,1
<b>8</b>			20,81	17,46	30,41	23,72
<b>10</b>			19,74	14,12	23,75	19,50
<b>12,12</b>			18,52	11,11	22,79	19,66
<b>13,79</b>			19,91	10,83	24,92	16,35
<b>16</b>			16,88	8,49	18,73	23,459
<b>18,18</b>			13,41	7,58	17,34	20,49
<b>20</b>			12,48	7,06	12,54	13,73

### 5.2.2 Linearität

Die Linearität des CCD-Chips in LeTo sowie des in TomoTU verwendeten Flatpanel-Detektors ist auf die gleiche Weise wie oben beschrieben untersucht worden. Allerdings wurde dies nicht nur für eine Energie sondern für unterschiedliche Beschleunigungsspannungen untersucht. Für LeTo ist die Linearitätsuntersuchung bei fünf Beschleunigungsspannungen zwischen 10 und 50 kV und einem Emissionsstrom von 1 mA durchgeführt worden.

Die entsprechenden Linearitätsgeraden für die CCD-Kamera dieser  $\mu\text{CT}$ -Apparatur sind in Abbildung 5.3 dargestellt. Der Flatpaneldetektor der TomoTU-Anlage ist bei sechs Beschleunigungsspannungen und den jeweiligen maximalen Emissionsströmen hinsichtlich seiner Linearität untersucht worden. Die ermittelten Linearitätskurven sind in Abbildung 5.4 dargestellt.

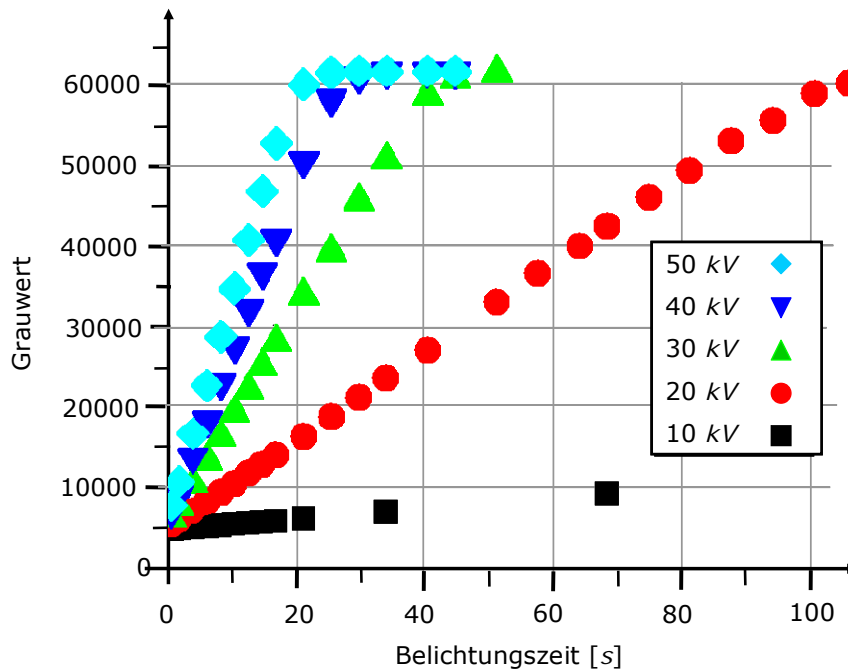


Abbildung 5.3 LeTo – Linearitätskurven für fünf Beschleunigungsspannungen.

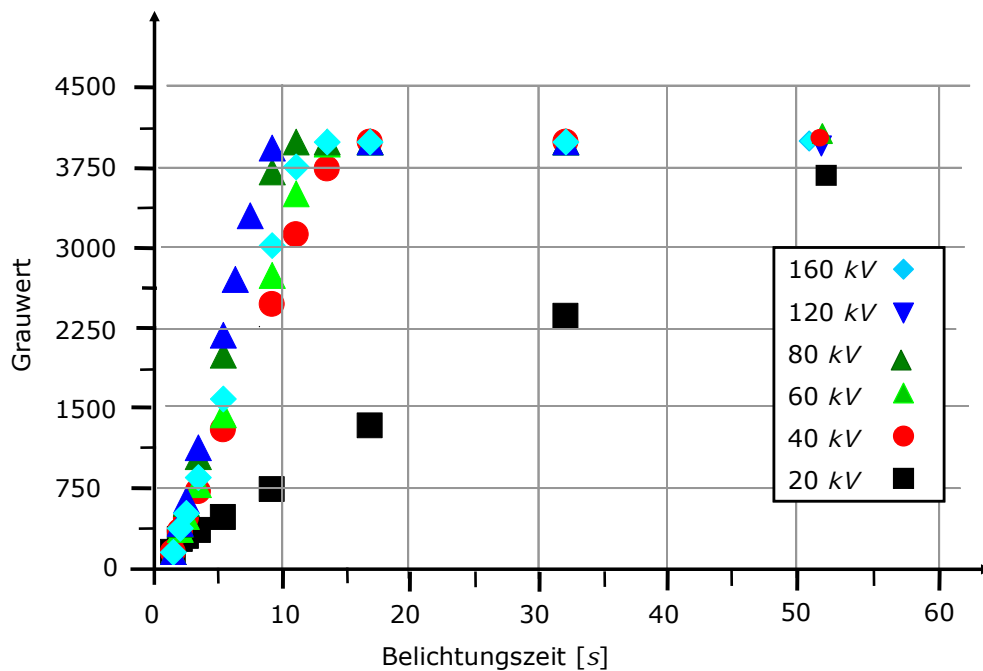


Abbildung 5.4 TomoTU – Linearitätsnachweis ist für den Flatpaneldetektor bei sechs Beschleunigungsspannungen aufgenommen worden.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, dass sowohl die CCD-Kamera als auch der Flatpanel-Detektor über den gesamten Sensitivitätsbereich von 12-Bit nutzbar sind.



## 5.3 Langzeitstabilität der Röntgenröhren von LeTo und TomoTU

Für den radiographischen Betrieb ist die Langzeitstabilität des Röntgenstrahls einer Röntgenquelle von großer Bedeutung. Dies gilt sowohl für die Vermessung von biologischen Gewebeproben als auch für die Kalibration und damit für die Semi-Quantifizierung der polychromatischen Datensätze. Aus diesem Grund werden in folgendem Abschnitt die beiden verwendeten Röntgenröhren hinsichtlich ihrer Langzeitstabilität untersucht.

### 5.3.1 LeTo

In der LeTo-Anlage wird eine Röntgenröhre von Oxford Instruments verwendet [Oxford 2010]. Sie kann mit einer maximalen Beschleunigungsspannung von 50 *kV* und einem Emissionsstrom von 1 *mA* betrieben werden. Die Wolframanode ist ein so genanntes Direktstrahltarget. Dieses zylindrische und massive Target kann etwa 10 bis 20 Mal mehr Leistung aufnehmen als ein Transmissionstarget.

Für die Untersuchung der Langzeitstabilität sind Langzeitaufnahmen von mehreren Stunden bei vier Beschleunigungsspannungen zwischen 20 und 50 *kV* unter Verwendung eines 0,5 *mm* starken Aluminiumfilters durchgeführt worden. Die prozentuale Abweichung für die Beschleunigungsspannung 50 *kV* (blaue Kurve in Abbildung 5.5) liegt unter einem Prozent. Für alle Beschleunigungsspannungen nehmen die Grauwertschwankungen nach ca. 2500 bis 3000 *s* ab. Diese Zeit benötigt der Haake-Thermostat, um die Röntgenröhre mittels Wasser von Raumtemperatur auf 285 *K* zu kühlen. Da aber die Justierung einer Probe, das heißt die Einstellung der optimalen Vergrößerung und Belichtungszeit, bis zu einer Stunde dauern kann, können die im Rahmen des Abkühlvorgangs auftretenden Grauwertschwankungen vernachlässigt werden. Die maximale Abweichung in den ersten 3000 *s* liegt für alle Beschleunigungsspannungen unter einem Prozent. Dies entspricht der vom Hersteller angegebenen Abweichung [Oxford 2010]. Die Auswertung der Langzeituntersuchung ist in Abbildung 5.5 dargestellt.

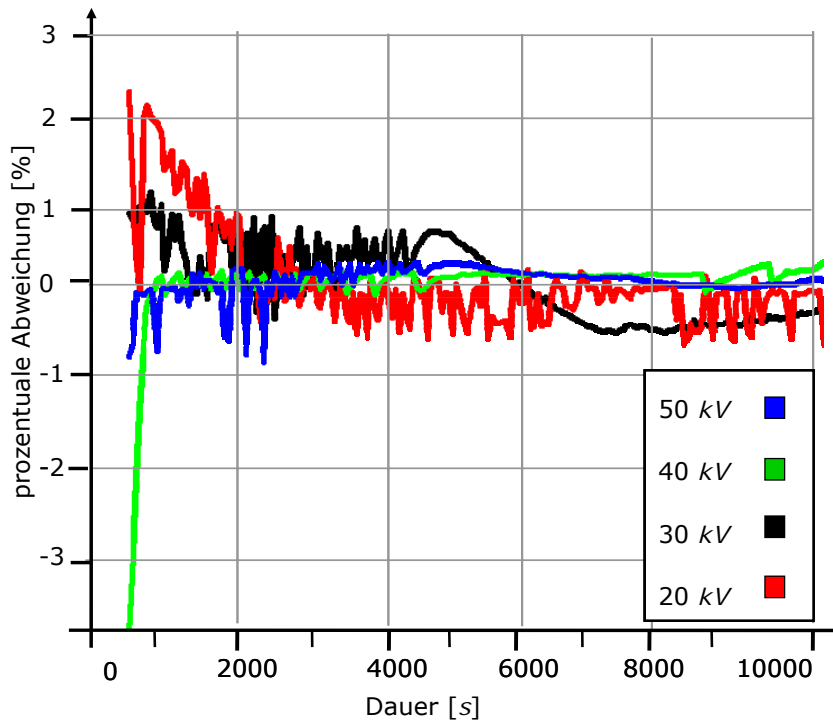


Abbildung 5.5 Langzeitstabilität der Röntgenquelle von LeTo über 4 Stunden.

### 5.3.2 TomoTU

Die Nanofokusröhre der TomoTU-Anlage ist ebenfalls mit oben beschriebener Verfahrensweise in Bezug auf die Langzeitstabilität untersucht worden. Es wurde festgestellt, dass in Abhängigkeit vom verwendeten Modus ein Intensitätsunterschied von bis zu 30 % über die Dauer von 60 Minuten auftritt. Diese Abweichung ist seitens des Herstellers bekannt. Aus diesem Grund müssen die Intensitätsschwankungen während der Radiogrammerstellung mitdetektiert werden. Die hierfür verwendete Methode ist folgende. Während jeder Messung wird in jedem Absorptionsbild ein Bereich ungeschwächter Strahlung aufgezeichnet. Die durch die Intensitätsschwankungen der Nanofokusröhre entstehenden Helligkeitsunterschiede werden in einem Zwischenschritt vor der Rekonstruktion korrigiert. Die Tabelle 5.2 fasst die Hauptcharakteristiken der Tomographieanlagen zusammen.

Im Rahmen dieser Arbeit sind zur Vermessung von biologischen Gewebeproben die Anlagen DiTo und LeTo verwendet worden. Aufgrund der geringen Messzeitdauer am Synchrotron ist LeTo sowohl zur Vorcharakterisierung für DiTo als auch für die Serienvermessungen von biologischen Gewebeproben verwendet worden. Die begehbare Apparatur TomoTU ist konzipiert und aufgebaut worden, um ein größeres Objektspektrum für DiTo vorcharakterisieren zu können. Dies gelingt vor allem durch die Nanofokusröhre, die sowohl eine höhere Beschleunigungs-

spannung als auch einen feineren Quellfokus bietet. Im Ausblick in Kapitel 8 werden einige potentielle Messmethoden vorgestellt, für die TomoTU geeignet ist.

Tabelle 5.2 Übersicht über die verfügbaren Tomographieanlagen, die im Rahmen dieser Arbeit aufgebaut und verwendet wurden.

	<b>DiTo (DESY)</b>	<b>LeTo (Dresden)</b>	<b>TomoTU (Dresden)</b>
<b>Quelle</b>	Synchrotron	Röntgenröhre mit Direktstrahltarget	Nanofokusröhre mit Transmis- sionstarget
<b>Energiespektrum</b>	monochromatisch	polychromatisch	polychromatisch
<b>Energiebereich</b>	20 - 200 keV		
<b>Beschleunigungsspan- nung</b>		1 - 50 kV	1 - 160 kV
<b>Strahlgeometrie</b>	parallel	Kegel	Kegel
<b>max. räumliche Auflösung [opt. Vergrößerung]</b>	4,9 $\mu m$ [7,5]	17 $\mu m$ [5]	7,06 $\mu m$ [20]
<b>max. Vergrößerung</b>	7,5	5	~50
<b>max. Detektionsfenster</b>	~ 2,5 x 20 mm	~ 90 x 90 mm	~ 90 x 90 mm
<b>Verfügbarkeit</b>	limitiert (einige Shifts á 8 h/Jahr)	2000 h/Jahr	2000 h/Jahr



## 6 Ergebnisse, Auswertung und Interpretation

Das Ziel der  $\mu$ CT-Untersuchung in dieser Arbeit ist es, herauszufinden, wie  $Fe_3O_4$ -Nanopartikel im biologischen Gewebe verteilt sind. In den folgenden beiden Abschnitten werden zwei Beispiele von biologischen Gewebeproben vorgestellt. Die Untersuchungsobjekte sind zum einen Tumorproben nach magnetischem Drug Targeting und zum anderen Rinderarteriensegmente aus einem ex-vivo Experiment zum magnetischen Drug Targeting. Bevor Ergebnisse tomographischer Untersuchungen diskutiert werden, wird kurz auf die Präparation dieser Proben eingegangen.

### 6.1 Tumorproben

Die oben beschriebene minimal-invasive Krebstherapie, das magnetische Drug Targeting, ist zurzeit in der Tierversuchsphase. Das bedeutet, dass ein Medikament mittels magnetischer Nanopartikel in Tumoren von Versuchstieren akkumuliert wird. Alexiou et al. verwenden als Versuchstiere weibliche New Zealand White Kaninchen, an denen Tumore gezüchtet werden. Für die Tumorzucht werden subkutan Gewebestücke eines äußerst aggressiven experimentellen VX-2-Tumors an die Hinterläufe der Kaninchen implantiert. Etwa 4 bis 6 Wochen nach der Implantation können die Tumore bis zu einem Volumen von  $60 \text{ mm}^3$  wachsen [Alexiou 2000].

Der in Abbildung 6.1 abgebildete Tumor ist mit magnetischem Drug Targeting behandelt worden. Dabei wurde das Chemotherapeutikum Mitoxantron an die magnetischen Nanopartikel gekoppelt und danach in die Versorgungsarterie des Tumors injiziert. Durch einen starken Magnetfeldgradienten von  $72 \text{ T/m}$  wurden die magnetischen Nanopartikel in die Tumorregion geleitet und dort für 1,5 Stunden fixiert. Für die Behandlung wurde ein Milliliter eines Ferrofluids verwendet. Die Konzentration der Nanopartikel betrug  $24,46 \text{ mg/ml}$  und die des Chemotherapeutikums  $0,8 \text{ mg/ml}$ .

Nach der Applikation von MDT wurden das Kaninchen getötet und der Tumor entnommen. Das biologische Gewebe wurde mit Formalin fixiert und in Paraffin eingegossen.

Wie bereits in Abschnitt 2.5.1 beschrieben, ist eine der Voraussetzungen für den Erfolg der lokalen Krebsbekämpfungsmethode MDT die homogene Verteilung der magnetischen Nanopartikel, welche mit dem Medikament angereichert sind.

Um diese Verteilung zu untersuchen, ist die Tumorprobe mit DiTo tomographiert worden. Aufgrund der Messzeit, die hierfür zur Verfügung stand, wurde eine 16 mm breite und 1,4 mm hohe Schicht vermessen. Der Tumor sowie der Messbereich sind in Abbildung 6.1 dargestellt. Der Datensatz wurde wie in Abschnitt 3.4 erläutert rekonstruiert und anschließend mit Werkzeugen der digitalen Bildverarbeitung analysiert.

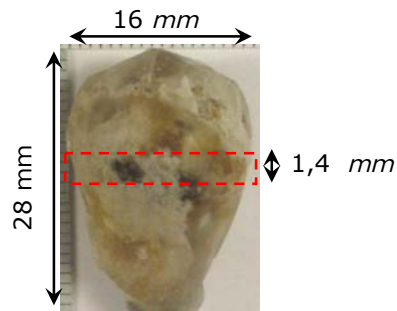


Abbildung 6.1 Optische Fotografie der Probe mit markiertem Messbereich, der an DiTo vermessen wurde.

Wie bereits in Abschnitt 3.4 über das Messprinzip beschrieben, basiert die tomographische Analyse mit Röntgenstrahlung auf Detektion von unterschiedlicher Schwächung des Röntgenstrahls. Die Tumorprobe ist hauptsächlich aus drei Materialien zusammengesetzt: biologisches Gewebe, Paraffin und Eisenoxidpartikel. Dabei kann das Gewebe eine Komposition aus Materialien verschiedener Dichten sein, zum Beispiel Venen und Epithelgewebe.

Die Informationen eines tomographierten Objektes sind in den Bilddaten enthalten und können unter anderem als Histogramm wiedergegeben werden. Im Histogramm, welches in Abbildung 6.2 dargestellt ist, wird die Anzahl der Voxel zu jeder Graustufe aufgetragen. Die verschiedenen Graustufen repräsentieren unterschiedliche Materialdichten und damit die verschiedenen, in der Probe enthaltenen Materialien. Um die unterschiedlichen Komponenten der Probe qualitativ voneinander zu trennen, wurden die Kurven nach Gauß gefittet sowie ihre Überschneidungspunkte ermittelt. Die Überschneidungspunkte bilden die Grenzen zwischen den Materialien und werden als Schwellwert bezeichnet.

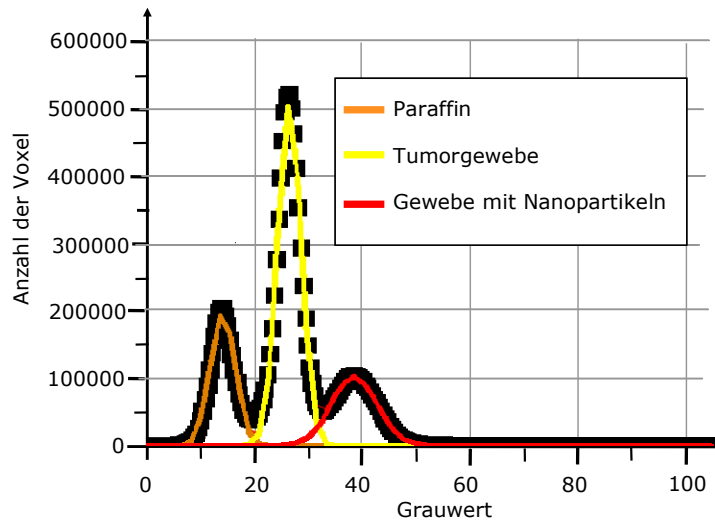


Abbildung 6.2 Histogramm des mit DiTo tomographierten Tumorausschnitts, welcher in Abbildung 6.1 schematisch dargestellt ist.

Auf diese Weise konnten im oben gezeigten Histogramm drei Hauptkomponenten der Tumorprobe bestimmt werden: die orange eingefärbte Kurve repräsentiert das Paraffin, die gelbe Kurve stellt Tumorgewebe dar und die Fläche unter der roten Kurve repräsentiert die höchste Dichte in der Probe, die dem Tumorgewebe mit hoher Konzentration an Magnetitnanopartikeln entspricht. Zur 3-dimensionalen Darstellung des tomographischen Datensatzes wurde die Software VGStudio-Max [Volume 2009] verwendet. Mit diesem Programm können unter anderem die entsprechenden Graustufen nach der Schwellwertbestimmung in unterschiedlichen Farben repräsentiert werden. In Abbildung 6.3 ist die gerenderte Darstellung des Tumorschnitts dargestellt.

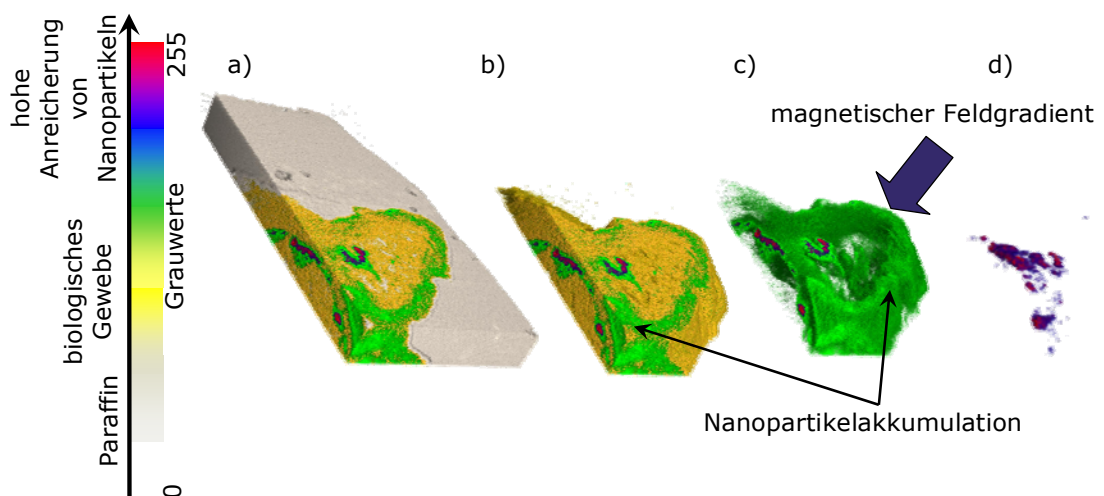


Abbildung 6.3 Gerenderte Darstellung des mit DiTo vermessenen Tumorschnitts [Rahn 2009a].

In der Skala auf der linken Seite der Abbildung 6.3 ist der gradierte Verlauf der unterschiedlichen Dichten in der Probe dargestellt. Dabei beginnt die Skala bei beige, was die entsprechenden Graustufen für das umliegende Paraffin repräsentiert, und endet bei rot, was die höchste Dichte in der Probe darstellt. Die gelben Areale stellen das Tumorgewebe dar.

Beim Betrachten der blau-roten Zone ist zu erkennen, dass diese im 3-dimensionalen Raum eine tubusähnliche Form hat. Durch die Vorbereitung der Tumorprobe sowie aus früheren Untersuchungen kann daraus geschlossen werden, dass diese Bereiche die Venen und Arterien des Tumors darstellen. Diese weisen eine hohe Konzentration an Nanopartikeln auf. Weiterhin ist eine Anreicherung des magnetischen Materials in den Randbereichen der Venen erkennbar sowie auf der rechten, der magnetzugewandten Seite. Dies ist durch die Farbe grün in Abbildung 6.3 hervorgehoben. Dies erlaubt Rückschlüsse auf die magnetfeldunterstützte Anreicherung des Medikaments, welches an die Nanopartikel gekoppelt ist [Rahn 2009a].

Mittels der oben beschriebenen Schwellwertbildung können ebenfalls die relativen Volumina der einzelnen Objektkomponenten ermittelt werden. Dazu wurden im entsprechenden Histogramm die Schwellwerte gebildet. Anschließend sind diese Schwellwerte auf den 3-dimensionalen Bilderstack übertragen worden. Mit Hilfe eines ImageJ Plugins [ImageJ 2011] sind die jeweiligen Voxelvolumina ausgezählt worden. Die Auszählung der Objektkomponenten ergab, dass das Paraffin ca. 48 % der Probe beträgt, der Gewebeanteil 18 % und der Anteil mit Nanopartikelanreicherung im Gewebe 0,3 %. Die in der Probe enthaltenen Kavitäten sowie die umgebende Luft werden als Rauschen bezeichnet. Sie stellen in der vorliegenden Probe ca. 34 % des Volumenanteils dar. Wird nun das Volumen der Nanopartikel im Gewebe auf das Volumen des Tumorgewebes bezogen, kann festgestellt werden, dass 1,77 % des Gewebes in diesem Tumorsegment mit magnetischem Material angereichert sind. Diese, in Tabelle 5.1 aufgelisteten, quantitativen prozentualen Angaben sind nur möglich, da der Synchrotronstrahl monoenergetisch ist.

Tabelle 6.1 Relative Volumina der Komponenten der am Synchrotron vermessenen Tumorprobe.

	<b>relatives Volumen</b>	<b>Volumen im Gewebe</b>
<b>Rauschen</b>	33,67 %	
<b>Paraffin</b>	47,97 %	
<b>Gewebe</b>	18,04 %	
<b>Gewebe mit Nanopartikeln</b>	0,32 %	1,77 %



Die uneingeschränkte Verfügbarkeit der Laboranlage LeTo ermöglichte die vollständige Messung der gleichen Tumorprobe. Die Gewebeprobe wurde mit einer Beschleunigungsspannung von 40 kV bei einer optischen Vergrößerung von 3,4 und einem Binning von 2 tomographiert. Der rekonstruierte Datensatz wurde ebenfalls mit oben genannten Werkzeugen digitaler Bildverarbeitung untersucht.

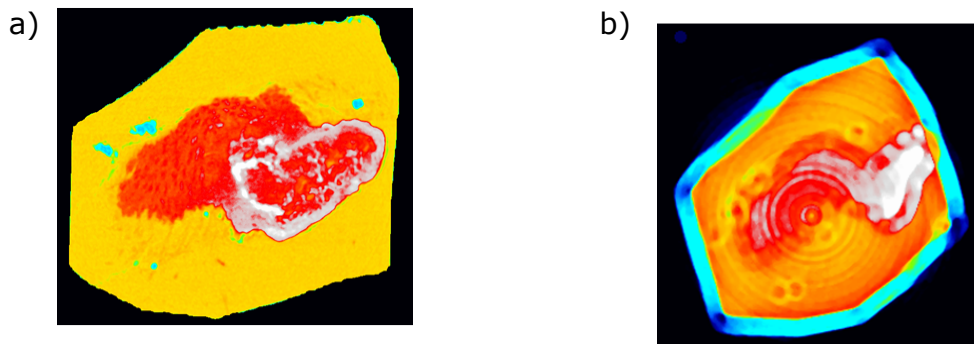


Abbildung 6.4 Draufsicht auf die Tumorschicht. a) Draufsicht auf einen Schnitt des Tumors, der mit monochromatischer Synchrotronstrahlung am DESY mittels DiTo vermessen wurde. b) Draufsicht auf einen Schnitt des gleichen Tumors, der mit der polychromatischen Tomographieanlage LeTo vermessen wurde [Rahn 2009b].

Abbildung 6.4 zeigt die Gegenüberstellung der Draufsicht der an DiTo und am LeTo vermessenen tomographischen Schicht. Im polychromatischen Datensatz ist das Strahlaufhärteartefakt als cyanfarbener Rand um die Probe deutlich erkennbar. Ein weiterer wesentlicher Nachteil der Polychromasie für die Auswertung ist das in Abbildung 6.5 dargestellte Überlappen der verschiedenen Gaußkurven. Dieses macht eine scharfe Trennung der Materialien durch die zuvor beschriebene Schwellwertbildung unmöglich.

Nichtsdestotrotz wurde versucht den Schwellwert qualitativ zu bilden. Nachfolgend wurden die Materialtrennung durchgeführt und die relativen Volumina der Probe ausgezählt. Dazu wurde aus dem polychromatischen Datensatz die dem monochromatischen Datensatz entsprechende Tumorschicht ausgewählt. Im Anschluss daran wurden die Daten miteinander verglichen.

Das Ergebnis der Schwellwertberechnung für die relativen Volumina mit polychromatischer Strahlung ist in Tabelle 6.2 aufgelistet.

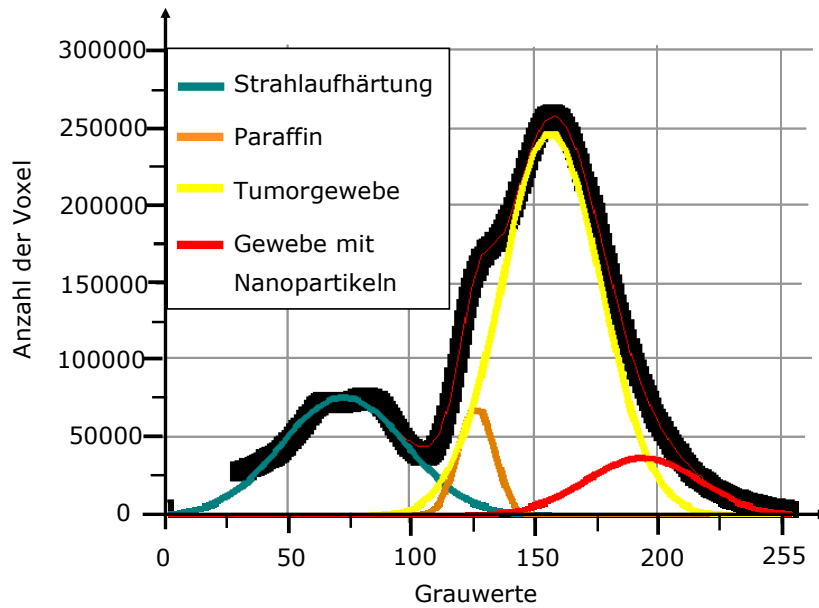


Abbildung 6.5 Histogramm des mit LeTo tomographierten Tumors [Rahn 2009b].

Tabelle 6.2 Relative Volumina des mit polychromatischer Strahlung gemessenen Tumors [Rahn 2009b].

	relatives Volumen	Volumen im Gewebe
<b>Rauschen</b>	45,64 %	
<b>Paraffin</b>	15,05 %	
<b>Gewebe</b>	32,8 %	
<b>Gewebe mit Nanopartikeln</b>	6,51 %	19,85 %

Beim direkten Vergleich zwischen Abbildung 6.4a) und Abbildung 6.4b) sowie Tabelle 6.1 und Tabelle 6.2 wird deutlich, dass die Qualität der Datensätze bezüglich der Detailwiedergabe und ihre relativen Volumina sehr stark voneinander abweicht. Diese Unterschiede sind hauptsächlich durch die geringere Dichteauflösung, bedingt durch sehr ähnliche Objektdichten, und die Polychromasie entstanden. Die Auswertung kann aufgrund dieser Messfehler in diesem Fall ausschließlich qualitativ vorgenommen werden [Rahn 2009b].

Die Abbildung 6.6 gibt sowohl eine fotografische Aufnahme des Tumors als auch seine 3-dimensionale Repräsentation wieder.

Folgende Farbgebung ist für diesen Datensatz gewählt worden: orange entspricht dem Bereich der Graustufenverteilung, der am ehesten dem Paraffin zuzuordnen ist, gelb dem Tumorgewebe und rot der höchsten Dichte in der Probe – d.h. dem am stärksten mit magnetischen Nanopartikeln angereicherten Gewebe. Diese qualitative Auswertung des tomographischen Datensatzes ermöglicht die

Schlussfolgerung, dass die magnetischen Nanopartikel mittels MDT großflächig im Tumor angereichert werden konnten und dass sie sich in zwei größeren Bereichen der Tumorprobe konzentrieren.

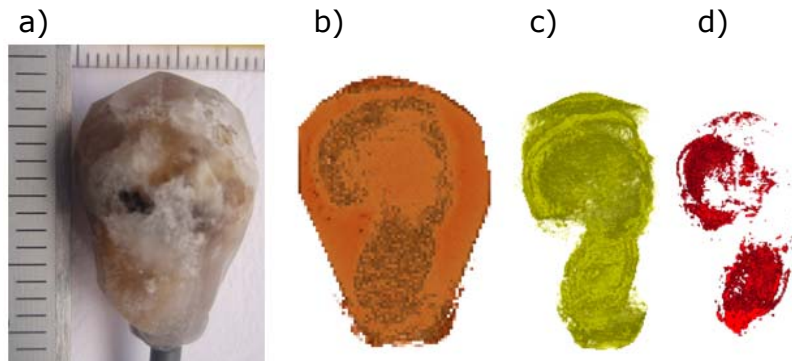


Abbildung 6.6 Tumor nach magnetischem Drug Targeting. a) Optische Fotografie des Tumors in Paraffin, b) orange eingefärbte Graustufen, die das Paraffin darstellen, c) gelb markierte Graustufen, die das Tumorgewebe repräsentieren, d) rote Areale stellen die höchste Dichte in der Probe dar – die magnetischen Nanopartikel im Tumorgewebe.

Um die polychromatischen Datensätze ebenfalls semi-quantitativ auszuwerten, wurde ein spezielles Phantomsystem entwickelt. Die Phantomentwicklung sowie die darauf basierende Auswertung werden in Kapitel 7 beschrieben. Im anschließenden Abschnitt 6.2 werden weitere biologische Proben vorgestellt, die im Rahmen der Arbeit untersucht wurden.

## 6.2 Arterien

Ein Ziel der lokalen Therapie mittels magnetischem Drug Targeting ist eine magnetisch unterstützte Anreicherung des Medikaments in der Tumorregion, ohne die Tumorregion zu verletzen. Daher kommt es bei diesem Verfahren nicht nur auf die homogene Verteilung der Nanopartikel in der Zielregion, sondern ebenfalls auf den Weg der Partikel von der Kanüle über die Versorgungsarterie in die Zielregion an.

Die Wechselwirkungen zwischen magnetischen Nanopartikeln und der physiologischen Umgebung sowie das Strömungsverhalten der magnetischen Flüssigkeit beim magnetischen Drug Targeting sind nach dem heutigen Stand der Forschung weitgehend unverstanden. Aus diesem Grund werden derzeit Untersuchungen der magnetischen Beeinflussbarkeit des Strömungsverhaltens der magnetischen Nanopartikel durchgeführt. Während Gitter et al. die Strömungsphänomene in einem Modellsystem, bestehend aus einfach verzweigten Glasröhrchen, untersu-

chen [Gitter 2010], beschäftigt sich die Gruppe um Alexiou mit der Beobachtung der Ferrofluidströmung und ihrer Beeinflussung im physiologischen Medium und in einer pathologischen, vaskulären Umgebung [Seliger 2007, Tietze 2011].

Für dieses ex-vivo Arterienmodell wurden mehrere Rinderarterien, bezogen von einem Schlachthof, aus dem Muskelgewebe herauspräpariert. Die Abgänge wurden abgebunden und in eine Strömungstrecke montiert. Die jeweilige Arterie wurde mit einer pulsierenden Strömung mit Krebs-Ringer / phosphatgepufferter Salzlösung (PBS: 0,114 M NaCl, 3 mM KCl, 2,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,8 mM MgSO<sub>4</sub>, 24 mM NaHCO<sub>3</sub>, 1 g/l Glucose, 6,25 g Albumin, Sigma, Deutschland) um- und durchspült. Ein externer Elektromagnet wurde oberhalb der Strömungstrecke so platziert, dass die Polschuhspitze oberhalb der Arterienmitte lag. Der Elektromagnet erzeugt über den Abstand zur Arterienmitte einen Magnetfeldgradienten von 10 bis 15 kA/m [Tietze 2011].

Für diese ex-vivo Versuche zur magnetischen Rückhaltung wird in die Strömung eine definierte Menge an biokompatiblen Ferrofluid injiziert und anschließend mit dem generierten Magnetfeldgradienten beeinflusst. Das Prinzip ist in Abbildung 6.7 schematisch dargestellt.

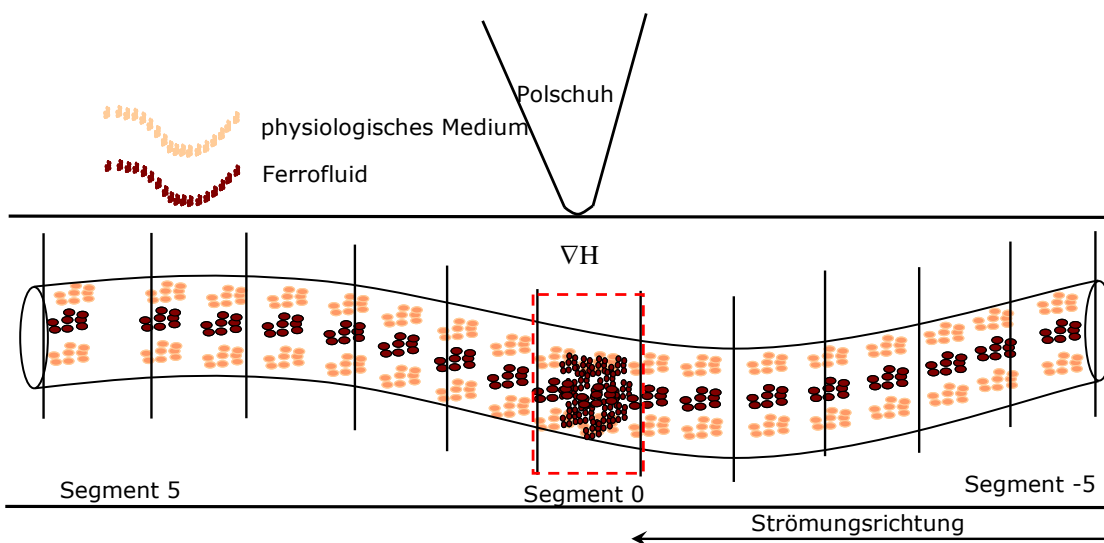


Abbildung 6.7 Prinzip des ex-vivo Experiments zum magnetischen Drug Targeting [Tietze 2011].

Nach dem Abschluss des magnetischen Targetings wird die umspülte Arterie aus dem Strömungszylinder entnommen, in Segmente unterteilt und in Paraffin eingebettet. Die Arterienstücke werden wie folgt nummeriert: -5 für das Eintrittssegment, 0 für die Mitte und damit den Ort stärkster Magnetfeldwirkung sowie 5 für das letzte Segment [Tietze 2011].

Die Biodistribution der Eisenoxidnanopartikel wurde mittels Röntgenmikrotomographie untersucht. Dazu sind sowohl die polychromatische Tomographieanlage LeTo als auch die monochromatische Anlage DiTo verwendet worden. Die Messungen an der Synchrotrontomographieanlage wurden aufgrund der begrenzten Messzeit an einigen ausgewählten Arteriensegmenten durchgeführt. Die Rahmenbedingungen für Messung, Rekonstruktion und digitale Analyse wurden innerhalb der Messreihen am Synchrotron sowie an der Laboranlage LeTo für alle Proben identisch gewählt, um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

Vor dem Tomographieren der Arteriensegmente fand eine Vermessung mittels Magnetorelaxometrie statt. Diese Messtechnik wurde in Abschnitt 2.3 beschrieben und ist äußerst sensibel. Mittels MRX können Eisenoxidpartikel bis zu wenigen hundert Nanogramm, bezogen auf eine Referenzprobe, detektiert werden. Allerdings liegt die räumliche Auflösung im Bereich einiger Zentimeter, was einer der Gründe für die Segmentierung der Arterien war [Richter 2009].

Von einigen Arteriensegmenten wurden histologische Schnitte angefertigt. Anschließend wurden diese mittels Berliner-Blau-Färbung, in der Medizin und Zellbiologie eine gängige Methode zum Eisennachweis [Burck 1998], eingefärbt und mit Elektronenmikroskopie untersucht. Abbildung 6.8 zeigt sowohl Repräsentationen histologischer Schnitte sowie tomographischer Schnitte eines Arteriensegments. Es handelt sich dabei sowohl um polychromatische als auch monochromatische tomographische Schnitte.

Im Rahmen der Auswertung wurden die tomographischen Datensätze mit Hilfe von Werkzeugen der digitalen Bildverarbeitung qualitativ betrachtet. Die Segmentierung des Histogramms erfolgte wie in Abschnitt 6.2 und in [Rahn 2009b] beschrieben. Die Farbzuzuweisung in den tomographischen Repräsentationen erfolgte gemäß der Farbgebung in Arteriensegmenten nach der Berliner-Blau-Färbung: rosa entspricht dem biologischen Gewebe und blau entspricht dem Eisenoxid.

Aufgrund der nominell höheren räumlichen Auflösung von histologischen Schnitten kann die Nanopartikelanreicherung in den Wänden des Lumens präziser detektiert werden. Darüber hinaus konnte eine Anlagerung in der Endothelbarriere visualisiert werden. Jedoch sind die histologischen Schnitte 2-dimensional, daher ist es von großem Vorteil, die Histologie und die Mikrotomographie komplementär zu nutzen und aufgrund der 3-dimensionalen tomographischen Ergebnisse die histologische Segmentierung vorzunehmen. Die durchgeführten komplementären Untersuchungen mit Mikrotomographie und Histologie bestätigen die Verteilung magnetischer Nanopartikel innerhalb der Querschnitte (Abbildung 6.8a) bis i)).

Wie oben erwähnt, sind einige ausgewählte Arteriensegmente am Synchrotron vermessen worden. Bei dem Vergleich von Abbildung 6.8d), e), f) mit Abbildung 6.8g), h) und i) kann festgestellt werden, dass die polychromatischen Daten d) bis f) nicht nur eine geringere räumliche Auflösung haben, sondern zusätzlich eine geringere Dichteauflösung, was durch die Polychromasie bedingt ist.

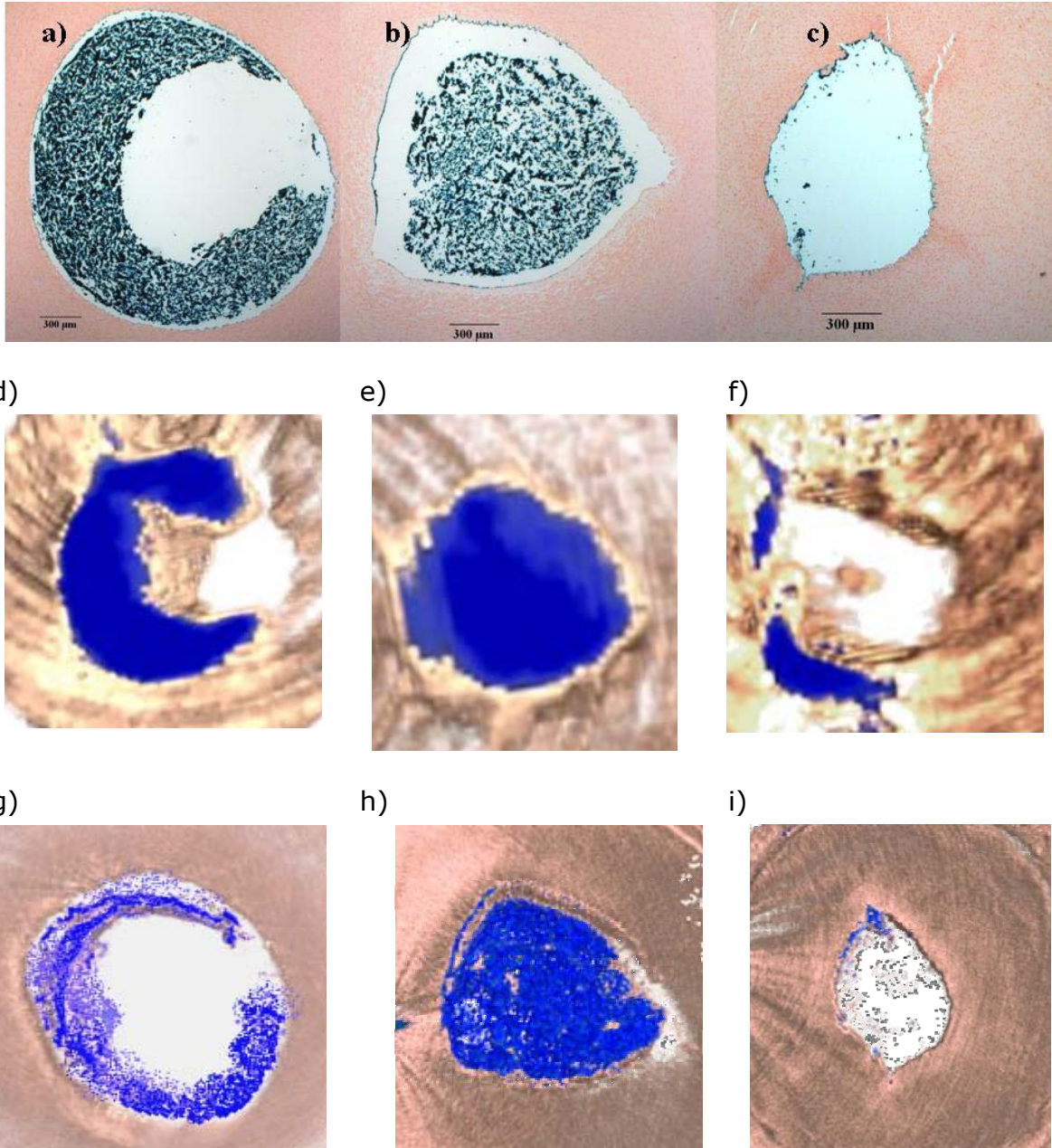


Abbildung 6.8 a), b), c) Histologische Schnitte aus unterschiedlichen Höhen eines Arteriensegments. d), e), f) Entsprechende  $\mu$ CT-Schnitte, vermessen mit der polychromatischen Tomographieanlage. g), h), i) Entsprechende monochromatische  $\mu$ CT-Schnitte, vermessen mit der Synchrotronkamera [Tietze 2011].

Mittels Mikrotomographie basierend auf polychromatischer Röntgenstrahlung kann trotz oben dargestellter Nachteile ein räumlicher Eindruck der Nanopartikelverteilung gewonnen werden. Die Abbildung 6.9 verdeutlicht die Akkumulation der magnetischen Nanopartikel im Endothelgewebe über das gesamte Arteriensegment ebenso wie ihre starke Anreicherung in kleineren Abzweigungen der Arterie. Das zeigt, dass sich die Nanopartikel aus strömungsmechanischen Gründen bevorzugt in den Abzweigungen ansammeln [Tietze 2011].

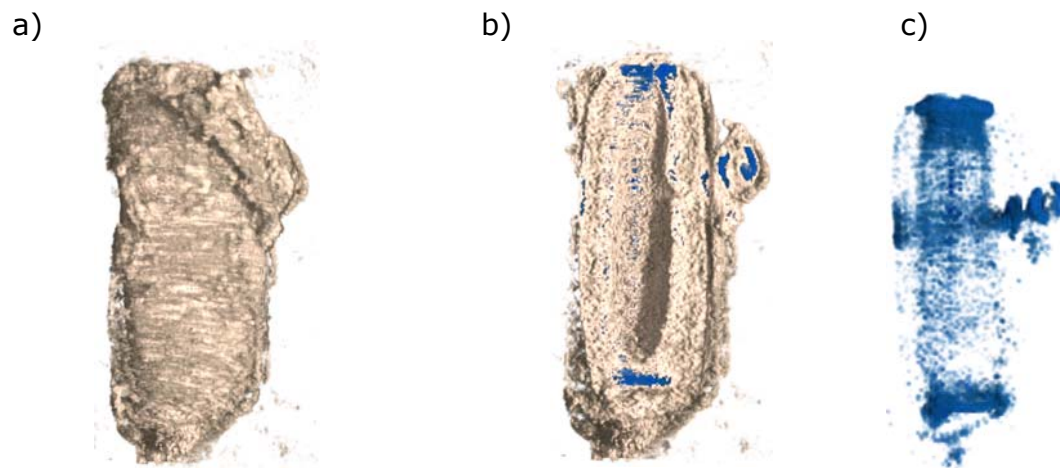


Abbildung 6.9 Arteriensegment mit einem seitlichen Abgang. Das Segment ist frontal dargestellt, dabei sind die Grauwerte für Paraffin ausgeblendet. a) Frontale Vollendarstellung des Arteriensegmentes. b) Axialer Schnitt bis zur Mitte des Segmentes. Nanopartikelakkumulation ist im Lumen und an den Schnittkanten des Segmentes erkennbar. c) Frontale Vollendarstellung des Arteriensegmentes, allerdings sind nur Grauwerte, die den Nanopartikeln entsprechen, eingeblendet.

Wie bereits oben erwähnt sind alle Arteriensegmente mittels MRX und polychromatischer Mikrocomputertomographie untersucht worden. Auf den folgenden Seiten werden die Ergebnisse beider Messtechniken gegenübergestellt.

Die Abbildung 6.10 zeigt die jeweils maximal mit Nanopartikeln beladenen Arteriensegmente aus sieben Arterien, die mit einem magnetischen Feldgradienten von  $16 \text{ T/m}$  beeinflusst wurden. Die 3-dimensionalen Repräsentationen sind im Querschnitt dargestellt, so dass man die Art der Akkumulation erkennen kann, während die darüber platzierte Zahl die mit MRX bestimmte absolute Nanopartikelmasse anzeigt, bezogen auf das Referenzsignal des verwendeten Ferrofluids.

Die abgebildeten Arteriensegmente zeigen eine Anlagerung von Ferrofluid in der Intima. In den Abbildungen sind die oberen und unteren Regionen der Segmente hoch mit Nanopartikeln beladen. Dies ist jedoch auf die Art der Präparation zurückzuführen und nicht auf die Beeinflussung durch ein externes Magnetfeld.

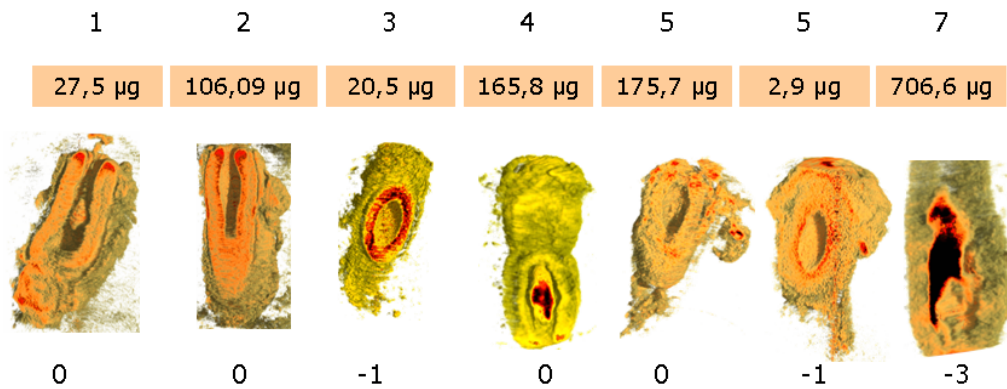


Abbildung 6.10 Gerenderte, 3-dimensionale Darstellung der Arteriensegmente, die in den sieben untersuchten Arterien die höchste Ferrofluidkonzentration aufweisen. In dieser Abbildung stehen die mittleren Grauwerte für biologisches Gewebe und die höchsten Grauwerte für magnetische Nanopartikel. Die Grauwerte, die dem Paraffin entsprechen, wurden ausgeblendet. Die oberste Zahlenreihe gibt die Nummerierung der Arterien an, während die darunter liegende Zahl den maximalen Nanopartikelgehalt offenlegt. Die unterste Zahlenreihe zeigt an, bei welchem Segment es in Strömungsrichtung zu der höchsten Nanopartikelanreicherung kam.

Die folgende Abbildung 6.11 stellt ebenfalls die oben beschriebenen Arteriensegmente dar. Allerdings wurden hier die Grauwerte, die dem Paraffin und dem biologischen Gewebe zugewiesen wurden, ausgeblendet, so dass ausschließlich die Nanopartikelakkumulation betrachtet werden kann. Diese Darstellung verdeutlicht die Anlagerung der Nanopartikel in der Intima.

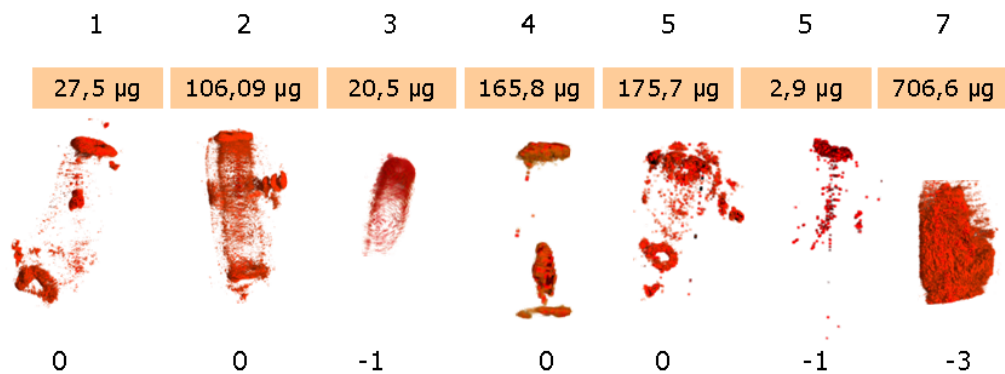


Abbildung 6.11 Digitale, 3-dimensionale Repräsentation von Grauwerten, die der höchsten Dichte und damit den magnetischen Nanopartikeln entsprechen. Die Grauwerte für Paraffin und biologisches Gewebe wurden ausgeblendet.

Während der Analyse der tomographischen Datensätze wurden die Voxelvolumina ab einem bestimmten Schwellwert von Graustufen ermittelt und den Ferrofluidmassen gegenübergestellt.



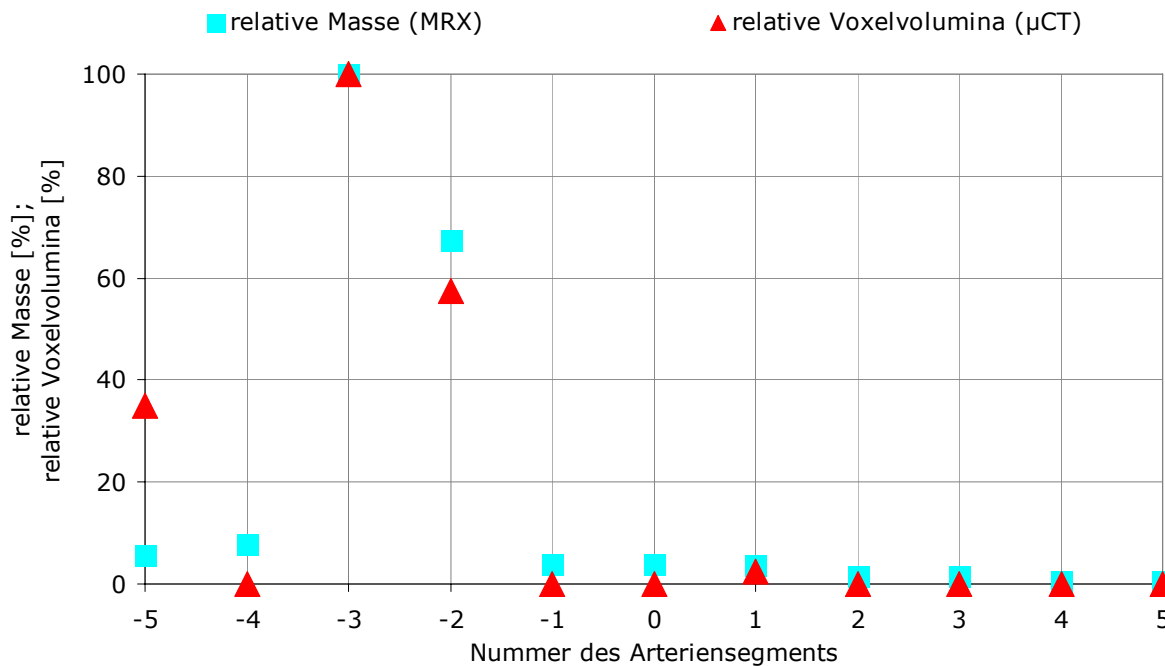


Abbildung 6.12 Rinderarterie Nr. 7, die Kurvenverläufe zeigen die relativen Ferrofluidmassen und relativen Voxelvolumina entlang der Arterie.

Im Idealfall würden die relativen Voxelvolumina, die sich auf den Maximalwert beziehen, ein ähnliches Verhalten zeigen wie der relative Ferrofluidgehalt, welcher sich ebenfalls auf den Maximalwert bezieht. Das bedeutet, dass in diesem Fall die prozentuale Anzahl der Voxel, die den Grauwerten für magnetische Nanopartikel entsprechen, gleich dem prozentualen Wert des Nanopartikelgehalts sein soll.

Für die in Abbildung 6.12 dargestellte Rinderarterie Nr. 7 trifft das zu. Im Segment Nr. -3 beträgt die Ferrofluidmasse  $706,6 \mu\text{g}$  und im Segment Nr. -2  $476,8 \mu\text{g}$ . Diese Werte sind bis zu 7-fach höher als die Maximalwerte der übrigen sechs Arterien. Die hohe Anreicherung magnetischen Materials in diesen Segmenten hatte eine hohe Absorption der Röntgenstrahlung zur Folge. Die Auswertung dieses Datensatzes ergab eine sehr hohe Übereinstimmung zwischen den Voxelvolumina und den Ferrofluidmassen.

Ein anderes Ergebnis zeigt die Untersuchung der Arterie Nr. 4, welche einen Maximalwert an magnetischen Nanopartikeln von  $165,8 \mu\text{g}$  hat. Die in Abbildung 6.13 dargestellten Graphen zeigen ein stark von einander abweichendes Verhalten. Die ermittelten Voxelvolumina streuen nahezu willkürlich um die Ferrofluidmassen.

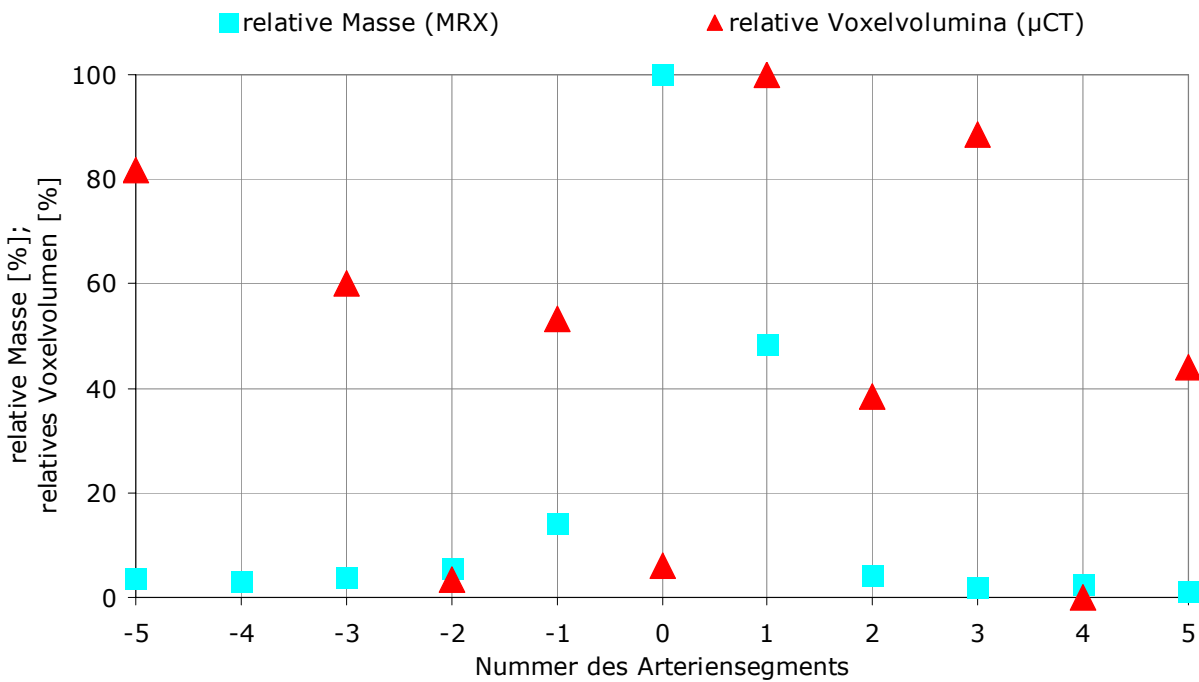


Abbildung 6.13 Vergleich von normierten  $\mu$ CT-Daten mit relativen ebenfalls auf das Maximum normierten MRX-Daten des Segments 0 aus der Arterie Nr. 4.

Wiederum liegt die Erklärung der Abweichungen im Falle dieser biologischen Gewebeproben in der polychromatischen Natur der Röntgenstrahlung, die eine eindeutige Zuweisung von Grauwerten zu Objektkomponenten erschwert. Gleichzeitig wurde die Dichte-Auflösungsgrenze der LeTo-Anlage für diese Form von qualitativer Auswertung in Bezug auf Kontrastunterschiede, die durch Ferrofluidakkumulation bedingt sind, erreicht.

## 7 Quantitative $\mu$ CT

Im vorangegangenen Kapitel 6 wurden biologische Gewebeproben mittels  $\mu$ CT untersucht. Hierbei konnte qualitativ die Nanopartikelverteilung bestimmt werden. Für den Erfolg der minimal-invasiven Krebstherapien ist ebenfalls das Vorliegen der magnetischen Nanopartikel in einer ausreichenden Menge wichtig. Der Nanopartikelgehalt kann mittels MRX sehr genau mit einer räumlichen Auflösung von einigen Zentimetern bestimmt werden, jedoch nur 1-dimensional. Dieses Kapitel beschäftigt sich mit einer Methode, mit deren Hilfe die tomographischen Daten von biologischen Gewebeproben hinsichtlich des Nanopartikelgehalts quantitativ ausgewertet werden können.

Quantitative Aussagen zu einer Größe werden bei jedem Messverfahren sowohl in der medizinischen als auch in der technischen Bildgebung angestrebt.

Vergleichsweise einfache quantitative Aussagen können zur Geometrie der untersuchten Objekte getroffen werden. Beispielweise können bei Beobachtungen von Tumorwachstum Größe und Volumen des Tumors zuverlässig bestimmt werden. Die Evaluation dieser Parameter ist in der radiographischen und tomographischen Bildgebung weitgehend verbreitet. Allerdings ist es um ein Vielfaches schwieriger, komplexe Probleme wie Knochendichtemessung, Messung des Kalkgehaltes in Koronararterien oder Vermessung der Dichte und Struktur einer Lunge quantitativ radiographisch oder tomographisch zu erfassen. Sowohl die Verlaufskontrollen zur Überprüfung von Tumorwachstum als auch die Dichtemessung von Knochen müssen zuverlässig sein, denn diese Aussagen können für Diagnosen oder Therapien verwendet werden und bedürfen daher einer besonderen Sorgfalt und Sicherheit [Kalender 2006, S. 222].

Quantitative Angaben in der röntgentomographischen Bildgebung können mittels verschiedener Verfahren getroffen werden. Zu diesen gehören die Kalibration, die Dual-Energie-Methode sowie die Phasenkontrast-Tomographie, welche bis vor einigen Jahren ausschließlich mit Synchrotronstrahlung möglich war.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde für die LeTo-Anlage aus oben genannten Verfahren die Kalibration gewählt. Diese Laboranlage eignet sich aufgrund eines geringen Beschleunigungsspannungsbereichs nicht für die Dual-Energie-Methode und

aufgrund geometrischer Beschaffenheiten nicht für die Phasenkontrast-Tomographie.

Für die Kalibration gibt es in der radiographischen Bildgebung eine Vielfalt an Phantomen. Die gängigen Kalibrationsphantome für CT-Scanner sind Phantome für Torsi, Schädel, Wirbelsäule, Bein-, Hüft- und Armknochen sowie Gewebe. Dabei werden die Formen des menschlichen Körpers und Körperteile mittels unterschiedlich dichter Kunststoffe und Harze nachgebildet.

Weiterhin werden so genannte Wasserphantome verwendet, da im Bereich der medizinisch radiographisch-tomographischen Bildgebung die Kontraste der Körperteile auf den Absorptionswert von Wasser gemäß der Hounsfield-Skala (Hounsfield Units [HU] oder Hounsfield-Einheiten [HE]) normiert werden. Auf dieser Skala wird der Absorptionswert für Luft auf -1000 gesetzt, Wasser hat den Wert 0. Die genaue Beschreibung der Kalibration auf Hounsfieldeinheiten folgt in Abschnitt 7.2.3.

Die Anfertigung von Phantomkörpern richtet sich nach der Art ihrer Anwendung. Für gängige klinische CT-Anwendungen gibt es eine Reihe von Firmen, die sich mit der Herstellung und Entwicklung von Phantomen beschäftigen [QRM 2010, Imaging 2010]. Jedoch ist der Markt für Phantome für biologische Gewebeproben, die mit magnetischen Nanopartikeln angereichert sind, noch gänzlich unerschlossen, d. h. es existieren derzeit keine Anbieter hierfür. Das liegt vor allem daran, dass sich die Krebstherapien wie das magnetische Drug Targeting, magnetische Wärmebehandlung und die Thermoablation noch in der Tierversuchphase befinden und die Messtechnik Mikrocomputertomographie erst vor einigen Jahren Anwendung für diese Therapien fand.

Zum aktuellen Zeitpunkt gibt es noch keine Phantome, die ein mit Nanopartikeln angereichertes biologisches Objekt ausreichend gut repräsentieren. Aus diesem Grund ist im Rahmen dieser Arbeit ein geeignetes Phantomsystem entwickelt worden. Mit Hilfe dieser Phantome soll eine Kalibration einer polychromatischen Tomographieanlage mit Hinblick auf die biologischen Gewebeproben durchgeführt werden, so dass eine semi-quantitative Evaluierung der tomographischen Daten möglich ist.

Eine weitere Kalibration der LeTo-Anlage auf Hounsfieldeinheiten mittels des so genannten Wasserphantoms wird in Abschnitt 7.2 beschrieben. Dies soll einen direkten Vergleich der  $\mu$ CT-Daten mit den medizinischen CT-Daten ermöglichen und auf diese Weise die Kalibrationsergebnisse für ein breiteres Forschungsfeld darstellbar machen.

## 7.1 Entwicklung eines Phantoms für biologische Gewebeproben mit magnetischen Nanopartikeln

Die Entwicklung des Referenzphantoms basiert auf vorhandenen Phantom-systemen. Nachfolgend werden einige Kompositsysteme vorgestellt, die nachstehende Anforderungen erfüllen sollen:

- Der Grundkörper soll ein Ersatz für das biologische Gewebe sein.
- Der Grundkörper soll homogen sein.
- Das Phantom soll ein Zweikomponentensystem sein, in dem die Konzentration magnetischer Nanopartikel die einzige Variable ist.
- Die magnetischen Nanopartikel müssen in der Ausgangssubstanz suspendierbar und immobilisierbar sein.
- Die Abhängigkeit der Schwächung der Röntgenstrahlung von den Objekt-dicken soll in Betracht gezogen werden.
- Das entwickelte Phantomsystem soll zudem langzeitstabil sein.

Auf den folgenden Seiten werden einige Matrixsysteme zur Immobilisierung von magnetischen Nanopartikeln vorgestellt. Die verwendeten magnetischen Flüssigkeiten sind während der Entwicklungsphase magnetisch mit dem Vibrating Sample Magnetometer (VSM) von Lakeshore [Lakeshore 2010] untersucht worden. Die VSM-Messung erlaubt die Ermittlung der Volumenkonzentration und des mittleren Partikeldurchmessers der verwendeten magnetischen Flüssigkeit. Das Prinzip der Magnetisierungsmessung ist in Abschnitt 2.2.1 beschrieben.

Am Ende des jeweiligen Abschnitts werden jeweils die Vor- und Nachteile dieser Systeme verdeutlicht. Dem folgend werden Weiterentwicklungen des Matrix-Ferrofluid-Gemisches vorgestellt.

### 7.1.1 Agarose-Gel

Das erste zu betrachtende Matrixsystem ist das Agarose-Gel, zu dessen Herstellung vor allem Agar-Agar verwendet wird. Agar-Agar wird in der Lebensmittelindustrie als Verdickungsmittel eingesetzt und in der Biologie und Medizin häufig zur Herstellung von Nährböden für Bakterien verwendet [Hitchens 1939]. Die Hauptbestandteile von Agar-Agar sind Agarose und Agarpektin. Agarose kann zu Agarose-Gelen verarbeitet werden und dient unter anderem als Trägermaterial für die elektro-phoretische Trennung von Biomolekülen [Normand 2000].

Für die Phantome, welche für die Kalibration entwickelt wurden, wurde die Kegelform gewählt. Mit dieser kann mit einer Referenzprobe neben dem Einfluss der Nanopartikelkonzentration auch der Einfluss der Objektstärke auf die Absorption untersucht werden.

Die Rahmenbedingungen für die Herstellung, die Messungen, die Rekonstruktion und die Auswertung der Kegel aus purem Agarose-Gel und des in Agarose-Gel immobilisierten Ferrofluids W12 [FerroTec 2010] wurden konstant gehalten.

Die Nanopartikelkonzentration des Agar-Ferrofluidgemisches wurde mittels eines VSM-Gerätes ermittelt. Dazu wurde im Zuge der jeweiligen Charge der Gelherstellung eine Menge des in Agarose-Gel immobilisierten Ferrofluids in den VSM-Probenhalter abgefüllt. Die Volumenkonzentration  $\phi$  in der Referenzprobe lässt sich durch die Division der Sättigungsmagnetisierung  $M_S$  durch die spontane Magnetisierung von Magnetit  $M_0 = 4,5 \cdot 10^5 \text{ A/m}$  bestimmen:

$$\phi = \frac{M_S}{M_0} \quad (7.1)$$

Aus dem Zusammenhang zwischen der Volumenkonzentration und dem Probenvolumen kann anhand der Gleichung (7.2) das Magnetitvolumen  $V_{Fe_3O_4}$  in der Referenzprobe  $V_{Referenzprobe}$  ermittelt werden:

$$V_{Fe_3O_4} = \phi \cdot V_{Referenzprobe} \quad (7.2)$$

Die Masse von Magnetit in der Referenzprobe wird durch die Multiplikation des Magnetitvolumens mit der Magnetitdichte von  $5,2 \cdot 10^3 \text{ mg/cm}^3$  berechnet:

$$m_{Fe_3O_4} = V_{Fe_3O_4} \cdot \rho_{Fe_3O_4} \quad (7.3)$$

Für den Vergleich von MRX-Messungen der biologischen Gewebeproben aus Abschnitt 6.2 mit den semi-quantitativen Ergebnissen in Abschnitt 7.3 muss die Nanopartikelkonzentration in  $[mg/ml]$  bestimmt werden. Das kann wie in Gleichung (7.4) folgt durchgeführt werden:

$$c = \frac{m_{Fe_3O_4} [mg]}{V_{Referenzprobe} [cm^3 = ml]} = \frac{\phi \cdot V_{Referenzprobe} \cdot \rho_{Fe_3O_4}}{V_{Referenzprobe}} = \phi \cdot \rho_{Fe_3O_4} \quad (7.4)$$

Dabei wird die Magnetitdichte  $\rho_{Fe_3O_4}$  mit  $5,2 \cdot 10^3 \text{ mg/cm}^3$  angenommen.

Das Ergebnis der magnetischen Untersuchung ist in Tabelle 7.1 zusammengefasst.

Tabelle 7.1 Nanopartikelkonzentrationen in Agarose-Gel.

Probennummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Nanopartikelkonzentration [mg/ml]	0	1	2,1	3	4,1	5,1	10,2	15,3	20,3

Die tomographisch vermessenen Phantomkegel wurden im Hinblick auf die homogene Nanopartikelverteilung überprüft. Im Rahmen der digitalen Bildanalyse wurde im Tomogramm ein innerer Zylinder mit einem Durchmesser von 4 mm und 16 mm Höhe aus der Mitte der konischen Referenzproben extrahiert. Die Beschränkung auf die Probenmitte geht auf das oben erwähnte Strahlauhfärungsartefakt zurück. Dieses tritt besonders in den äußeren Grenzregionen der Objekte auf. Anschließend wurden die mittleren Grauwerte in jeder einzelnen Schicht des ausgewählten Zylinders ermittelt. Diese sind in Abbildung 7.1 als Funktion der Kegelhöhe aufgetragen.

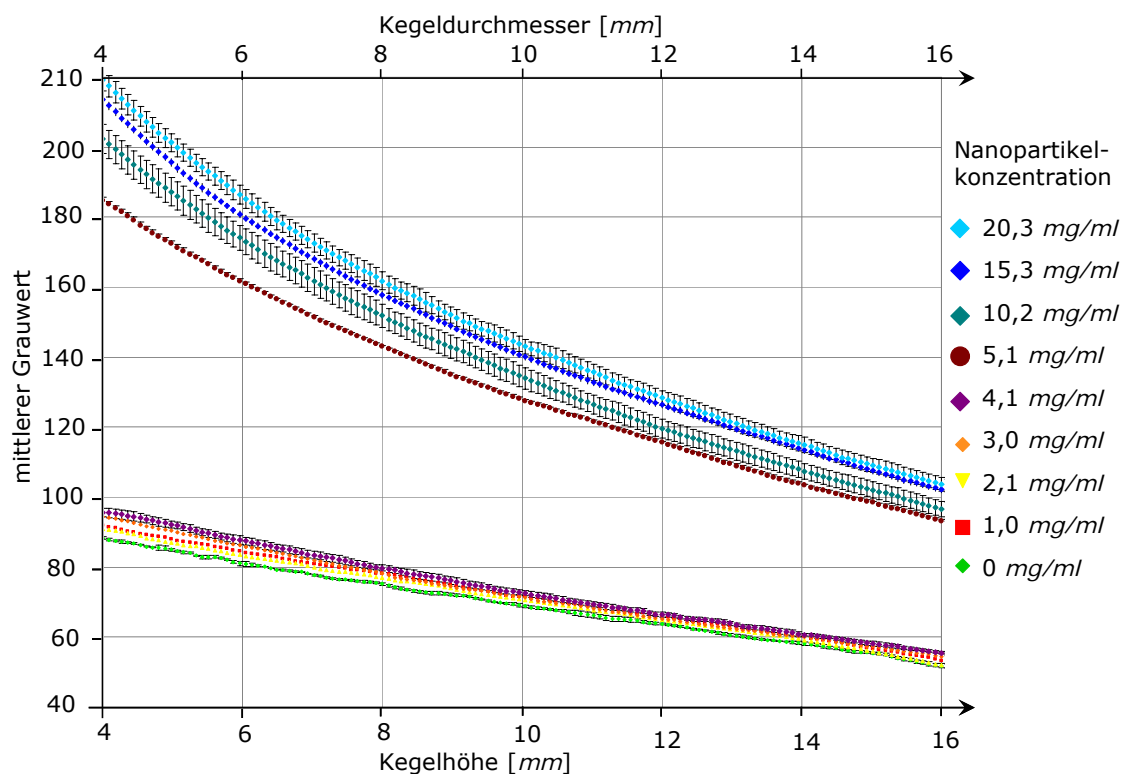


Abbildung 7.1 Mittlerer Grauwert von Agarose-Gel-Kegeln in Abhängigkeit der Kegelhöhe und des Kegeldurchmessers.

Jede der oben dargestellten Kurven ist aus den mittleren Grauwerten von fünf Kegeln mit gleicher Nanopartikelkonzentration zusammengesetzt. Der korrekte Trend der Röntgenschwächung mit Blick auf die Nanopartikelkonzentration ist

erkennbar, da der mittlere Grauwert mit steigender Nanopartikelkonzentration steigt. Die Grauwerte, welche für Gele mit Nanopartikelkonzentration von 1 bis 4  $mg/ml$  ermittelt wurden, sind nur geringfügig höher als die mittleren Grauwerte für pures Agarose-Gel. Das kann damit erklärt werden, dass das Limit der Dichteauflösung der LeTo-Tomographieanlage erreicht wurden. Demnach können Nanopartikelkonzentrationen unterhalb von 5  $mg/ml$  in dieser Ausgangsmatrix mit der Tomographieanlage LeTo nicht unterschieden werden.

Die Auswertung der digitalen Datensätze ergab einen deutlich höheren Grauwert in der Kegelspitze als im Kegelfuß. Das kann sowohl aus den absteigenden mittleren Grauwerten mit zunehmender Kegelhöhe in Abbildung 7.1 entnommen werden als auch aus der gerenderten Darstellung des Agar-Ferrofluid-Kegels in Abbildung 7.2a). Die ermittelte Grauwertabweichung zwischen Kegelspitze und Kegelfuß beträgt 65 %. Daraus kann geschlossen werden, dass ein Dichtegradient vorliegt.

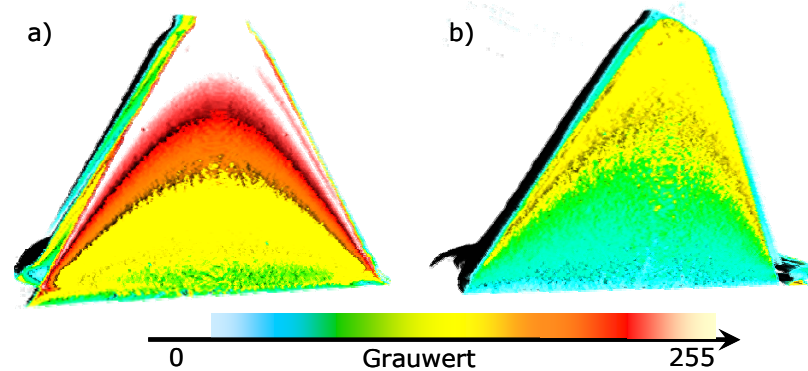
Der mögliche Grund für diesen signifikanten Dichtegradienten kann als Folge zweier Prozesse interpretiert werden. Zum einen mit der Sedimentation größerer Agarpartikel mit immobilisierten Nanopartikeln und zum anderen mit der schnelleren Polymerisation des Gels in der Region der konischen Wände der Gießform.

Es wurden einige Versuche unternommen, die Sedimentation zu unterbinden. Jedoch brachten weder das Umdrehen der Gussform nach der Hälfte der Gelierzeit noch ein Mischen des Gels durch Ultraschall die gewünschten Verbesserungen.

Die Abbildung 7.2 zeigt den Vergleich zweier Agar-Ferrofluid-Gels mit einer Nanopartikelkonzentration von 15  $mg/ml$ . Die Gelierung des linken Kegels fand bei 30 °C statt und dauerte 15 Minuten, während der rechte Kegel bei 15 °C abgekühlt wurde, wobei die Gelierung sechs Minuten dauerte.

Die Auswertung dieser tomographischen Datensätze zeigt, dass der Kegel in Abbildung 7.2b) eine Graustufendifferenz von 30 % aufweist. Vergleichbar mit der Graustufeninhomogenität von 65 % in Abbildung 7.2a) gezeigtem Kegel sind 30 % eine deutliche Verbesserung bezüglich der homogenen Verteilung der Nanopartikel in der Agarose-Matrix. Mittels einer Beschleunigung der Polymerisation durch Verkürzung der Gelierzeit durch Kühlung konnte der Gradient reduziert, jedoch nicht ausgeschlossen werden. Zudem konnte die Langzeitstabilität aufgrund des hohen Wasseranteils des Referenzsystems nicht garantiert werden.





Ferrofluidkonzentration: 15 mg/ml

Gelierung bei 30 °C

Grauwerte zw. 72 und 215

$\Delta = 56,07 \%$

Ferrofluidkonzentration: 15 mg/ml

Gelierung bei 15 °C

Grauwerte zw. 18 und 63

$\Delta = 17,65 \%$

Abbildung 7.2 Agarose-Gel-Kegel (Probe 8). a) Die Polymerisation fand bei 30 °C statt. Ein deutlicher Anstieg der Grauwerte vom Kegelfuß zur Kegelspitze ist zu erkennen. Hierbei entspricht ein hoher Grauwert einer hohen Dichte. b) Die Erstarrung des Agarose-Gels erfolgte bei 15 °C. Der Grauwert- und folglich der Dichtegradient konnten reduziert werden.

Auf Grund dieses Dichtegradienten konnte die, durch die Kegelform des Referenzobjektes beabsichtigte, Untersuchung des Objektdickeneinflusses nicht durchgeführt werden.

Das in der Agarose-Matrix enthaltene Wasser verdunstete innerhalb der Messdauer von 1 bis 4 Stunden. Dies führte zur einer ungleichmäßigen Schrumpfung des Objektes, wobei die Gewichts- und Größenreduktion mehr als 40 % betragen. Die Größenreduktion des Referenzobjektes wiederum resultierte in Bewegungsartefakten im Tomogramm. Der Wasserverlust führte über den Gewichtsverlust zu einer nominellen Dichteerhöhung. Sowohl das Schrumpfen als auch die Gewichtsreduktion und die damit zusammenhängende Dichteerhöhung widersprechen den oben genannten Anforderungen der Langzeitstabilität und Homogenität einer Referenzprobe. Eine Beschichtung des Agar-Ferrofluid-Gels ist in diesem Zusammenhang ausgeschlossen worden, um die Schwächung der Röntgenstrahlung nicht zu beeinflussen.

Zusammenfassend sollen zunächst die Vorteile des Agar-Ferrofluid-System genannt werden. Es ist leicht herzustellen; es ist einfach, durch Partikelzugabe eine gewünschte Dichte im Gel zu erzeugen; es ist eine Suspension des wasserbasierten Ferrofluids gegeben und die Ferrofluidkonzentration ist präzise einstellbar.

Die Nachteile sind der während der Herstellung entstehende Dichtegradient sowie der Wasserverlust und damit eine Dichtehöhung während der tomographischen Messungen. Diese konnten zum Teil reduziert, jedoch nicht behoben werden. Aus diesen Gründen sind weitere Materialien untersucht worden, die als Matrix für das Ferrofluid geeignet sein könnten.

### 7.1.2 Ballistische Gelatine

Gewebesimulation wird nicht nur in der Medizin durchgeführt, sie findet auch in der Ballistik und der Forensik Anwendung [Jussila 2004, Kunz 2007]. Hierbei wird häufig die so genannte ballistische Gelatine eingesetzt.

Ballistische oder technische Gelatine ist tierischen Ursprungs. Sie besteht aus tierischem Eiweiß oder denaturiertem bzw. durch Hydrolyse zerlegtem Kollagen und wird aus Bindegewebe von Schweinen, Rindern, Geflügel oder Fisch gewonnen. Gelatine ist im Handel in Form von Pulver, Folien oder Granulat erhältlich [Aspik 2011].

Das Besondere an ballistischer bzw. technischer Gelatine ist die hohe Gelstärke, die durch die so genannte Bloom-Zahl beschrieben wird. In der Lebensmitteltechnologie beschreibt die Bloom-Zahl die Gallertfestigkeit bzw. die Geliervkraft von Gelatine [Fellers 1928]. Die Kennzahl gibt die Masse in Gramm an, die notwendig ist, um eine Gelatinenoberfläche mittels eines definierten Stempels von 0,5 Zoll 4 mm tief zu verformen. Im Handel wird Gelatine mit Bloom-Zahlen von 50 bis 300 angeboten. In der Ballistik wird hauptsächlich Gelatine mit Bloom-Zahlen von 250 bis 300 verwendet [Jussila 2004, Kunz 2007].

Technische Gelatine quillt stark in kaltem Wasser, die vollständige Löslichkeit wird durch Erhitzen auf über 30 °C erreicht. In der flüssigen Lösung kann ein definiertes Volumen von Ferrofluid suspendiert werden.

Die Suspension kann in beliebige Formen gegossen werden. Je nach Volumen der verwendeten Gussform (5 oder 500  $cm^3$ ) wurde die Dauer des Geliervorgangs bis zur Endfestigkeit zwischen 5 und 30 Minuten ermittelt. Durch Herabsetzen der Umgebungstemperatur oder Vorkühlen der Gussform kann das Erreichen der Endfestigkeit beschleunigt werden. Der Übergang von dem Sol- in den Gel-Zustand ermöglicht eine schnelle Haftung. Dies wird beim Verkleben oder Imprägnieren von Stoffen, die eine mechanische Verankerung des Leims und die Verdunstung von Wasser zulassen, ausgenutzt. In den durchgeführten Untersuchungen erschwerte diese Haftungseigenschaft der ballistischen Gelatine das

Herauslösen der erstarrten Lösung aus der Gussform. Aus diesem Grund wurden einige

Gussformen aus Aluminium, Glas, Kunststoffen (PE, PS, PET) und Teflon (PTFE) getestet. Dabei zeigte das PTFE zwar die beste Anti-Haft-Wirkung, dennoch wurde die Probe beim Herauslösen stark mechanisch belastet, so dass sich Risse bildeten.

Die Gelatine-Ferrofluid-Kegel wurden tomographisch vermessen. Die Untersuchung des tomographischen Datensatzes hinsichtlich der Homogenität ergab eine Graustufeninhomogenität von 3,9 %. Das lässt auf eine vergleichsweise homogene Nanopartikelverteilung schließen.

Zusammenfassend kann die homogene Verteilung der magnetischen Nanopartikel in der Gelatine als großer Vorteil genannt werden. Ein Nachteil ist jedoch ebenso wie bei Agarose-Gelen die auftretende Wasserverdunstung. Der Prozess der Schrumpfung fand in Gelatine langsamer statt, ca. binnen 4 bis 8 Stunden in Abhängigkeit von Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Ein zeitlicher Aufschub von wenigen Stunden reicht nicht aus, um die Gelatineprobe für Wiederholungsmessungen bzw. Kalibration von weiteren Tomographieanlagen zu verwenden. Aus diesem Grund erfüllt die ballistische Gelatine nicht die Anforderungen der Langzeitstabilität und kann als Matrixsubstanz für Ferrofluid nicht verwendet werden

In der folgenden Entwicklungsphase werden Matrixmaterialien untersucht, die im Endzustand eine feste Form haben.

### 7.1.3 Glyzerinseife

In der Wundballistik wird Glycerinseife verwendet, um den menschlichen Körper zu simulieren [Kunz 2007, Sellier 2001]. Aus diesem Grund soll die Eignung von Glycerinseife als Trägermatrix für das Ferrofluid untersucht werden. Glycerinseifen bestehen aus tierischem Fett, Öl, Lauge, Alkohol, Glycerin, destilliertem Wasser und Zucker. Die Seifen lassen sich verhältnismäßig einfach herstellen oder in fester Form im Handel erwerben. Sie lassen sich bei 50 bis 60 °C schmelzen und sind leicht formbar.

Für das Gewebephantom ist eine fertige Seife [SoapFix 2010] verwendet worden. Für die Phantomherstellung wurde die Seife im Wasserbad geschmolzen. Anschließend ist das bereits für Phantome aus Agarose-Gel verwendete Ferrofluid W12 [FerroTec 2010] unter vorsichtigem Rühren (um den Lufteintrag zu verhindern) tröpfchenweise in die Seife eingebracht und in eine Gussform gegos-

sen worden. Nach einer von der Probengröße anhängigen Abkühlzeit von 5 bis 10 Minuten konnte die Mischung aus Seife und Ferrofluid leicht aus der Form gelöst werden.

Die Probe wurde tomographisch vermessen und zu einer 3-dimensionalen Repräsentation rekonstruiert. Die Auswertung des tomographischen Datensatzes ergab eine Graustufeninhomogenität von 3,6 %, was auf eine vergleichsweise homogene Nanopartikelverteilung hindeutet.

Tabelle 7.2 Dichtewerte für Seife, mit Wasser verdünnter Seife, Ferrofluidseife und Ferrofluid.

Medium	Dichte $\rho$ [ $g/cm^3$ ]
Seife	1,207 [SoapFix 2010]
Seife mit 20 vol% destilliertem Wasser	1,148
Ferrofluid W12	1,23 [FerroTec 2010]
Seife mit Ferrofluid W12	1,22

Im Rahmen der ersten Testphase wurden reine Seife und Seife mit suspendiertem Ferrofluid in zylinderförmige Behälter gegossen. Dabei betrug das Ferrofluidvolumen 0,11 ml. Aus dem ermittelten Volumen und dem Gewicht der Probe ist die Seifen- bzw. die Gemischdichte ermittelt und in Tabelle 7.2 zusammengefasst worden. Die Grunddichte der Seife beträgt 1,207  $g/cm^3$  und ist um 14 % höher als die Dichte von Tumorgewebe und um 23 % höher als die Fettgewebedichte von 0,928  $g/cm^3$  [Kinase 2005].

Der Grauwertunterschied zwischen der puren Seife und der Ferrofluidseife ist marginal. Aus diesem Grund ist untersucht worden, inwieweit sich die Dichte des Grundmaterials reduzieren lässt. Dazu ist während des Schmelzvorganges der Seife 20 vol% destilliertes Wasser hinzugefügt worden. Auf diese Weise konnte die Dichte um ca. 5 % reduziert werden.

Das in der Seife immobilisierte Ferrofluid ist magnetisch untersucht worden. Die dabei entstandenen Magnetisierungskurven wurden mit denen von reinem Ferrofluid W12 verglichen. Für die VSM-Messung ist die Ferrofluidseife in Form von Zylindern in die Messbehälter gegeben worden. Die Auswertung der aufgenommenen Magnetisierungskurve ergab folgende Werte: einen mittleren Durchmesser der magnetischen Teilchen von 7,6 nm sowie eine Volumenkonzentration von 0,11 %, die einer Nanopartikelkonzentration von 5,2 mg/ml entspricht.

Aus dem Vergleich der Ergebnisse aus den Magnetisierungskurven für das Ferrofluid und die Ferrofluidseife kann geschlussfolgert werden, dass das Suspendie-

ren des Ferrofluids in Glycerinseife keinen oder nur einen sehr geringen negativen Einfluss auf die Stabilität der magnetischen Flüssigkeit hat.

Zusammenfassend kann als positiv herausgestellt werden, dass Ferrofluid in Seife homogen suspendiert werden kann. Des Weiteren ist die Seife nach der Erstarrung ein fester Körper und erfüllt damit die Voraussetzung der Langzeitstabilität.

Jedoch ist die Glycerinseife aufgrund ihrer nominellen Ausgangsdichte und die darauf zurückzuführenden geringen Kontrastunterschiede als Gewebeersatz für die hier benötigten Phantome nicht geeignet.

In den vorangegangenen Abschnitten wurden Phantomsysteme untersucht, deren Grundsubstanzen die Suspension von wasserbasiertem Ferrofluid im Prinzip ermöglichen. Das ist für die realitätsnahe Phantomherstellung für Objekte nach biomedizinischen Anwendungen, wie das magnetische Drug Targeting und die magnetische Wärmebehandlung, wichtig. Leider erfüllten die untersuchten Systeme nicht die oben gestellten Anforderungen an ein Phantom. Aus diesem Grund wurde ein weiteres Matrixsystem untersucht, das Polyurethan-Gel. Hierbei war es nicht möglich ein wasserbasiertes Ferrofluid zu verwenden, da eine unerwünschte Nebenwirkung – Schaumbildung – auftrat. Daher wurden andere magnetische Flüssigkeiten mit Magnetitpartikeln gewählt, die auf Öl oder synthetischen Estern basieren. Im folgenden Abschnitt werden dieses Matrixmaterial sowie die Phantomherstellung näher beschrieben.

#### 7.1.4 Polyurethan

Der Kunststoff Polyurethan (PUR) gehört zu den Polyestern und wird durch Polyaddition von Isocyanaten und Alkoholen hergestellt. Je nach Herstellungsart, Modifikation der Grundstoffe, deren Mischungsverhältnis und der verwendeten Katalysatoren können Elastomere mit unterschiedlicher Härte hergestellt werden. Durch Zugabe von Luft können unterschiedliche Porositätsgrade erreicht werden. Polyurethan wird im alltäglichen Leben in Form von Schuhsohlen, Waschwämmen, Matratzen, Schläuchen, Klebstoffen, Vergussmassen, Dichtungen und vielem weiteren verwendet. In der Forensik, Wundballistik sowie der Medizin wird Polyurethan als Hauptbestandteil von Körper- bzw. Körperteilphantomen verwendet. In der Radiologie bzw. Tomographie dient PUR als Gewebeersatz für

Weichgewebe [Sellier 2001, Chiarot 2005, Arnold 1991, Kinase 2005] und geschäumt als Phantom für Lungengewebe [Lungman 2010].

Die Herstellung der Suspension aus PUR-Füllstoff, PUR-Härter und dem Ferrofluid APG 513A [FerroTec 2010] erfolgte folgendermaßen. Zunächst wurden 36 ml Füllstoff und 1 ml Ferrofluid mit einem mechanischen Rührer bei  $8 \text{ s}^{-1}$  drei Minuten lang gemischt. Nach der Zugabe von Härter wurde die Mischung weitere drei Minuten bei  $8 \text{ s}^{-1}$  gerührt. Anschließend wurde die Suspension in eine PTFE-Form gegossen. Gemäß den Herstellerangaben härtet das Füllstoff-Härtergemisch innerhalb von 24 Stunden bei Raumtemperatur aus. Um das Aushärten zu beschleunigen, kann das Gemisch einer höheren Temperatur ausgesetzt werden. Zum Beispiel beträgt die Aushärtezeit 1 bis 2 Stunden bei einer Temperatur von  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ . Um den Temperatureinfluss auf das Ferrofluid zu verringern, härteten die Proben bei  $55 \text{ }^\circ\text{C}$  innerhalb von 4 Stunden aus. Nach der Abkühlung können die Proben leicht aus den Gussformen gelöst und mechanisch bearbeitet werden.

Für das Phantomsystem wurde das Ferrofluid APG 513A [FerroTec 2010] verwendet. Dieses Fluid besteht aus Magnetitpartikeln ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), die in synthetischem Ester suspendiert sind. Dabei beträgt die Partikelkonzentration im Trägerfluid  $7,2 \text{ vol}\%$  [Odenbach 2002]. Im Gegensatz zu oben genanntem W12 ist mit APG 513A ein nicht wasserbasiertes Ferrofluid verwendet worden. In den Versuchen mit biokompatiblen, wasserbasierten Ferrofluiden kam es zu einer chemischen Reaktion zwischen den Komponenten des PURs und den Wassermolekülen, die zu einer Wasserstoffbildung führte und in PUR-Schaum resultierte. Ein Beispiel ist in Abbildung 7.3 gezeigt.

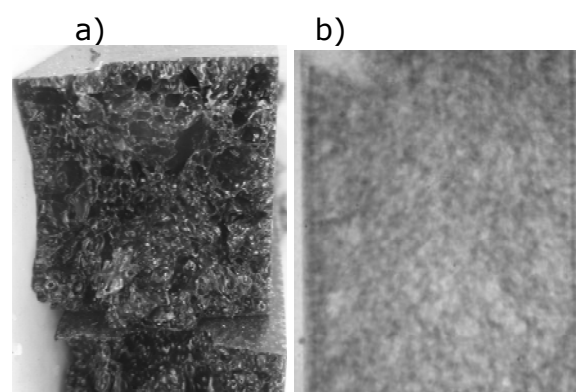


Abbildung 7.3 a) PUR-Schaum mit  $3,57 \text{ vol}\%$  an „multicore“-Ferrofluid [Dutz 2009]. b) PUR-Schaum mit  $1,82 \text{ vol}\%$  an W12.

Der Schaum kann zum Beispiel als Phantomsystem für Lungen- [Lungman 2010] oder adipöses Gewebe verwendet werden. Allerdings sind überwiegend Tumor-

proben und biologische Objekte aus arteriellem Gewebe vermessen worden. Folglich musste für die Kalibration ein entsprechendes Phantom realisiert werden.

Die Röntgenabsorption wird nahezu ausschließlich durch die magnetitbasierten Nanopartikel hervorgerufen. Der Absorptionsunterschied zwischen Wasser und synthetischem Ester kann vernachlässigt werden. Aus diesem Grund wurde für weitere PUR-Phantome das oben beschriebene kommerzielle Ferrofluid APG 513A verwendet.

Nachdem ein PUR-Ferrofluid-Gel hergestellt werden konnte, wurde die Phantomprobe als ein Quader mit einer Grundfläche von  $30 \times 30 \text{ mm}$  und einer Höhe von  $50 \text{ mm}$  realisiert. Eine optische Fotografie von zwei PUR-Ferrofluid-Gelen befindet sich in Abbildung 7.4.



Abbildung 7.4 Polyurethangel mit darin suspendiertem Ferrofluid.

Aus dem Gewicht und den Abmaßen dieser definierten Quader ist die Dichte ermittelt worden. Sie beträgt  $1,05 \text{ g/cm}^3$  für das reine PUR-Gel, was die Herstellerangabe bestätigt, und  $1,06 \text{ g/cm}^3$  für das Ferrofluid-PUR-Gel. Diese Werte liegen in dem in der Literatur verzeichneten Bereich von Gewebedichten von adipösem Gewebe mit einer mittleren Dichte von  $0,928 \text{ g/cm}^3$  [Kinase 2005] bis hin zu Tumorgewebe mit einer mittleren Dichte von  $1,044 \text{ g/cm}^3$  [Johns 1987].

Für die tomographischen Messungen wurde die am Lehrstuhl verfügbare Tomographieanlage LeTo verwendet. Die Vermessungen der Quader wurden mit einer Beschleunigungsspannung von  $50 \text{ kV}$ , einem Emissionsstrom von  $1 \text{ mA}$  sowie bei einer Belichtungszeit von  $48 \text{ s}$  durchgeführt. Als optische Vergrößerung wurde  $1,48$  gewählt, was zusammen mit einem einfachen Binning eine räumliche Auflösung von  $57,8 \mu\text{m}$  ergab. Zur Reduktion der Strahlaufhärtung wurde ein Aluminiumfilter von  $0,5 \text{ mm}$  Stärke verwendet worden.

Nach der Rekonstruktion wurden die tomographischen Datensätze der Phantome mit Werkzeugen der digitalen Bildverarbeitung auf ihre Homogenität untersucht. Dazu wurde in den Quadern eine quadratische Fläche gewählt, die etwas kleiner als die Grundfläche des Quaders ist. Dadurch konnte die Verfälschung der Mess-

ergebnisse durch das Strahlauhfärtungsartefakt verringert werden. In diesem Quadrat wurden über 320 axiale Schichten der mittlere Grauwert und seine Standardabweichung ermittelt. In Abbildung 7.5 sind die mittleren Grauwerte eines PUR-Ferrofluid-Gels als Funktion der Höhe des Quaders dargestellt. Der mittlere Grauwert beträgt 29,18 bei einer Standardabweichung von 0,224.

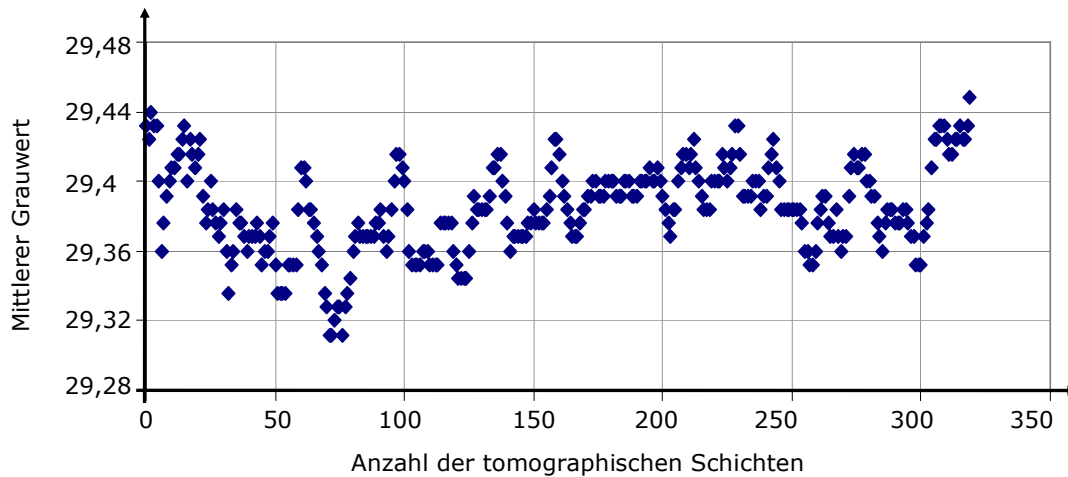


Abbildung 7.5 Mittlere Grauwerte eines PUR-Ferrofluidgels mit einer Nanopartikelkonzentration von 13,16  $mg/ml$  in Abhängigkeit der Objekthöhe, die über die Anzahl der tomographischen Schichten wiedergegeben wird.

Anschließend ist die Röntgenabsorption in Abhängigkeit von unterschiedlichen Objektdicken untersucht worden. Dazu wurden die quaderförmigen Phantome in Form eines Trapezoids geschnitten. Diese sind in Abbildung 7.6 abgebildet.

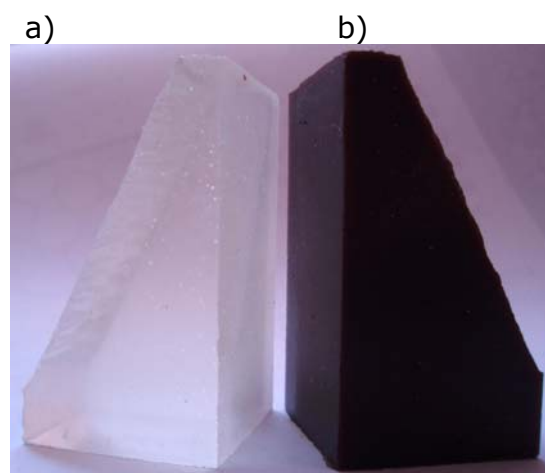


Abbildung 7.6 Trapezoidförmige Referenzphantome. a) Reines Polyurethan-Gel und b) PUR-Ferrofluid-Gel.



Die Trapezoide wurden wie oben beschrieben tomographisch vermessen und rekonstruiert. Abbildung 7.7 zeigt einen Graphen, in dem der mittlere Grauwert von zwei Trapezoiden als Funktion der Objekthöhe sowie der Objektdicke dargestellt ist. Die nahezu lineare Form der in Abbildung 7.7 gezeigten Geraden lässt auf einen homogenen Grauwert in Abhängigkeit der Objektdicke über einen Bereich von 50 mm schließen. Damit kann die Form der Referenzphantome vereinfacht werden und zum Beispiel als Quader oder Zylinder hergestellt werden. Aus diesem Grund werden im Folgenden quaderförmige PUR-Phantome betrachtet.

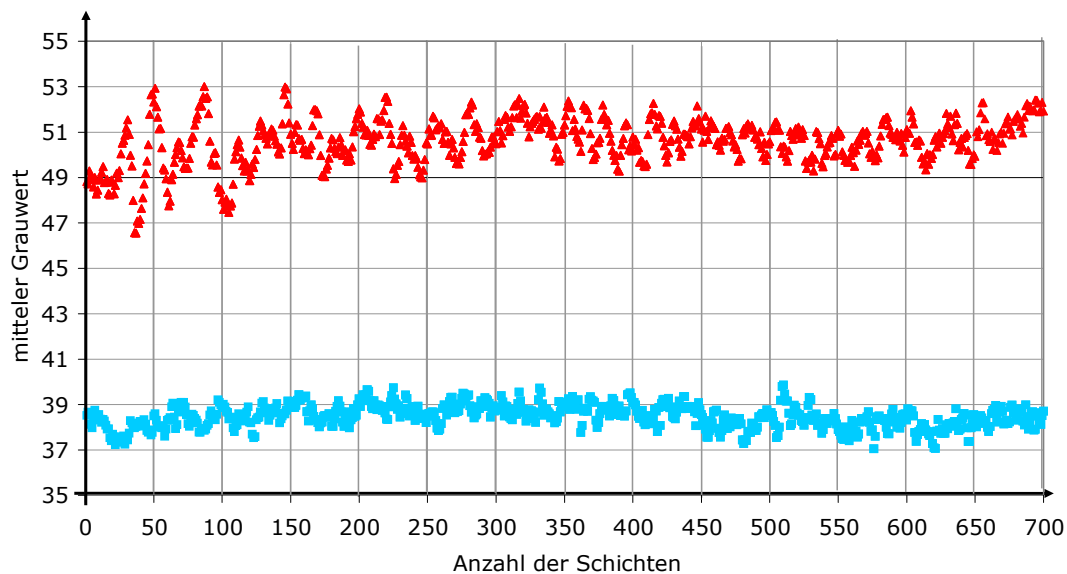


Abbildung 7.7 Mittlere Grauwerte zweier PUR-Ferrofluid-Gele, die zu einem Trapezoid geformt und anschließend tomographisch vermessen wurden. Die rote Kurve (oben) stellt ein PUR-Ferrofluid-Gel mit einer Nanopartikelkonzentration von 27 mg/ml dar und die blaue Kurve (unten) eine Konzentration von 20 mg/ml.

Die quaderförmigen Phantome sind zusätzlich magnetisch untersucht worden. Auf Basis dieser Daten kann das Phantom in Bezug auf die homogene Nanopartikelverteilung untersucht werden.

Für die VSM-Messungen wurden jeweils drei Proben aus der oberen, mittleren und unteren Region des Quaders präpariert. Diese wurden zu quaderförmigen Stäbchen mit einer Masse von 33 mg geschnitten. Die Messung ist fünf Mal pro Probe wiederholt worden. Die entsprechenden Magnetisierungskurven sind in Abbildung 7.8 dargestellt.

Die aus der Anfangssuszeptibilität bestimmten mittleren Partikeldurchmesser liegen zwischen 10,649 und 10,783 nm. Der Mittelwert des mittleren Partikeldurchmessers lässt sich zu  $d_{mean} = 10,72 \text{ nm}$  mit einer Standardabweichung von

0,05 berechnen. Aus der Sättigungsmagnetisierung kann die magnetische Volumenkonzentration und daraus die Nanopartikelkonzentration wie oben beschrieben berechnet werden.

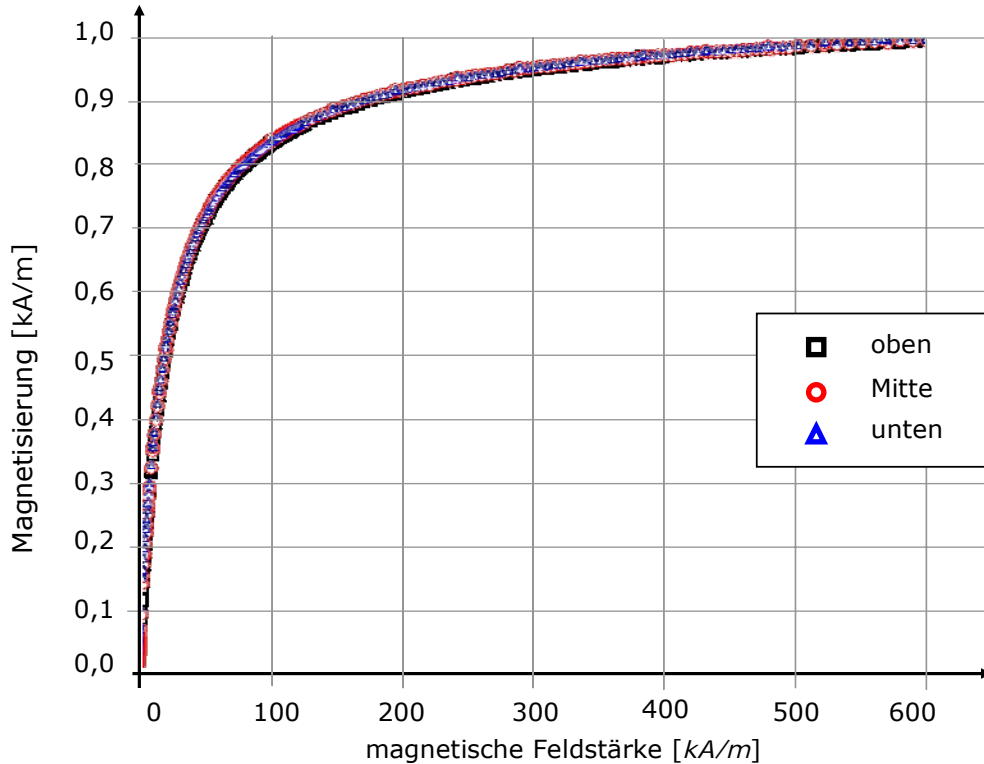


Abbildung 7.8 Magnetisierungskurve des PUR-Ferrofluidgels mit einer Nanopartikelkonzentration von  $13,19 \text{ mg/ml}$ . Die magnetische Untersuchung wurde an drei Proben aus dem oberen, mittleren und unteren Bereich des Referenzphantoms durchgeführt.

Die aus den Sättigungsmagnetisierungen ermittelten Volumenkonzentrationen weichen minimal voneinander ab. Der Mittelwert beträgt  $13,246 \text{ mg/ml}$  mit einer Standardabweichung von  $1,01 \text{ mg/ml}$ . Die Ergebnisse dieser magnetischen Untersuchung eines PUR-Ferrofluid-Quaders werden in Tabelle 7.3 gezeigt.

Tabelle 7.3 Volumenanteil und mittlerer Partikeldurchmesser für ein PUR-Ferrofluid-Gel, ermittelt aus einer Magnetisierungsmessung.

Probenposition	Volumenanteil [%]	Konzentration [ $\text{mg/ml}$ ]	mittlerer Partikeldurchmesser [ $\text{nm}$ ]
oben	0,276	14,35	10,727
Mitte	0,250	13,00	10,783
unten	0,238	12,38	10,649

Es konnte gezeigt werden, dass das PUR-Ferrofluid-Gel alle aufgestellten Anforderungen erfüllt. Die Grundsubstanz Polyurethan hat eine gewebeähnliche Dichte und wird zudem in der Radiographie als Hauptbestandteil von Körperphantomen verwendet. Die Suspendierung von wasserbasiertem Ferrofluid erwies sich als schwierig. Nach Abwägung der Komponente, die maßgeblich für die Röntgenschwächung verantwortlich ist – die Magnetitnanopartikel – wurde ein technisches Ferrofluid verwendet. Dieses basiert ebenfalls auf Magnetitnanopartikeln, die allerdings in synthetischem Ester suspendiert sind. Das PUR-Ferrofluid-Gel erfüllt des Weiteren die Vorgaben ein Zweikomponentensystem und langzeitstabil zu sein. Das PUR-Ferrofluid-Gemisch kann als ein geeignetes Phantomsystem für biologische Gewebeproben mit magnetischen Nanopartikeln betrachtet werden. Es wird daher für die Kalibration von  $\mu$ CT-Anlagen verwendet werden.

## 7.2 Kalibrierkurve

Dieser Abschnitt gibt einen Überblick über die Ermittlung der Kalibrationsgleichungen, die für die Semi-Quantifizierung von tomographischen Datensätzen biologischer Gewebeproben nach magnetisch unterstützten lokalen Krebstherapien verwendet werden. Zunächst wird die Kalibration von polychromatischen Daten und anschließend für die synchrotronbasierten monochromatischen Daten beschrieben. Des Weiteren wird die Umrechnung von graustufenbasierten Daten in die in der Medizin gebräuchliche Einheit Hounsfield-Einheiten erörtert.

### 7.2.1 $X_{\mu}$ CT

Für die Kalibration sind PUR-Gele mit und ohne Ferrofluid gemäß der oben beschriebenen Vorgehensweise präpariert worden. Dabei sind quaderförmige Phantomkörper mit einer Nanopartikelkonzentration von 0 bis 33,49  $mg/ml$  hergestellt worden.

Die PUR-Ferrofluid-Quader sind zunächst tomographiert und anschließend magnetisch untersucht worden. Die tomographische Vermessung wurde bei einer Beschleunigungsspannung von 50  $kV$  und einem Emissionsstrom von 1  $mA$  sowie einer optischen Vergrößerung von 1,48 und einer daraus resultierenden räumlichen Auflösung von 57  $\mu m$  durchgeführt. Nach der Rekonstruktion und Datenaufbereitung sind die mittleren Grauwerte zu jedem Quader ermittelt worden. Dabei ist die Grauwertbestimmung über eine gleich große Fläche pro tomographischer Schicht sowie über die gleiche Anzahl der Schichten ermittelt

worden. Für die magnetische Untersuchung sind aus den Quadern an unterschiedlichen Höhen stäbchenförmige Proben herausgeschnitten worden. Diese Stäbchen mit gleicher Masse wurden fünf Mal mittels des Vibrating Sample Magnetometers vermessen. Aus den erhaltenen Magnetisierungskurven ist die Nanopartikelkonzentration ermittelt worden. Die experimentell bestimmten mittleren Grauwerte sowie die Partikelkonzentrationen sind in der nachstehenden Tabelle 7.4 aufgelistet.

Tabelle 7.4 Auflistung von experimentell bestimmten mittleren Grauwerten und Nanopartikelkonzentrationen.

Probe	mittlerer Grauwert	Standardabweichung [%]	Volumenkonzentration	Nanopartikelkonzentration [mg/ml]
1	19,03	0,54	0	0
2	-	-	0,129	6,71
3	29,24	0,37	0,253	13,16
4	35,17	0,92	0,387	20,12
5	41,01	0,56	0,515	26,78
6	47,65	1,81	0,644	33,49

Abbildung 7.9 zeigt die experimentell ermittelten Grauwerte als Funktion der experimentell gemessenen Nanopartikelkonzentrationen.

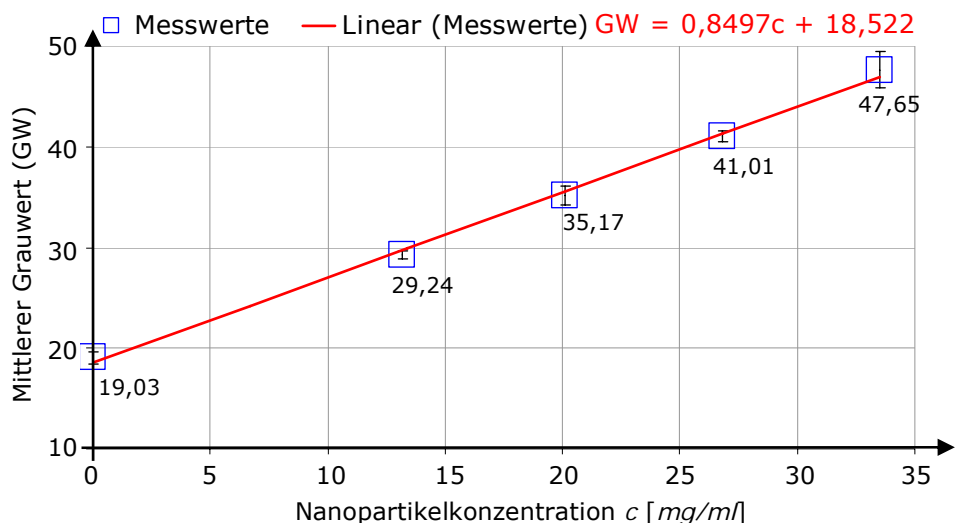


Abbildung 7.9 Kalibrationsgerade für die polychromatische  $\mu$ CT-Anlage LeTo für folgende Einstellungen: eine Beschleunigungsspannung von 50 kV, einen Emissionsstrom von 1 mA sowie eine optische Vergrößerung von 1,48.

Ein deutlicher linearer Zusammenhang ist zwischen der Partikelkonzentration und der Röntgenschwächung zu erkennen.

Die experimentell ermittelte Kalibrationsgerade wurde zwischen dem Grauwert für reines PUR-Gel und den Grauwerten für PUR-Ferrofluid-Gele unterschiedlicher Nanopartikelkonzentrationen linear gefittet. Die daraus resultierende Geradengleichung wurde für die Ermittlung weiterer mittlerer Grauwerte in Abhängigkeit der Partikelkonzentration verwendet. Die Kalibrationsgerade ist zusammen mit den experimentell ermittelten Grauwerten in Abbildung 7.9 dargestellt.

### 7.2.2 SR $\mu$ CT

Die polychromatischen Daten können mit den monochromatischen Daten verglichen und validiert werden. Dafür wurde eine PUR-Kalibrationsprobe mit mehreren Nanopartikelkonzentrationen präpariert. Für diesen Zweck sind aus PUR-Gelen und PUR-Ferrofluid-Gelen mit unterschiedlichen Nanopartikelkonzentrationen definierte Zylinder mit 2,6 mm Höhe gegossen worden. Dies entspricht in etwa der verfügbaren Strahlhöhe. Die Gel-Zylinder wurden anschließend gestapelt und fixiert, wie in Abbildung 7.10 fotografisch dargestellt. Somit konnte je Scanhöhenstufe eine Nanopartikelkonzentration vermessen werden. Auf diese Weise konnten sechs Referenzproben in einem, aus sechs zusammenhängenden Höhenstufen bestehenden, Scan auch zeitlich optimiert vermessen werden, da der Probenwechsel und die damit einhergehende Justage entfielen. Der Proben Durchmesser betrug 10 mm, so dass eine optische Vergrößerung von 2 bis 4, in Abhängigkeit der Strahlbreite, eingestellt werden konnte.



Abbildung 7.10 Phantom für die SR $\mu$ CT-Anlage, bestehend aus sechs PUR-Ferrofluid-Gelen.

Der tomographische Scan ist an der Tomographieanlage der HZG an der BWII-Beamline am DESY bei einer Energie von 17 keV durchgeführt worden. Dabei betrug die optische Vergrößerung 2,5. Die Vermessung wurde unter einem einfachen Binning durchgeführt. Die Gegebenheit des optischen Systems ermöglichte dabei eine räumliche Auflösung von 4,5  $\mu$ m.

Im Rahmen der Auswertung sind ebenfalls die mittleren Grauwerte zu jeder Nanopartikelkonzentration ermittelt worden. Diese sind in Abbildung 7.11 in einer Kalibrationsgeraden für die synchrotronbasierten Messungen bei oben genannten Rahmenbedingungen zusammengefasst.

Durch den linearen Fit konnte auch hier eine Kalibrationsgleichung ermittelt werden, die im folgenden Abschnitt zur Kalibration von 3-dimensionalen SR-Datensätzen eingesetzt wird.

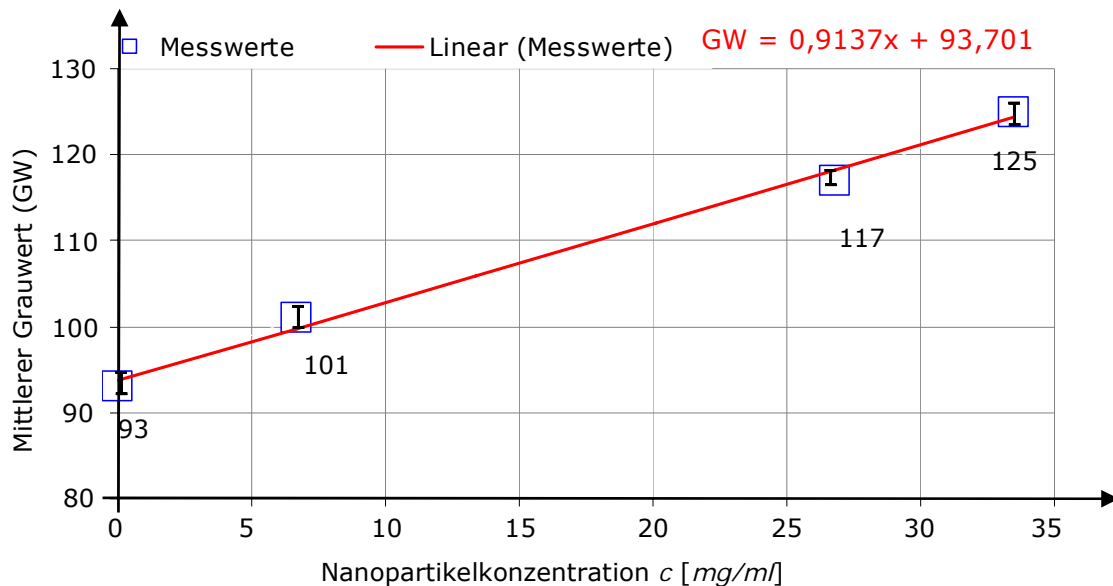


Abbildung 7.11 Kalibrationsgerade für die synchrotronbasierte Tomographiekamera des HZG.

### 7.2.3 Wasserphantom - Kalibration der Tomographieanlage Le-To auf Hounsfieldeinheiten

In der medizinisch radiographischen Bildgebung sind die CT-Scanner überwiegend auf Hounsfieldeinheiten kalibriert. Um die Graustufen der Ergebnisse der Mikrocomputertomographie einem weiteren Publikum zu eröffnen, kann die verwendete  $\mu$ CT-Anlage mit Hilfe von so genannten Wasserphantomen auf Hounsfieldeinheiten kalibriert werden.

In den röntgentomographischen Datensätzen werden Schwächungswerte  $\mu$  aus der Gleichung (3.5) als Grauwerte dargestellt. Dabei entspricht  $I(x)$  der geschwächten Intensität,  $I_0$  der ungeschwächten Intensität der Strahlung und  $x$  der Weglänge der Strahlung durch das Objekt. In der medizinischen Bildgebung hat sich ein Vorschlag von Hounsfield durchgesetzt, die Schwächungswerte in eine dimensionslose Einheit umzurechnen und diese dabei auf Wasser zu beziehen.

Der Umrechnung liegt der folgende Zusammenhang zugrunde:

$$CT - Wert = \frac{\mu - \mu_{Wasser}}{\mu_{Wasser}} \cdot 1000. \quad (6.5)$$

Die dabei entstehende Einheit ist nach dem Erfinder der tomographischen Bildgebung benannt – Hounsfield Units [HU] oder Hounsfield Einheiten [HE]:

$$[CT - Wert] = HU \text{ oder } HE. \quad (6.2)$$

Bei dieser Skalierung erhält Luft den Wert -1000 HE und Wasser den Wert 0 HE. Theoretisch ist die Skala nach oben hin offen, in der medizinisch radiographischen Praxis hat sich der Wert von 3000 HE als obere Grenze von 12-Bit Datensätzen eingebürgert. Abbildung 7.12 stellt die HE-Werte für 12-Bit Datensätze für einige Gewebebeispiele dar [Buzug 2004, S. 404f.].

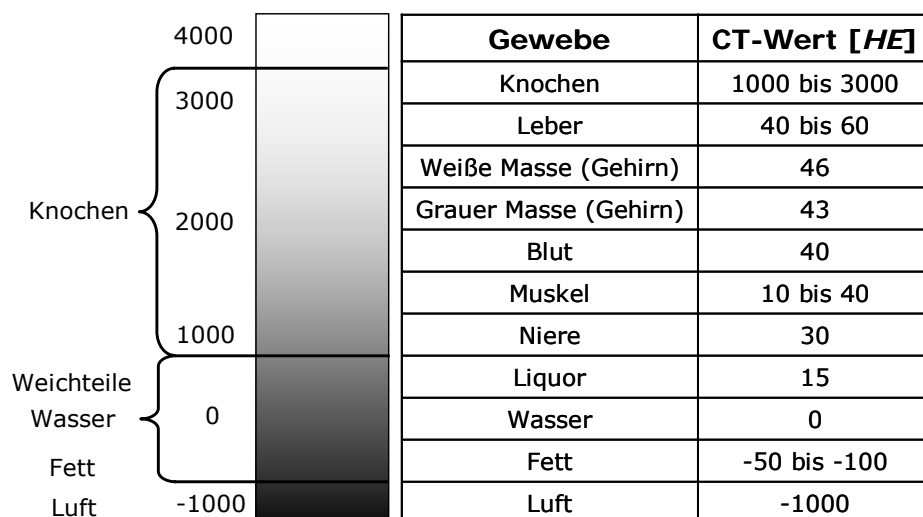


Abbildung 7.12 HE-Werte für 12-Bit Datensätze [Buzug 2004, S. 404f.].

Es gibt eine Reihe von Firmen, die sich auf die Herstellung von Kalibrationsproben für CT-Anlagen spezialisiert haben, zum Beispiel „Quality Assurance in Radiology and Medicine – QRM“. QRM bietet eine Reihe von Phantomkörpern sowohl für konventionelle medizinische CT-Scanner als auch für  $\mu$ CT-Anlagen an. Dazu gehören sowohl ein Phantom für die MTF-Bestimmung als auch ein Wasserphantom, wie in Abbildung 7.13 dargestellt [QRM 2010].

Das Wasserphantom ist ein zylindrischer Hohlkörper aus Polymethylmethacrylat (PMMA) mit einer Wanddicke von 0,3 mm. Der Innenraum ist mit destilliertem Wasser gefüllt. Die Phantome können je nach Anfrage in unterschiedlichen Durchmessern hergestellt werden und kosten zwischen 500 und 700 €.

Ein QRM-MikroCT-Wasserphantom wurde als Beispiel für eine Eigenentwicklung solch eines Phantoms verwendet. Der Phantomkörper hat eine integrierte Probenhalterung, die direkt in die Probenaufnahme der verwendeten Anlagen eingespannt werden kann. Dadurch steht der Probenkörper in einer Achse mit der Rotationsachse, wodurch die Verwischungsartefakte minimiert werden können, die aufgrund von unzureichender Justage von Rotations- sowie Rekonstruktionszentrum entstehen.

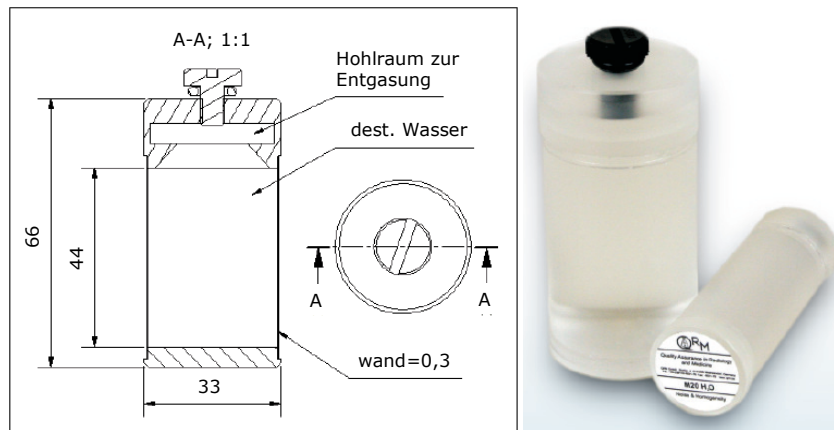


Abbildung 7.13 „MikroCT-Wasserphantom“ von QRM. Das Grundmaterial ist PMMA, die Wanddicke beträgt 0,3 mm, Durchmesser 20 bis 32 mm, Gesamtlänge 66 mm, Innenlänge 44 mm, Gewicht 20 g [QRM 2010].

Das Wasserphantom kann auch als Luftphantom verwendet werden, indem der Probenkörper nur bis zur Hälfte mit destilliertem Wasser gefüllt wird. So können mit einer tomographischen Messung gleichzeitig Schwächungswerte für Luft und Wasser ermittelt werden. Eine Fotografie und die technische Zeichnung des konstruierten Wasser-Luftphantoms sind in Abbildung 7.14 zu sehen.

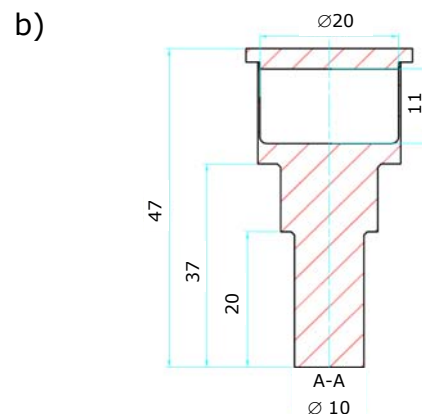


Abbildung 7.14 a) Fotografien der Wasser-Luft-Phantome. b) Technische Zeichnung des Wasser-Luft-Phantoms mit einem Durchmesser von 20 mm.



Für die Kalibration der Tomographieanlage LeTo auf Hounsfieldeinheiten wurden die Phantome bis zu einer Höhe von 5 mm mit destilliertem Wasser gefüllt und tomographisch bei gleicher Belichtungszeit, konstantem Photonenfluss und unterschiedlichen Beschleunigungsspannungen von 30, 40 und 50 kV vermessen.

Nach der Rekonstruktion sind die tomographischen Datensätze mit ImageJ ausgewertet worden. Dazu wurden die mittleren Grauwerte in Luft und Wasser bestimmt. Anschließend sind die Grauwerte bei verschiedenen Beschleunigungsspannungen für Luft als -1000 und die Grauwerte für Wasser als 0 definiert worden. Die Werte wurden als Geraden aufgetragen. Die ermittelten Geradengleichungen liefern die Grundlage für die Korrelation von Grauwerten und Hounsfieldeinheiten. Die entsprechende Grafik für die Beschleunigungsspannungen von 30, 35, 40, 45 und 50 kV ist in Abbildung 7.15 dargestellt.

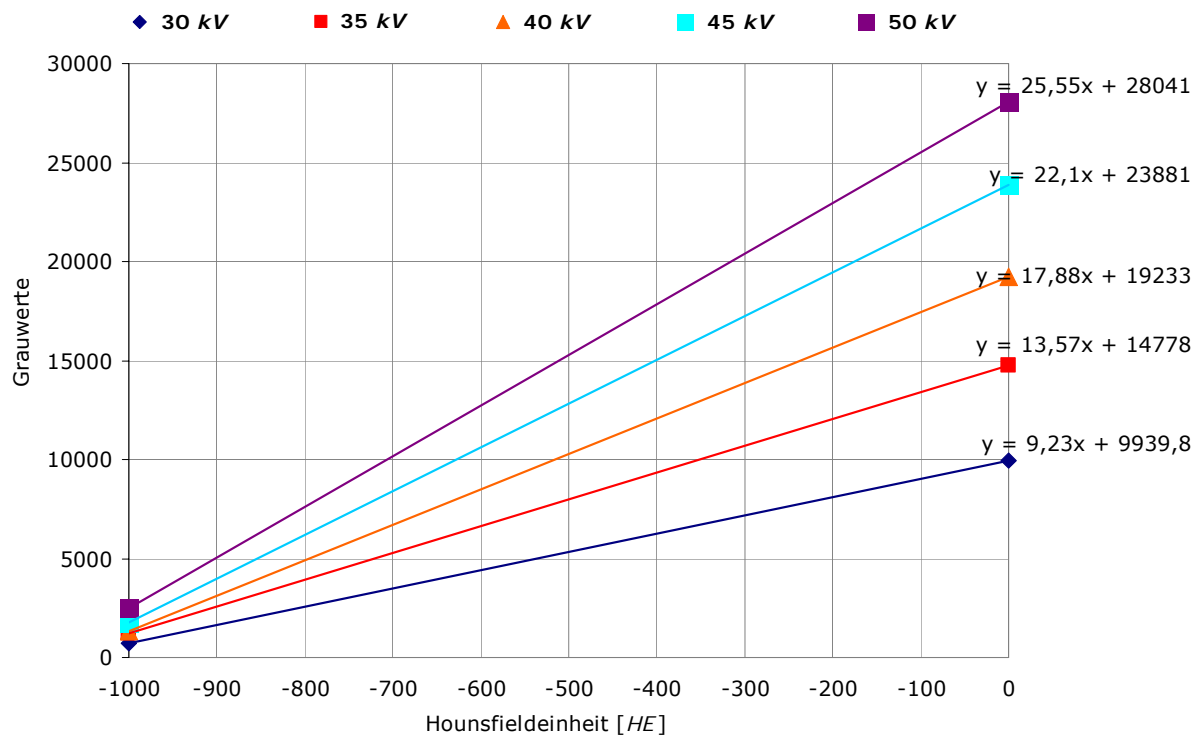


Abbildung 7.15 Korrelation von Grauwerten und Hounsfieldeinheiten für die Beschleunigungsspannungen 30, 35, 40, 45 und 50 kV.

Im Folgenden werden die ermittelten Kalibrierkurven für biologisches Gewebe mit Nanopartikeln sowohl auf polychromatische als auch auf monochromatische tomographische Datensätze angewendet. Im Anschluss daran wird ein Beispiel der Anwendung von Kalibrationskurven für die Umrechnung von polychromatischen Daten in Hounsfieldeinheiten gezeigt.

## 7.3 Applikation der Kalibrationsgeraden

### 7.3.1 Anwendung der Kalibrationsgeraden für $X_{\mu}$ CT-Datensätze

Der nächste Schritt ist die Anwendung der aus der Kalibration ermittelten Konzentrationswerte auf reale biologische Gewebeproben. Dazu wurde ein Tumor nach magnetischem Drug Targeting, der zwecks Haltbarkeit und Handhabung in Paraffin eingebettet ist, unter den gleichen Rahmenbedingungen wie die Kalibrationsphantome vermessen und rekonstruiert. Die anschließende manuelle Analyse wurde mittels der Software ImageJ durchgeführt. Zunächst wurde eine 2-dimensionale tomographische Schicht betrachtet. Aus dieser Schicht wurde wiederum ein Bereich ausgewählt, der eine einheitlich hohe Graustufeninhomogenität aufwies.

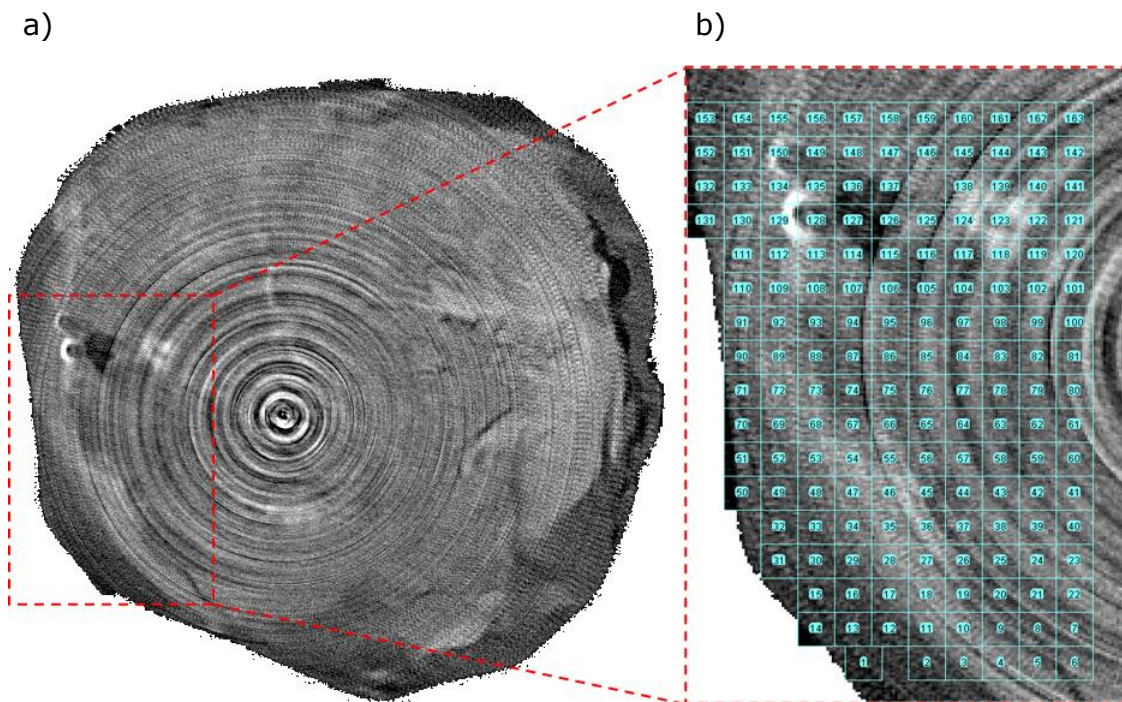


Abbildung 7.16 a) Ausgewählte Tumorschicht aus der 3-dimensionalen Repräsentation eines Tumors nach magnetischem Drug Targeting. b) Abtastraster für die diskrete Ermittlung der mittleren Grauwerte und damit für die Nanopartikelkonzentrationen. Jede quadratische Fläche ist  $14 \mu\text{m}^2$  groß.

In Abbildung 7.16a) ist die entsprechende Schicht zu sehen. Die rote Markierung kennzeichnet den für die Untersuchung ausgewählten Bereich. In der Analyse

wurden mit ImageJ in dem gekennzeichneten Areal diskret die mittleren Graustufen ermittelt. Das dazugehörige Abtastraster ist in Abbildung 7.16b) zu sehen. Entsprechend der Kalibrationskurve kann den ermittelten Grauwerten eine Nanopartikelkonzentration manuell zugewiesen werden. Für die bessere Visualisierung wurde in Excel ein Makro programmiert, welches eine farbliche Kennzeichnung der zugewiesenen Konzentration in den diskreten Bereichen ermöglicht. Das dabei entstandene Diagramm mit den zugeordneten Nanopartikelkonzentrationen ist in Abbildung 7.17a) zu sehen. Die Farbtafel in Abbildung 7.17b) zeigt die den Nanopartikelkonzentrationen zugewiesene Farben.

Diese manuelle Auswertung hat gezeigt, dass eine Grauwertzuweisung zu Nanopartikelkonzentrationen prinzipiell durchgeführt werden kann.

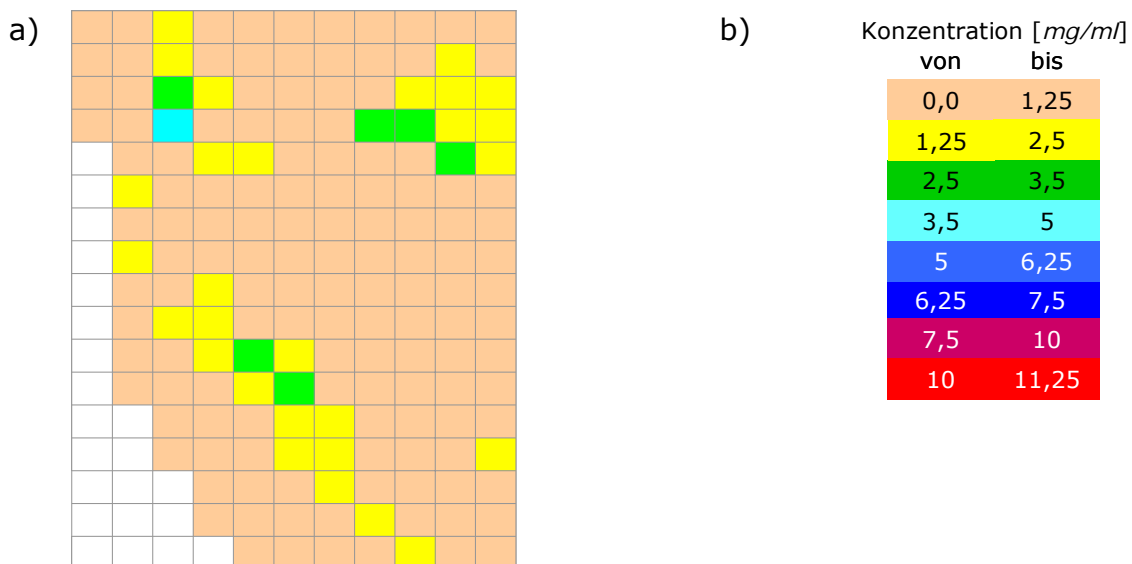
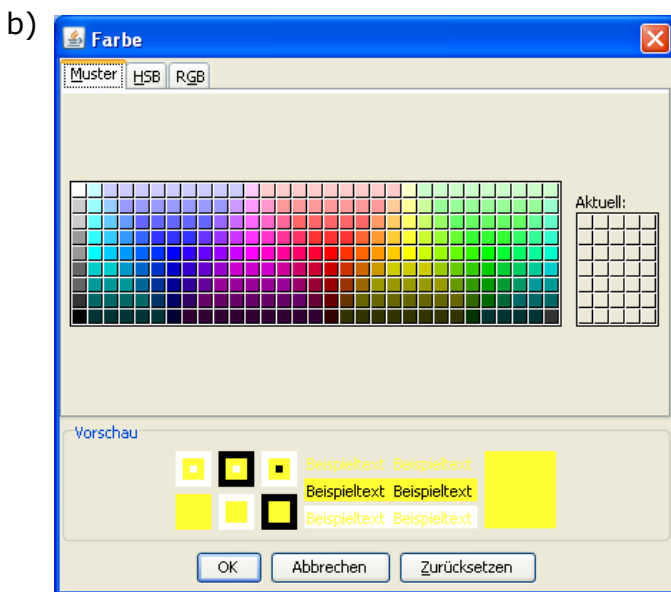
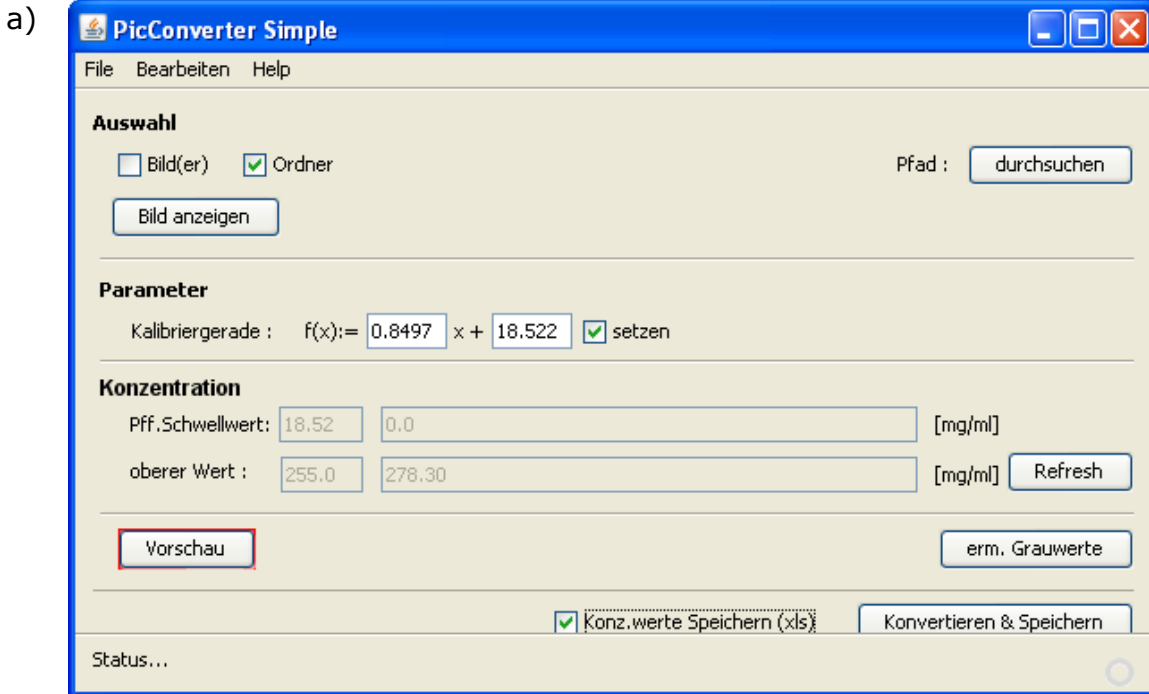


Abbildung 7.17 a) Nanopartikelkonzentrationen in dargestellter Auswahl einer Tumorschicht aus Abbildung 7.16. b) Farbkodierung zu den ermittelten Nanopartikelkonzentrationen.

Darauf aufbauend ist eine Software für die Applikation der Kalibrationsgeraden auf tomographische Datensätze entwickelt worden. Diese Software ermöglicht die oben beschriebene Auswertungsprozedur automatisiert und 3-dimensional durchzuführen. Die Software lässt das Einlesen von einzelnen tomographischen Schichten als auch von Bilder-Stacks zu. Vor der Applikation der Kalibrationsgleichung können Konzentrationsbereiche definiert und diesen Farben zugewiesen werden. Nach dem Einlesen des Datensatzes kann die Kalibrationsgerade in einem Konvertierungsverfahren auf die Graustufen des digitalen Datensatzes angewendet werden. Nach der Konvertierung wird eine Excel-Tabelle geschrieben, in der die Gesamtkonzentration pro Schicht erfasst wird. Im letzten Schritt erfolgt die Ausgabe von 2-dimensionalen Schichtbildern, die mit Hilfe von ImageJ und VolumeGraphics als 3-dimensionale Repräsentationen des Objektes wieder-

gegeben werden können. Die Bedienoberfläche der Software, das Tool der Farbauswahl, ein Beispiel zu Konzentrationsbereichen und die gewählten Farben sind in Abbildung 7.18 zu sehen.



c)

Konzentration [mg/ml]			
von	bis	von	bis
0,0	1,0	14,0	15,5
1,0	2,0	15,5	17,0
2,0	4,0	17,0	18,5
4,0	6,0	18,5	20,0
6,0	8,0	20,0	22,5
8,0	9,5	22,5	25,0
9,5	11,0	25,0	27,5
11,0	12,5	27,5	30,0
12,5	14,0	30,0	32,5
14,0	15,5	32,5	35,5

Abbildung 7.18 a) Die Bedienoberfläche der entwickelten Software. b) Die Farbauswahl kann direkt per Mausklick getroffen werden. c) Ein Beispiel der Konzentrationsbereiche und der dazu gewählten Farben.

Die entwickelte Software ermöglicht im aktuellen Stadium die Anwendung von Kalibrationsgleichungen auf Datensätze von nahezu unendlicher Größe, da die Verarbeitung nicht im Stack sondern bildweise erfolgt. Der dabei maximal allo-

kierte Arbeitsspeicher beträgt 1 GB, das bedeutet das Datensätze mit einer Einzelbildgröße bis zu 1 GB verarbeitet werden können. Die Dauer der Konvertierung ist derzeit durch die Rechenleistung des verwendeten Computers begrenzt.

Die semi-quantitativ ermittelten Nanopartikelkonzentrationen sollen mit einem quantitativen Verfahren validiert werden. Dazu werden Nanopartikelkonzentrationen von Tumoren nach magnetischem Drug Targeting sowie einige Arterien-segmente verglichen, die mit MRX und kalibrierter X $\mu$ CT festgestellt worden sind. Dieser Abgleich der ermittelten Nanopartikelkonzentrationen liefert den endgültigen Nachweis zur Semi-Quantifizierung von polychromatischen tomographischen Datensätzen mittels der entwickelten Kalibrationsgeraden.

Zusätzlich wird ein am Synchrotron vermessenes Arteriensegment semi-quantitativ ausgewertet und mit demselben an der polychromatischen Tomographieanlage vermessenen Segment sowie mit dem quantitativen MRX-Wert verglichen.

### 7.3.2 Tumor 1 nach magnetischem Drug Targeting

Der in Abschnitt 6.1 beschriebene Tumor ist nach abgeschlossener Kalibration unter den exakten Bedingungen wie die Referenzphantome vermessen und rekonstruiert worden. Zuvor wurde der Tumor mit Magnetorelaxometrie vermessen, sein Nanopartikelgehalt betrug 24,46 mg.

Für die Auswertung wurde ein 3-dimensionale Datensatz als ein BMP-Stack mit Hilfe von ImageJ erstellt und anschließend mit der oben beschriebenen Software eingelesen. Nach Eingabe der Kalibrationsgleichung und der Farbauswahl konnten die in dem Datensatz enthaltenen Grauwerte in Konzentrationswerte konvertiert werden. Die 3-dimensionale Repräsentation sowie die Farbauswahl sind in Abbildung 7.19a) und c) dargestellt. Zum Vergleich ist in Abbildung 7.19b) eine Darstellung des gleichen Tumors, der qualitativ ausgewertet worden ist, gezeigt. Dieser tomographische Datensatz wurde, wie in Abschnitt 6.1 beschrieben, segmentiert und farblich unterlegt.

Bei beiden Repräsentationen desselben Tumors ist der Trend der Nanopartikelakkumulation vergleichbar. Die größte Anreicherung fand in den Randbereichen des Tumors statt, während im Inneren des Tumors kaum bis gar keine Anhäufung zu finden ist. Dies korrespondiert mit der Aussage, dass diese Art von Tumoren schnell wachsend ist und daher die Blutversorgung im Tumorerinneren nicht mehr gewährleistet werden kann, so dass sich ein nekrotischer Kern im Tumor bildet. Die semi-quantitative Auswertung von Tumor 1 ergab einen Nanopartikel-

gehalt von 20,85 mg. Der auf eben diese Weise ermittelte Nanopartikelgehalt im Tumor 1 weicht von dem absoluten MRX-Wert von 24,46 mg um 14,76 % ab.

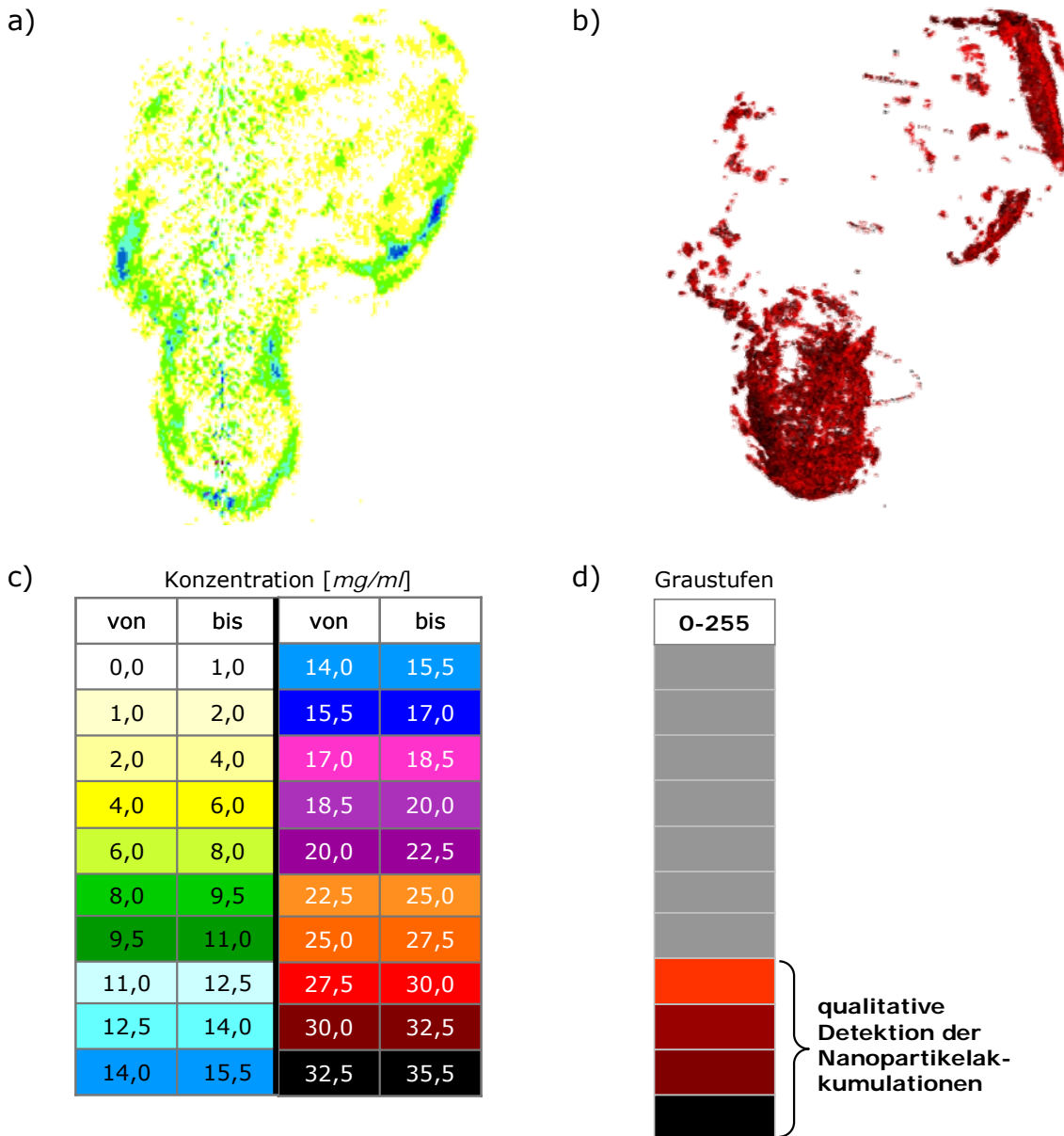


Abbildung 7.19 a) 3-dimensionale Darstellung des semi-quantitativ ausgewerteten Tumors 1 mit c) entsprechender Farbtafel und Konzentrationsbereichen. b) 3-dimensionale Darstellung des qualitativ ausgewerteten Tumors 1, d) dabei geben die Farben rot bis schwarz eine ungefähre Akkumulation der Nanopartikel wieder.



Auch dieser Tumor hat eine überwiegende Anreicherung in den äußeren Regionen, was auf den nekrotischen Kern hinweist. Der semi-quantitativ ermittelte Nanopartikelgehalt beträgt 24,41 *mg*. In diesem Fall beträgt die Abweichung 2,36 % zum MRX-Ergebnis von 25 *mg*.

#### 7.3.4 Arteriensegment 1 aus dem ex-vivo Arterienmodell – monochromatisch

In den folgenden Abschnitten 7.3.4 bis 7.3.6 werden Arteriensegmente vorgestellt, die sowohl polychromatisch als auch monochromatisch vermessen wurden. Zusammenfassend werden die semi-quantitativen Ergebnisse beider Vermessungsarten in einer Tabelle gegenübergestellt.

Die polychromatischen tomographischen Untersuchungen wurden an der Tomographieanlage LeTo durchgeführt, die qualitativen Ergebnisse sind ebenfalls in Abschnitt 6.2 beschrieben. Anhand der polychromatischen und MRX-Daten ist das Segment -3 der Arterie Nr. 7 ausgewählt und am Synchrotron vermessen worden. Der Nanopartikelgehalt dieses Segmentes betrug 706,6  $\mu$ g. Für die monochromatische Messung wurde die Synchrotronkamera der Helmholtz Gesellschaft Geesthacht (HZG) an der Beamline BWII am DESY verwendet. Die Vermessung wurde bei einer Energie von 17 *keV*, einer optischen Vergrößerung von 2,5 und einer räumlichen Auflösung von 4,5  $\mu$ m durchgeführt. Aufgrund der Strahlhöhe wurde das Segment in fünf 2,5 *mm* hohen Schichten vermessen und nach der Rekonstruktion digital zusammengesetzt.

Die anschließende Auswertung wurde mit den oben erläuterten Werkzeugen der digitalen Datenverarbeitung – ImageJ und die selbstentwickelte Software – vorgenommen. Das Ergebnis der Kalibration ist in Abbildung 7.21a) und Abbildung 7.21d) dargestellt. Rechts daneben – in Abbildung 7.21c) und in Abbildung 7.21e) – sind die gerenderten 3-dimensionalen Darstellungen des Arteriensegments zu sehen. Die qualitative farbliche Untermalung der Graustufen entspricht der Farbgebung in den histologischen Schnitten: rosé stellt das biologische Gewebe und blau die magnetischen Nanopartikel dar. In Abbildung 7.21b) sind die Farbtabelle sowie die gewählten Konzentrationsbereiche abgebildet.

Die Analyse dieser unterschiedlich ausgewerteten Datensätze des gleichen Arteriensegments ergibt, dass eine pfropfenartige Nanopartikelakkumulation im Arterieninneren vorliegt. Weiterhin sind Anreicherungen an den Schnittkanten und den äußeren Wänden des Segments zu sehen. Diese weisen an einigen Stellen



eine Nanopartikelkonzentration von bis zu 20  $mg/ml$  auf. Der mit Hilfe der Kalibration ermittelte Gesamtnanopartikelgehalt beträgt 713,07  $\mu g$  und weicht um 0,92 % vom absoluten MRX-Wert von 706,6  $\mu g$  ab.

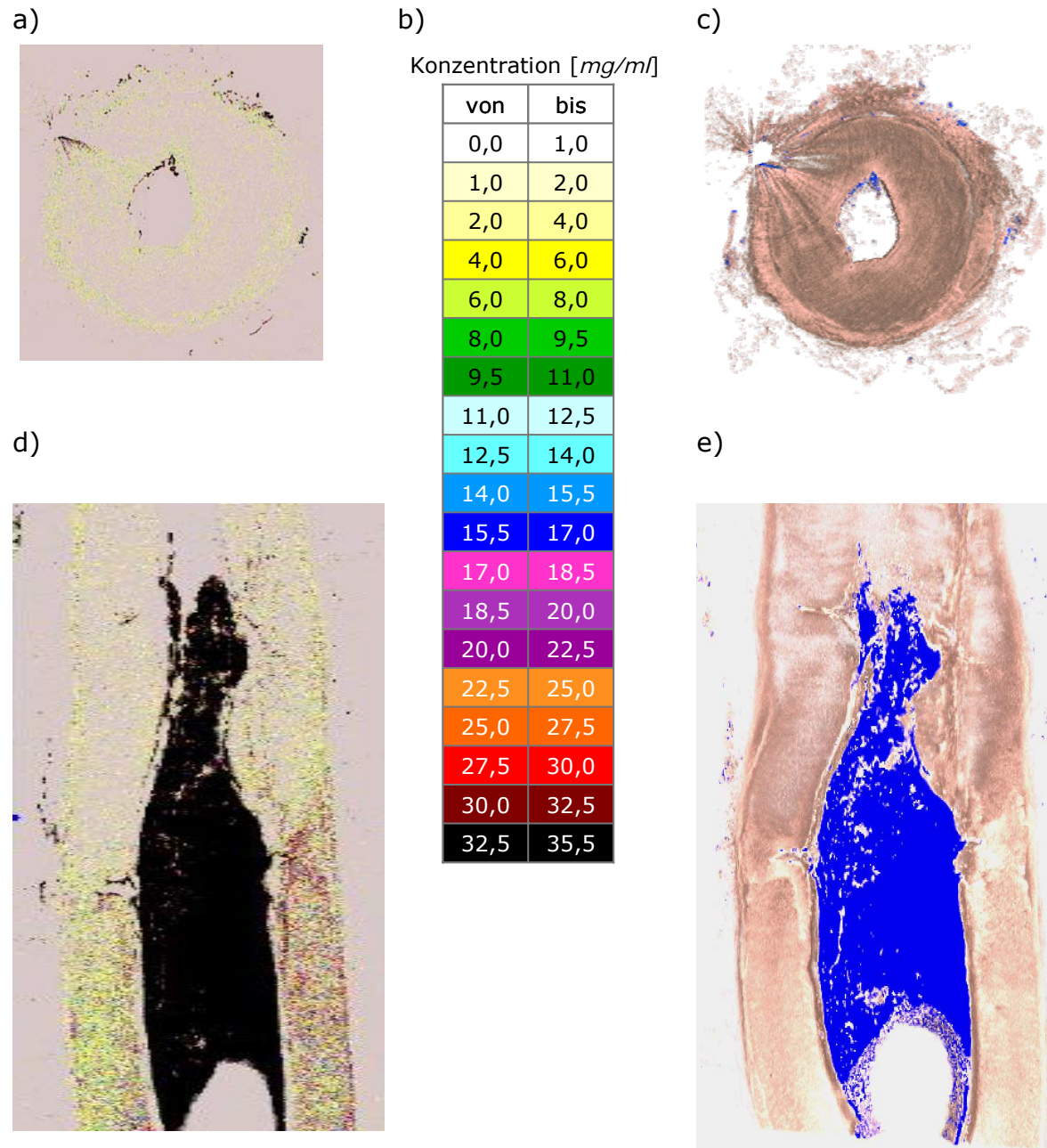


Abbildung 7.21 a) und d) 3-dimensionale Darstellungen des semi-quantitativ ausgewerteten monochromatisch vermessenen Arteriensegments. b) Die für die Kalibration verwendete Farbtabelle mit Konzentrationsbereichen. c) und e) 3-dimensionale Repräsentation des qualitativ ausgewerteten Arteriensegments. Die Farbgebung erfolgte nach der Segmentierung des Histogramms gemäß der Farbgebung im histologischen Schnitt, dabei entspricht rosé dem biologischem Gewebe und blau den magnetischen Nanopartikeln.

Stellt man eine tomographische Schicht des kalibrierten Datensatzes (Abbildung 7.22a) einem entsprechenden histologischen Schnitt (Abbildung 7.22b) gegenüber, so ist trotz der geringeren räumlichen Auflösung des  $\mu$ CT-Datensatzes eine gute Vergleichbarkeit zwischen den Daten erkennbar. Die Software ermöglicht auch die Ermittlung der Gesamtkonzentration von Nanopartikeln in einer tomographischen Schicht. Dazu werden die anhand der Kalibrationsgleichung evaluierten Konzentrationswerte in eine Excel-Tabelle geschrieben. Die Auswertung ergab, dass bei den in Abbildung 7.22 gezeigten Arterien-schichten ein Nanopartikelgehalt von 0,4, 0,43 und 0,03 mg vorlag.

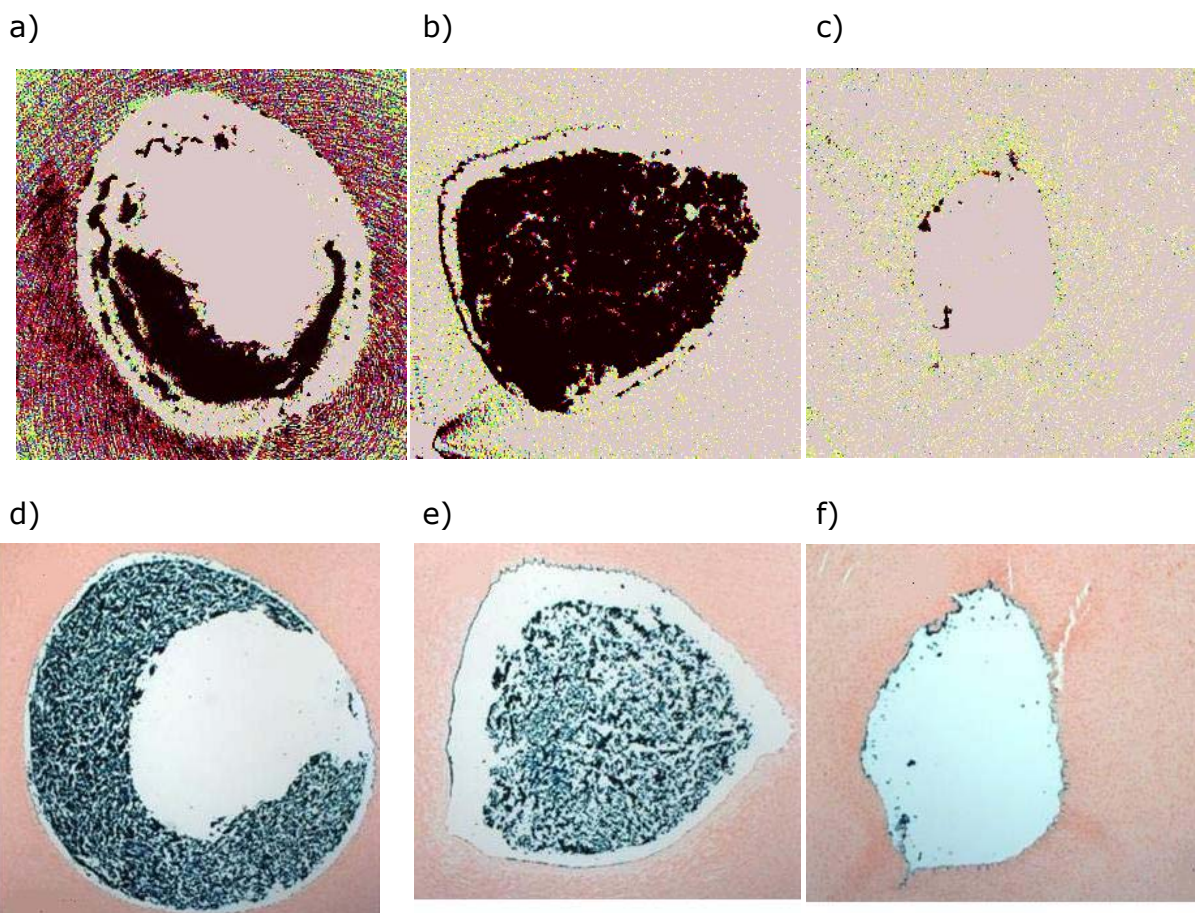


Abbildung 7.22 Vergleich von einem digitalen und histologischen Schnitt. a), c), e) Tomographische, semi-quantitativ ausgewertete Schichten des monochromatisch vermessenen Arteriensegments. b) Entsprechende histologische Schnitte, die Berliner Blau Färbung hebt die Eisenoxidnanopartikel durch die blaue Farbe hervor.

Der Nanopartikelgehalt lässt sich mit Hilfe der Histologie allein nicht ermitteln. Um diese Information zu erhalten muss solch ein histologisches Präparat zusätzlich mit MRX vermessen werden. Mit Hilfe der Kalibrationsmethode können Kon-

zentrationenwerte in den 3-dimensionalen Datensätzen sowohl insgesamt als auch schichtweise ermittelt werden.

### 7.3.5 Arteriensegment 2 aus dem ex-vivo Arterienmodell – monochromatisch

Neben dem Arteriensegment 1 wurde ein weiteres monochromatisch vermessenes Arteriensegment semi-quantitativ ausgewertet, das Segment Nr. -2 der gleichen Arterie Nr. 7. Der mit MRX ermittelte Nanopartikelgehalt für das gesamte Segment beträgt  $476,80 \mu\text{g}$ . Allerdings konnten während der Synchrotronmesszeit nur  $5,0 \text{ mm}$  des Gesamtsegments monochromatisch tomographiert werden. Daher ist eine Diskrepanz zwischen den MRX- und semi-quantitativen tomographischen Daten zu erwarten.

Abbildung 7.23 zeigt einen axialen Schnitt aus dem kalibrierten a) und dem qualitativ ausgewerteten monochromatischen Datensatz b). Auch hier ist eine starke Übereinstimmung erkennbar.

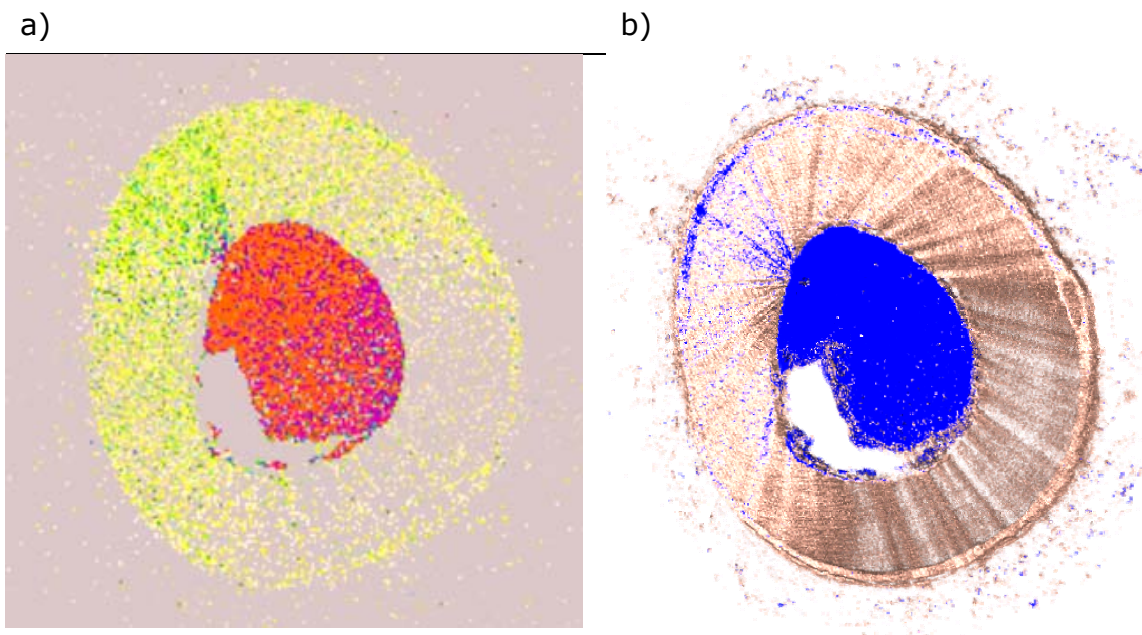
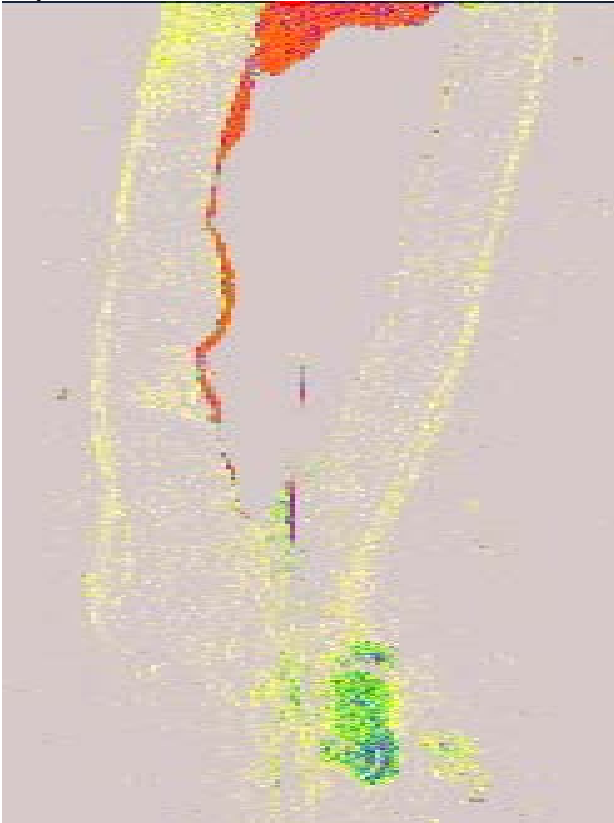


Abbildung 7.23 a) Axialer Schnitt aus dem oberen Bereich des Arteriensegments, die Farben geben unterschiedliche Konzentrationen an. Die entsprechende Farbtafel ist sowohl in Abbildung 7.21 als auch in Abbildung 7.24 zu sehen. b) Ein entsprechender axialer Schnitt des Arteriensegments. Die Farbgebung erfolgte nach der Segmentierung des Histogramms, hierbei steht rosé für das biologische Gewebe und blau für die magnetischen Nanopartikel.

In der nachstehenden Abbildung 7.24 ist ein sagitaler Schnitt durch das semi-quantitativ ausgewertetes Segment zu sehen. Hierbei wird eine starke Akkumulation im Inneren des Segments sichtbar, die teilweise eine Nanopartikelkonzentration von 20 bis 30  $mg/ml$  aufweist.

a)



b)

Konzentration [ $mg/ml$ ]			
von	bis	von	bis
0,0	1,0	14,0	15,5
1,0	2,0	15,5	17,0
2,0	4,0	17,0	18,5
4,0	6,0	18,5	20,0
6,0	8,0	20,0	22,5
8,0	9,5	22,5	25,0
9,5	11,0	25,0	27,5
11,0	12,5	27,5	30,0
12,5	14,0	30,0	32,5
14,0	15,5	32,5	35,5

Abbildung 7.24 a) Sagitaler Schnitt durch die 3-dimensionale Darstellung des semi-quantitativ ausgewerteten 2. Arteriensegments. b) Die für die farbliche Visualisierung verwendete Farbtabelle.

Die semi-quantitative Bestimmung des Nanopartikelgehalts in diesem 5 mm langen Teilstück des Segments ergab 153,13  $\mu g$ . Die Abweichung von 67,95 % war zu erwarten, da nur 45 % des Segments am Synchrotron vermessen werden konnten, während die MRX-Daten sich auf das Gesamtsegment beziehen.

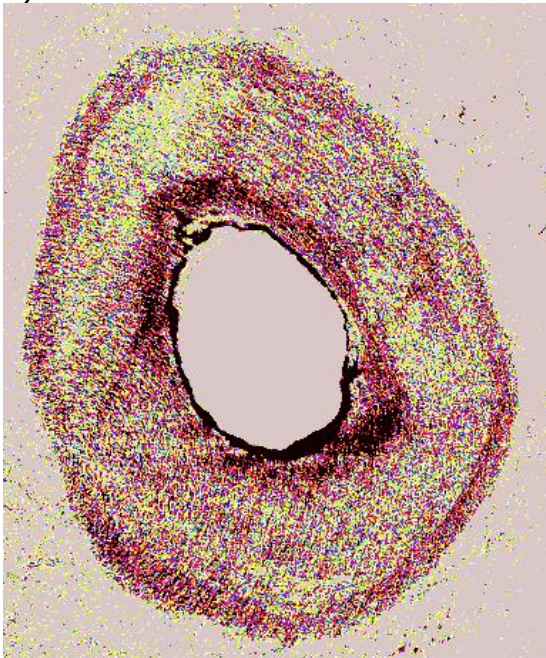
### 7.3.6 Arteriensegment 3 aus dem ex-vivo Arterienmodell – monochromatisch und polychromatisch

Als abschließender Nachweis für die Leistungsfähigkeit der Kalibration wird ein Vergleich zwischen einem monochromatischen und einem polychromatischen Datensatz desselben Arteriensegments vorgestellt. Es handelt sich um das Arterien-

segment Nr. -2 der Arterie RAB015. Die MRX-Messungen ergaben einen Nanopartikelgehalt von  $411,34 \mu\text{g}$ .

Die tomographischen Messungen wurden an der polychromatischen Tomographieanlage LeTo und die monochromatischen an der Synchrotron-Kamera der HZG an der Beamline BWII am DESY durchgeführt. Aufgrund der zeitlichen Begrenzung der Messzeit konnten monochromatisch nur  $7,5 \text{ mm}$  aus dem unteren Teil des Segments vermessen werden. Die polychromatische Vermessung wurde sowohl am gleichen Areal sowie am Gesamtsegment durchgeführt. Eine tomographische Schicht des kalibrierten monochromatischen Datensatzes ist in Abbildung 7.25 zu sehen. Es ist deutlich erkennbar, dass die Intima stellenweise hochgradig mit magnetischen Nanopartikeln beladen ist.

a)



b)

Konzentration [ $\text{mg/ml}$ ]			
von	bis	von	bis
0,0	1,0	14,0	15,5
1,0	2,0	15,5	17,0
2,0	4,0	17,0	18,5
4,0	6,0	18,5	20,0
6,0	8,0	20,0	22,5
8,0	9,5	22,5	25,0
9,5	11,0	25,0	27,5
11,0	12,5	27,5	30,0
12,5	14,0	30,0	32,5
14,0	15,5	32,5	35,5

Abbildung 7.25 a) Axialer Schnitt durch die 3-dimensionale Darstellung des semi-quantitativ ausgewerteten 3. Arteriensegments. b) Verwendete Farbtabelle und Konzentrationsbereiche.

Die semi-quantitative Auswertung ergab für den monochromatischen Datensatz einen Nanopartikelgehalt von  $288,25 \mu\text{g}$ . Für das polychromatisch vermessene gleiche Teilstück wurde ein Nanopartikelgehalt von  $292,84 \mu\text{g}$  festgestellt. Die auf das Maximum von  $411,34 \mu\text{g}$  bezogene Abweichung des semi-quantitativ ausgewerteten monochromatischen Datensatzes beträgt  $29,86 \%$ , die des polychromatischen Tomogramms  $28,81 \%$ . Betrachtet man die Gesamtlänge des polychromatisch vermessenen Segments, so ergab die Auswertung einen Nanopartikelgehalt von  $405,70 \mu\text{g}$  mit einer Abweichung von  $1,36 \%$  von den MRX-Daten.

Dieser Vergleich von kalibrierten polychromatischen Daten und MRX-Daten zeigt, dass eine echte Semi-Quantifizierung des Nanopartikelgehalts in biologischen Gewebeproben vorgenommen werden kann.

Für alle hier gezeigten biologischen Gewebeproben ist der Gesamtanteil der magnetischen Nanopartikel bestimmt worden. Die im Folgenden aufgeführte Tabelle 7.5 fasst die mit MRX gemessenen quantitativen und die mittels Kalibration semi-quantitativ ermittelten Ergebnisse bezüglich des Nanopartikelgehaltes zusammen.

Tabelle 7.5 Nanopartikelgehalt in biologischen Gewebeproben ermittelt aus quantitativer MRX-Vermessung und semi-quantitativer Kalibration. Die prozentualen Werte geben den tomographisch vermessenen Anteil des Arteriensegments wieder.

Probe	quantitativer Nanopartikelgehalt [mg]				
	MRX [mg]	X $\mu$ CT [mg]	Abweichung (%)	SR $\mu$ CT [mg]	Abweichung (%)
Tumor 1	24,46	20,85	14,76	-	-
Tumor 2	25	24,41	2,36	-	-
	MRX [ $\mu$ g]	X $\mu$ CT [ $\mu$ g]	Abweichung (%)	SR $\mu$ CT [ $\mu$ g]	Abweichung (%)
Arterie 1 (RA007 -3) (11 mm = 100 %)	706,6	-	-	713,07	0,92
Arterie 2 (RA007 -2) (5 mm = 45,45 %)	476,80	-	-	153,13	67,9
Arterie 3 (RAB015 -2) (7,5 mm = 68,18 %)	411,34	292,84	28,81	288,25	29,86
Arterie 3 (RAB015 -2) (11 mm = 100 %)	411,34	405,73	1,36	-	-

Die entwickelte Kalibrationsmethode ermöglicht eine semi-quantitative Auswertung von polychromatisch und monochromatisch vermessenen biologischen Objekten, welche mit magnetischen Nanopartikeln angereichert sind. Dies konnte an je zwei polychromatisch sowie monochromatisch vermessenen Objekten sowie an einem sowohl monochromatisch als auch polychromatisch tomographierten Objekt repräsentativ erfolgreich nachgewiesen werden.

### 7.3.7 Umrechnung in HE-Werte

Für die Anwendung der Grauwerte-Hounsfield-Einheiten-Korrelation ist ein Datensatz einer tumortragenden Maus nach magnetischer Wärmebehandlung verwendet worden. Die Maus ist ein weniger homogenes Objekt als ein PUR-Gel und bietet einen größeren Grauwerte- und dementsprechend einen breiteren Hounsfield-Einheiten-Bereich. Sie wurde in Rahmen dieser Arbeit mit MRX und  $X\mu$ CT vermessen. Für die räumliche Überlagerung von unterschiedlichen Messsignalen wurden an der Maus an zwei Stellen Kupferklemmen angebracht. Diese sind deutlich in dem in Abbildung 7.26 gezeigten tomographischen Datensatz zu erkennen.

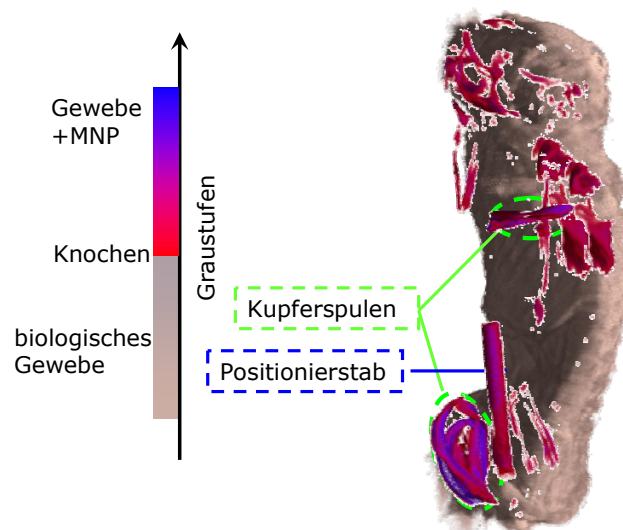


Abbildung 7.26 3-dimensionale Repräsentation einer tumortragenden Maus.

Die Maus wurde bei einer Beschleunigungsspannung von 50 kV vermessen. Abbildung 7.27 zeigt das Histogramm dieser Maus. In diesem sind sowohl Grauwerte als auch Hounsfield-Einheiten aufgetragen. Anhand der für fünf Beschleunigungsspannungen ermittelten Kalibrationsgleichungen können die graustufenbasierten tomographischen Datensätze in Hounsfield-Einheiten umgerechnet werden.

Mit der Umrechnung von Grauwerten auf Hounsfield-Einheiten eröffnet sich ein weiterer Überschneidungspunkt zwischen der technischen Bildgebung mit der röntgentomographischen medizinischen Bildgebung. Mit Hilfe dieser Kalibration ist der Vergleich von mikrotomographischen Datensätzen mit einer Bildtiefe von 8 bis 16-Bits mit den auf Hounsfield Einheiten vorkalibrierten Datensätzen möglich. So können zum Beispiel die an der  $\mu$ CT-Anlage LeTo generierten Datensätze

mit den an medizinischen CT-Scannern erstellten Datensätzen verglichen werden.

Die Kalibration der  $\mu$ CT-Anlagen auf Hounsfield Einheiten ist ein zusätzliches Angebot für medizinische Kooperationspartner. Die  $\mu$ CT-Daten von biologischen Gewebeproben können damit bei Bedarf in [HE] zur Verfügung gestellt werden.

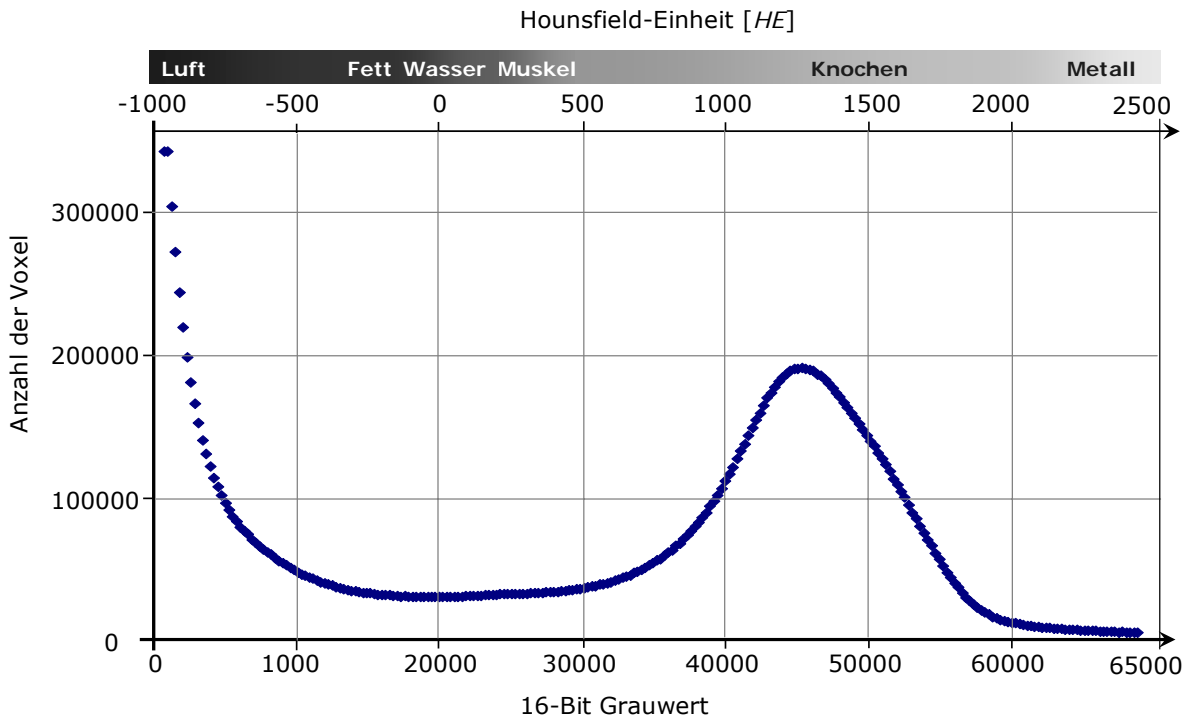


Abbildung 7.27 Histogramm der oben gezeigten Maus, die X-Achsen führen sowohl 16-Bit Grauwerte als auch Hounsfield-Einheiten an.

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass mittels Kalibration eine Semi-Quantifizierung an monochromatischen und vor allem an polychromatischen tomographischen Datensätzen möglich ist. In der folgenden Zusammenfassung werden die wichtigsten Aspekte dieser Arbeit zusammengefasst. Der Ausblick liefert einige Beispiele zur Verbesserung von tomographischen Aufnahmen und damit einhergehender Kontraststeigerung.



# 8 Zusammenfassung und Ausblick

## 8.1 Zusammenfassung

Das Kernziel dieser Arbeit war die detaillierte räumliche Untersuchung der Verteilung magnetischer Nanopartikel in biologischen Gewebeproben nach minimal-invasiven Krebstherapien wie dem magnetischen Drug Targeting und der magnetischen Wärmebehandlung.

Die dabei verwendete Messtechnik war die Mikrocomputertomographie. Die tomographischen Vermessungen sind überwiegend an der polychromatischen  $\mu$ CT-Apparatur LeTo, die am Lehrstuhl für Magnetofluidynamik der TU Dresden in Betrieb ist, durchgeführt worden.

Eine auf Synchrotronstrahlung basierende  $\mu$ CT-Kamera DiTo wurde im Laufe der Arbeit aufgebaut und in Betrieb genommen. Diese Tomographieanlage ermöglicht die Erstellung von Tomogrammen mit einer derzeit erreichbaren räumlichen Auflösung von  $4,9 \mu\text{m}$ . Aufgrund der monochromatischen Synchrotronstrahlung weisen die Datensätze eine hohe Dichteauflösung zwischen dem biologischen Gewebe und den magnetischen Nanopartikeln auf. Diese Tatsache ermöglicht eine sehr zuverlässige qualitative Auswertung der tomographischen Datensätze kontrastarmer Objekte. Aufgrund der begrenzten Synchrotronmesszeit konnten im Rahmen der Arbeit nur einige wenige ausgewählte Objekte vermessen werden.

Die Tomographie-Apparatur LeTo ist für 2000 Stunden pro Jahr für Messungen verfügbar und ermöglicht damit zum Beispiel Serienuntersuchungen an Arteriensegmenten. Des Weiteren ist eine Reihe von Vermessungen an Tumorproben und tumortragenden Tieren durchgeführt worden. LeTo wurde ebenfalls für die Vorcharakterisierung von Objekten verwendet, die am Synchrotron vermessen werden sollten. Somit konnten die Synchrotronmesszeiten optimal genutzt werden.

Der Hauptnachteil von LeTo ist die polychromatische Natur der Röntgenstrahlung, die eine quantitative Auswertung bei kontrastarmen Multiphasenobjekten, wie zum Beispiel biologischen Gewebeproben mit Magnetitpartikeln, nahezu unmöglich macht. Die mit Polychromasie einhergehenden Artefakte wurden in Abschnitt 3.9 beschrieben. Die 3-dimensionalen Datensätze konnten ausschließlich

qualitativ ausgewertet werden. Nichtsdestotrotz konnten verschiedenartige Objekte wie Tumore, Rinderarteriensegmente und tumortragende Mäuse qualitativ im Hinblick auf die Biodistribution magnetischer Nanopartikel untersucht werden. Die ermittelten 3-dimensionalen Daten konnten mit hinreichender Genauigkeit mit 2-dimensionalen histologischen sowie 1-dimensionalen magnetorelaxometrischen Daten verglichen werden.

Um die polychromatischen und monochromatischen Daten semi-quantitativ auswerten zu können, wurde eine Kalibration sowohl der polychromatischen Tomographieanlage LeTo als auch der Synchrotronkamera an der BWII-Beamline am DESY durchgeführt. Hierzu ist im Verlauf der Arbeit ein spezielles Phantomsystem entwickelt worden. Dieses besteht aus einem radiographischen Gewebeerersatzmaterial – Polyurethan-Gel – und magnetischen Nanopartikeln. Das PUR-Gel ist langzeitstabil und kann zur Kalibration von mehreren Röntgentomographieanlagen verwendet werden.

Als Phantomkörper wurden PUR-Quader mit unterschiedlichen Nanopartikelkonzentrationen von 0 bis 33,49  $mg/ml$  hergestellt. Die Referenzproben wurden bei gleichen Bedingungen vermessen, rekonstruiert und ausgewertet. Aus tomographisch bestimmten mittleren Grauwerten und den mittels magnetischer Messungen bestimmten Nanopartikelkonzentrationen konnten Kalibrationsgleichungen sowohl für die polychromatischen als auch für die monochromatischen Tomographieanlagen berechnet werden.

Für die Anwendung der Kalibrationsgleichungen auf 3-dimensionale Datensätze ist eine Software entwickelt worden. Diese ermöglicht das Konvertieren von Graustufen in Nanopartikelkonzentrationen. Den unterschiedlichen Konzentrationsbereichen können mit dieser Software Farben zugewiesen werden. Die Datenausgabe ist einerseits als farblich unterlegter Bilder-Stack und andererseits in Form einer Excel-Tabelle mit berechneten Nanopartikelkonzentrationen pro tomographischer Schicht realisiert worden. Auf diese Weise können der Nanopartikelgehalt im gesamten Tomogramm, pro Schicht und in zuvor ausgewählten relevanten Bereichen des Objektes bestimmt werden.

Das Ergebnis der Kalibration ist eine semi-quantitative Aussage über den Nanopartikelgehalt in biologischen Gewebeproben nach minimal-invasiven Krebstherapien. Die Applikation der Kalibration hat gezeigt, dass sowohl die monochromatischen als auch die polychromatischen tomographischen Daten den Nanopartikelgehalt im Vergleich zu magnetorelaxometrischen Ergebnissen mit wenigen Prozent Abweichung wiedergeben. Hierbei liegt der stärkere Fokus auf den polychromatischen Datensätzen. Mittels Kalibration konnte weiterhin gezeigt werden,

dass polychromatische Datensätze trotz Polychromasie mit ausreichender Genauigkeit semi-quantitativ ausgewertet werden können. Durch den nahezu uneingeschränkten Zugang zu den  $\mu$ CT-Anlagen LeTo und TomoTU können eine hohe Anzahl von biologischen Gewebeproben qualitativ und semi-quantitativ ausgewertet werden.

Des Weiteren kann festgehalten werden, dass die Mehrheit der heute verwendeten  $\mu$ CT-Anlagen und medizinischen CT-Scanner auf Röntgenröhren basieren. Das bedeutet, dass die Semi-Quantifizierung mittels Kalibration hier ein breiteres Anwendungsfeld findet als bei den stichprobenartigen Untersuchungen an synchrotronbasierten  $\mu$ CT-Anlagen.

Das Ziel der zukünftigen Arbeiten besteht darin, den Kontrast in den röntgen-tomographischen Datensätzen zu erhöhen. Folglich kann die Unterscheidung zum Beispiel zwischen reinem biologischen Gewebe und Arealen mit geringer Nanopartikelkonzentration verbessert und damit genauer semi-quantifiziert werden. Für diesen Zweck erscheinen drei Verfahren besonders Erfolg versprechend, um die gewünschte Verbesserung der Dichteauflösung zwischen Gewebe und Gewebe mit Nanopartikelanreicherung zu erreichen. Im folgenden Abschnitt 8.2 werden diese Methoden vorgestellt.

## 8.2 Ausblick – Verbesserung der tomographischen Aufnahmen

Nachfolgend werden drei Verfahren skizziert, mit deren Hilfe zukünftig eine Verbesserung der Dichteauflösung zwischen biologischem Gewebe und Gewebe mit Magnetitnanopartikelanreicherung erreicht werden kann.

### 8.2.1 Differentielle Tomographie unter Ausnutzung der Absorptionskante

Durch Verwendung monochromatisierter Synchrotronstrahlung kann die Absorptionskante für einzelne im Untersuchungsobjekt enthaltene Materialien präzise eingestellt werden. Hierfür werden je ein Absorptionsbild bei einer Energie aufgenommen, die knapp unterhalb der tabellarisierten Absorptionskante der gesuchten Komponente liegt, sowie ein weiteres bei einer Energie, die knapp oberhalb der Absorptionskante liegt.

Abbildung 8.1 zeigt das Röntgenabsorptionsverhalten für Eisenoxid, aufgenommen mittels XAS (X-ray absorption spectroscopy). Dementsprechend betragen die Unterkantenenergie 7113 eV und die Oberkantenenergie 7125 eV [Kropf 1998].

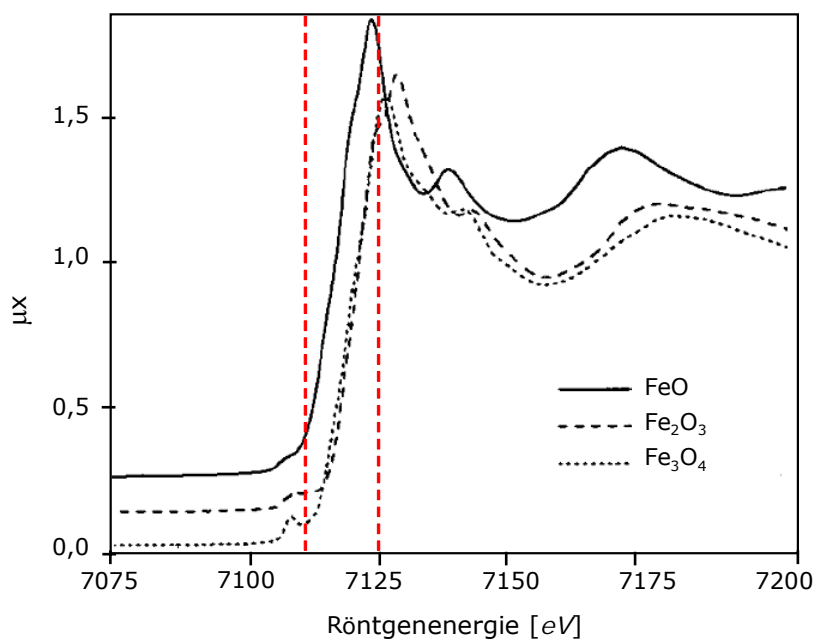


Abbildung 8.1 Röntgenabsorptionsverhalten von Eisenoxid, aufgenommen mit XAS [Kropf 1998].

Die Subtraktion der beiden Absorptionsbilder von einander ergibt die reine Schwächung der Röntgenstrahlung durch das gesuchte Element. Tomographische Aufnahmen von biologischen Gewebeproben nach magnetischem Drug Targeting und magnetischer Hyperthermie unter Beachtung der Absorptionskanten von Eisenoxid [Kropf 1998] lassen eine deutliche Verbesserung der Detektion von Nanopartikelakkumulationen zu.

Für diese Art der röntgentomographischen Vermessung eignet sich besonders die hochenergetische monochromatisierte Synchrotronstrahlung. Für die Akquisition differentieller Tomogramme kann die im Hasylab aufgebaute Tomographieanlage DiTo verwendet werden. Die am Lehrstuhl für Magnetofluidynamik der TU Dresden verwendeten Röntgenröhren sind für eine präzise Einstellung der Absorptionskantenenergie nicht geeignet. Daher wird im folgenden Abschnitt die Dual-Energie-Methode vorgestellt, mit deren Hilfe an den röhrenbasierten Tomographen eine Kontrastoptimierung zwischen dem biologischen Gewebe und den magnetischen Nanopartikeln möglich ist.

### 8.2.2 Dual-Energie-Verfahren

Das so genannte Dual-Energie-Verfahren ist eine für medizinische CT-Systeme bereits etablierte Kontrastoptimierungsmethode bei polychromatischer Strahlung. Bei dieser Methode wird die Tatsache genutzt, dass verschiedene Materialien eine verschieden starke Absorption der Röntgenstrahlen aufweisen. Die Beschleunigungsspannung der Röntgenröhre bestimmt das Energieniveau der Röntgenstrahlung. Dadurch kann mittels einer Änderung der Spannung die Energie der Photonen und damit die Abschwächung der Strahlung im Gewebe geändert werden. Folglich ist die Röntgenabsorption eines Objektes bei einer Beschleunigungsspannung von 80 kV anders als bei 140 kV. Auf diese Weise kann die Energieabhängigkeit des Schwächungskoeffizienten von unterschiedlichen Komponenten ausgenutzt werden [Phelps 1975]. Des Weiteren lassen sich durch geeignete Rekonstruktionsmethoden die Strahlauhfärtungsartefakte reduzieren [Stonestrom 1981].

In der medizinischen Bildgebung wird die Dual-Energie-Methode bereits unter anderem für folgende Anwendungen verwendet:

- Trennung von Kontrastmittel Jod und Knochen,
- Nieren- und Gallensteinunterscheidung,
- Plaqueerkennung in Gefäßen sowie im Herz,
- Detektion von Lungenknoten,

- Unterscheidung von hyperdensen und hypodensen Tumoren und
- Knochendichtemessung [Sedlmair 2009].

In der Praxis werden für die Dual-Energie-Methode zwei Tomographiedatensätze mit zwei unterschiedlichen Energien aufgenommen. Die Daten werden im Pre-Processing voneinander subtrahiert. Im Ergebnis liegt eine kontrasterhöhte Darstellung des, zum Beispiel mit Nanopartikeln angereicherten, Gewebeanteils vor.

Die am Lehrstuhl für Magnetofluidynamik aufgebaute TomoTU-Anlage [MFD 2011] bietet mit dem breiten Energiebereich von 5 bis 160 kV die Möglichkeit, tomographische Scans nach dem Prinzip der Dual-Energie-Methode durchzuführen. Die aktuell bestehende Messprozedur kann verwendet werden, um nacheinander je einen Scan bei unterschiedlicher Beschleunigungsspannung durchzuführen. Durch die Verwendung der Nanofokusröhre können sehr hohe räumliche Auflösungen von bis zu einigen Mikrometern erzielt werden.

Abbildung 8.2 stellt Radiographien eines Tumors dar, die an der Tomographieanlage TomoTU mit zwei unterschiedlichen Beschleunigungsspannungen – a) 80 kV und c) 140 kV – und damit unterschiedlichen Photonenenergien aufgenommen wurden. Das mittlere Bild b) zeigt die Differenz der beiden Absorptionsebilder. Eine Kontraststeigerung ist zwischen dem Paraffin (gelb), dem Tumorgewebe (hellblau) und dem Tumorgewebe mit Nanopartikeln (dunkelblau bis schwarz) zu erkennen.

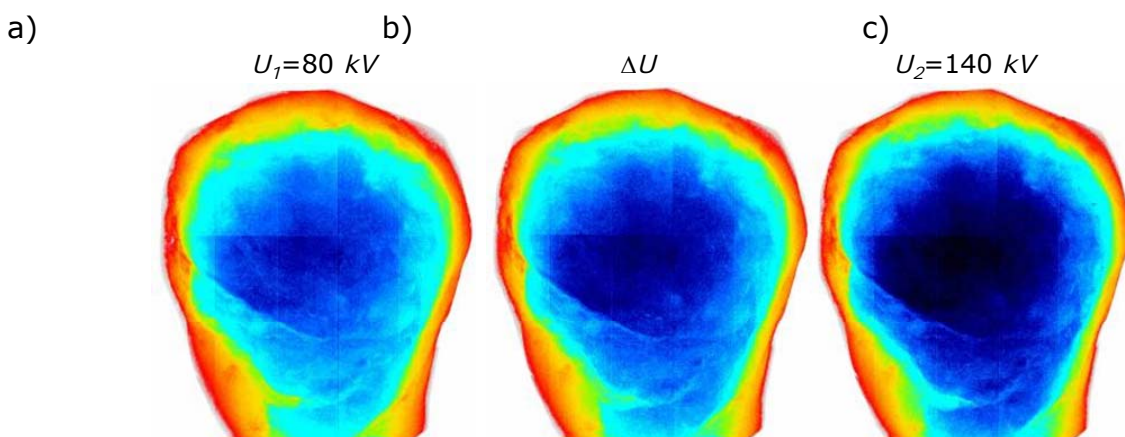


Abbildung 8.2 Radiogramm von Tumor 2 nach magnetischem Drug Targeting, anschließend wurden Absorptionsebilder bei unterschiedlichen Beschleunigungsspannungen respektive Energien aufgenommen. a) Tumor 2 bei  $U_1 = 80 \text{ kV}$  aufgenommen und c) Tumor 2 bei  $U_2 = 140 \text{ kV}$  aufgenommen. b) Das mittlere Bild stellt die Differenz dieser Photonenenergien dar.

Die optimale Variation der Beschleunigungsspannungen für unterschiedliche Gewebeproben kann anhand von geeigneten Phantomen, wie den in dieser Arbeit

vorgestellten Wasser- und Luftphantomen, mit unterschiedlichen Durchmessern sukzessive untersucht werden.

### 8.2.3 Dual-Energie-Verfahren in Kombination mit PUR-Ferrofluid-Phantomen

Das oben beschriebene Dual-Energie-Verfahren wurde am Tumor 2 getestet. Die Vorgehensweise für die Messungen und Auswertung wurde, wie in [Behling 2008] beschrieben, durchgeführt. Dazu wurde die Tumorprobe in erster Näherung in ihre drei Hauptbestandteile aufgeschlüsselt: Paraffin, Tumorgewebe und magnetische Flüssigkeit. Es wurden je ein Zylinder mit einem Durchmesser von 30 mm aus dem Gewebesubstitut PUR-Gel und Paraffin hergestellt. Zudem wurde das in Abschnitt 7.2.3 beschriebene Wasserphantom mit dem Innendurchmesser von 30 mm mit dem kommerziellen Ferrofluid APG 513A gefüllt. Anschließend wurden sowohl die drei Phantomkörper als auch die Tumorprobe bei zwei unterschiedlichen Beschleunigungsspannungen von 80 und 140 kV mit TomoTU vermessen und mit der Software VolumeGraphics rekonstruiert. Die Kalibrationsdaten ergeben sich aus den mittleren Grauwerten der drei Kalibrationsphantome bei unterschiedlichen Beschleunigungsspannungen. Diese können in einem Kalibrationsdreieck wie in Abbildung 8.3 zusammengefasst werden.

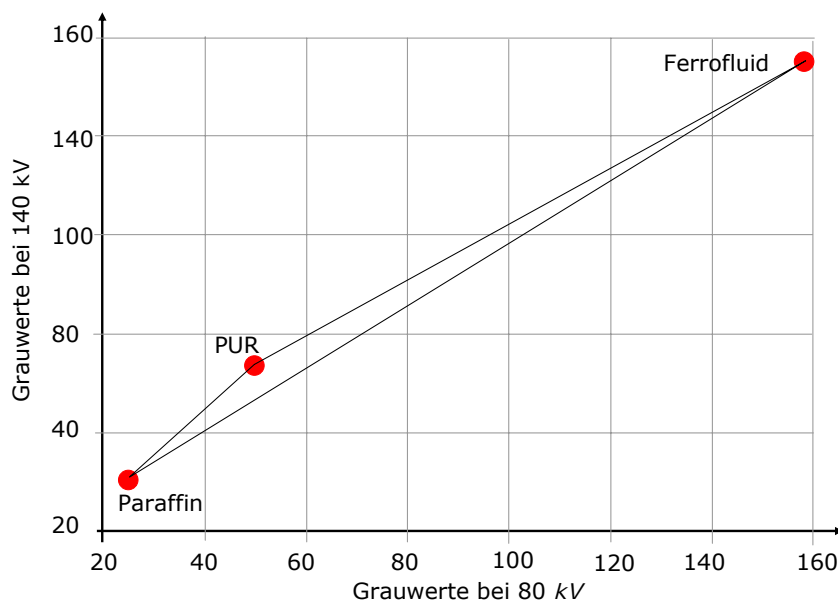


Abbildung 8.3 Kalibrationsdreieck aus den mittleren Grauwerten der drei Phantomobjekte Paraffin, PUR und Ferrofluid.

Für die Anwendung des Kalibrationsdreiecks ist eine tomographische Schicht des Tumors gewählt worden, die eine vergleichsweise schwache aber qualitativ erkennbare Akkumulation an magnetischen Nanopartikeln aufweist. Diese axiale Schicht ist in Abbildung 8.4 gezeigt.

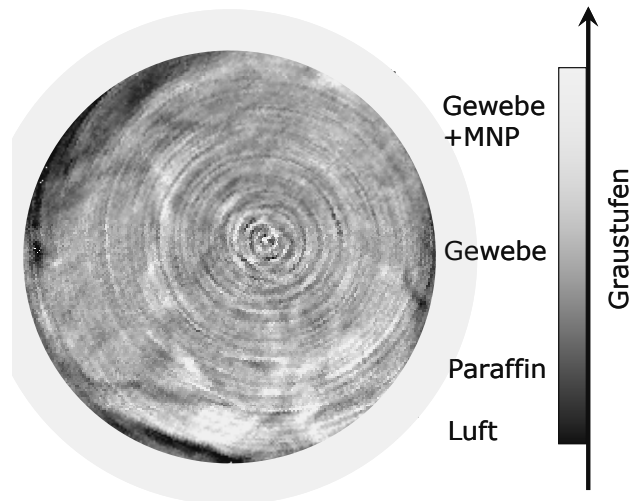


Abbildung 8.4 Eine tomographische Repräsentation mit einer Graustufentiefe von 8-Bit.

In Abbildung 8.5 sind die aus der tomographischen Repräsentation extrahierten Hauptbestandteile des Tumors dargestellt. Abbildung 8.5a) und b) zeigen das Paraffin (gelb) und das biologische Gewebe (rosé). Der Anteil des Tumorgewebes, welches mit magnetischen Nanopartikeln angereichert ist, ist in Abbildung 8.5c) blau eingefärbt.

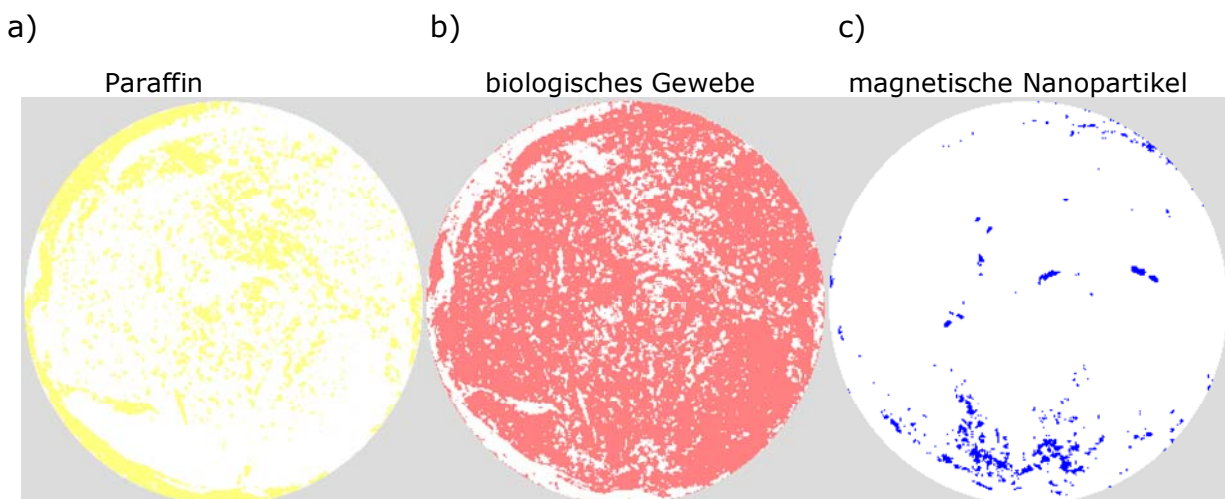


Abbildung 8.5 Extrahierte Komponenten der Tumorschicht nach der digitalen Aufbereitung.

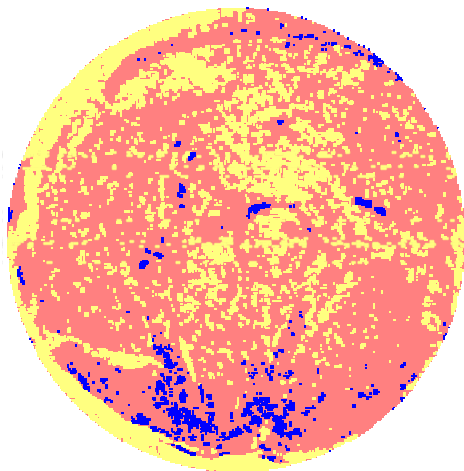
a) Paraffin, b) biologisches Gewebe und c) die magnetischen Nanopartikel.



Abbildung 8.6 zeigt die Überlagerung der oben aufgeführten Bestandteile. Es ist deutlich zu erkennen, dass das Paraffin sowohl die äußere Hülle bildet als auch im biologischen Gewebe verteilt ist. Es ist auch sichtbar, dass das biologische Gewebe qualitativ den Hauptanteil bildet.

Anhand des Vergleichs von Abbildung 8.6a) mit Abbildung 8.6b) kann qualitativ eine klare Steigerung in Bezug auf den Unterschied zwischen dem biologischen Gewebe/Paraffin und den magnetischen Nanopartikeln festgestellt werden.

a)



b)

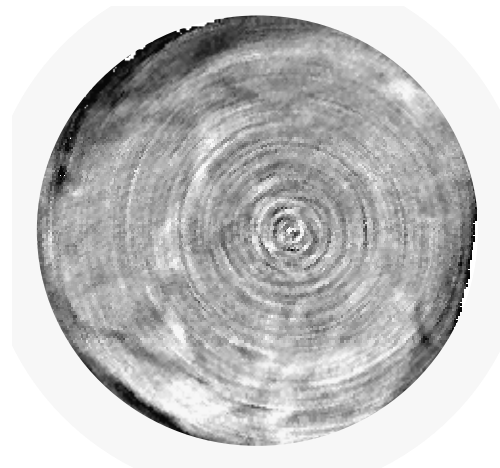


Abbildung 8.6 a) Digitale Überlagerung der drei Hauptbestandteile der Tumorschicht, b) die Graustufendarstellung dieser Tumorschicht.

In Kombination mit der in Kapitel 7 beschriebenen Kalibration mit PUR-Ferrofluid-Gelen kann die Dual-Energie-Methode dazu genutzt werden, um eine stärkere Unterscheidung zwischen schwach absorbierenden Objektkomponenten, wie dem biologischen Gewebe und dem Paraffin, und höher absorbierenden, wie den Magnetitpartikeln, zu erreichen. Dazu kann die oben aufgestellte 3-Punkte-Kalibrationsmatrix dahingehend angepasst werden, dass der Phantomkörper mit reinem Ferrofluid durch PUR-Ferrofluid-Phantome mit unterschiedlichen Nanopartikelkonzentrationen ersetzt wird. Auf diese Weise könnte mittels der Vermessung mit mehreren Nanopartikelkonzentrationen eine genauere Abstufung in dem Kalibrationsdreieck erreicht und somit der nanopartikelbeladene Anteil des biologischen Objekts deutlicher abstrahiert werden. Folglich könnte mit der anschließenden Semi-Quantifizierung, wie sie in Abschnitt 7.3 beschrieben wurde, eine Verbesserung der Detektionsgenauigkeit in Bezug auf den Nanopartikelgehalt erreicht werden.



# Literaturverzeichnis

- [Alexiou 2000] Alexiou Ch., Arnold W., Klein R. J., Parak F. G., Hulin P., Bergemann C., Erhardt W., Wagenpfeil S. and Lübbe A. S.; Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting; *Cancer Research* 60 (2000) 6641 – 6648
- [Alexiou 2001] Alexiou Ch., Arnold W., Hulin P., Klein R. J., Renz H., Parak F. G., Bergemann Ch. and Lübbe, A. S.; Magnetic mitoxantrone nanoparticle detection by histology, x-ray and MRI after magnetic drug targeting; *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 225 (2001) 187 – 193
- [Alexiou 2003] Alexiou Ch., Jurgons R., Schmid R., Bergemann C., Henke J., Erhardt W., Huenges E. and Parak F.; Magnetic Drug Targeting-Biodistribution of the magnetic carrier and the chemotherapeutic agent mitoxantrone after locoregional cancer treatment; *Journal of Drug Targeting* 11 (2003) 139 – 149
- [Als-Nielsen 2000] Als-Nielsen J. and McMorrow D.; *Elements of Modern X-ray Physics*; West Sussex 2000
- [Arnold 1991] Arnold B. A.; Calibrationphantom for computer tomography system; US Patent No.: 4,985,906; 1991
- [Aspik 2011] Aspik "PIK AS"- <http://www.aspik-pik-as.de/>, zuletzt abgerufen am 19.02.2011 um 14:13
- [Atkinson 1984] Atkinson W. J., Brzovich I. A. and Chakraborty D. P.; Usable Frequencies in Hyperthermia with Thermal Seeds; *Transactions on Biomedical Engineering, BME-31* (1) (1984) 70 – 75
- [Attix 2004] Attix F. H.; *Introduction to radiological physics and radiation dosimetry*; Wiley-VCH; Weinheim 2004

- [Babes 1999] Babes L., Denizot B., Tanguy G., Le Jeune J. J. and Jallet P.; Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Used as MRI Contrast Agents: A Parametric Study; *Journal of Colloid and Interface Science* 212 (2) (1999) 474 – 482
- [Baruchel 2000] Baruchel J., Boller E., Cloettens P., Ludwig W. and Peyrin F.; Microtomography at a third generation synchrotron radiation Facility; in Baruchel J., Buffière J. Y., Maire E., Merle P. and Peix G.; *X-Ray Tomography in Material Science*, Ed. Hermes; Paris 2000; 45 – 57
- [Beckmann 2004] Beckmann F., Lippmann T., Metge J., Dose T., Donath T., Tischer M., Liss K. D. and Schreyer A.; HARWI-II - The New High-Energy Beamline for Materials Science at HASYLAB/DESY, *SYNCHROTRON RADIATION INSTRUMENTATION*. American Institute of Physics; Conference Proceedings 705 (2004) 392 – 395
- [Behling 2008] Behling, M.: Messen der lokalen Phasenanteile in dreiphasige betriebenen Blasensäulen mit Hilfe der Dual-Energie Röntgentomographie; Dissertation; Leibniz Universität Hannover; 2008
- [Berkovsky 1996] Berkovsky B. M. and Bashtovoy V.; *Magnetic fluids and applications handbook*; Begell House Inc.; New York 1996
- [Bernhardt 2006] Bernhardt R.; Dreidimensionale Charakterisierung der Osseointegration von Titanimplantaten mittels Mikrocomputertomographie; Dissertation; Technische Universität Dresden; 2006
- [Brown 1963] Brown W. F.; Thermal fluctuation of single domain particle; *Physical Review* 130 (5) (1963) 1677 – 1686
- [Brooks 1976] Brooks A. R. and Di Chiro G.; Beam Hardening in X-ray Reconstructive Tomography; *Physics in Medicine & Biology* 21 (3) (1976) 390 – 398
- [Brunke 2006] Brunke O.; Untersuchung der Strukturentwicklung von Aluminiumschäumen mit Röntgenmethoden; Dissertation; Technische Universität Bremen; 2006

- [Burck 1998] Burck H.-Ch.; Histologische Technik; Thieme-Verlag; Stuttgart 1998
- [Buschow 2006] Buschow K. H. J.; Handbook of Magnetic Materials, Volume 16; Elsevier-Verlag; Nord-Holland 2006
- [Buzug 2004] Buzug Th.; Einführung in die Computertomographie: Mathematisch-physikalische Grundlagen der Bildrekonstruktion; Springer Verlag; Heidelberg 2004
- [Chiarot 2005] Chiarot C. B., Siewerdsen J. H., Haycocks T., Moseley D. J. and Jaffray D. A.; An innovative phantom for quantitative and qualitative investigation of advanced x-ray imaging technologies; Physics in Medicine & Biology 50 (2005) N287 – N297
- [Cormack 1980] Cormack A. M.; Early two-dimensional reconstruction and recent topics stemming from it; Nobel Award address, Medical Physics 7 (4) (1980) 277 – 282
- [CSEM 2011] CSEM; <http://www.csem.ch/site/>; zuletzt abgerufen am 09.01.2011, 19:03
- [DESY 2011] DESY; <http://desy.de/>; zuletzt abgerufen am 22.06.2011, 19:07
- [Donath 2006] Donath T.; Quantitative X-ray Microtomography with Synchrotron Radiation; Dissertation; Universität Hamburg; 2006
- [Dutz 2008] Dutz S.; Nanopartikel in der Medizin; Verlag Dr. Kovač; Hamburg 2008
- [Dutz 2009] Dutz S., Clement J. H., Eberbeck D., Gelbrich T., Hergt R., Müller R., Wotschadlo J. and Zeisberger M.; Ferrofluids of magnetic multicore nanoparticles for biomedical applications; Journal of Magnetism and Magnetic Material 321 (2009) 1501 – 1504
- [Dutz 2011] zur Verfügung gestellt von Dr. Silvio Dutz; Institut für Photonische Technologien e.V., Nanobiophotonik in Jena

- [Eberbeck 2008] Eberbeck D., Bergemann Ch., Wiekhorst F., Steinhoff U. and Trahms L.; Quantification of specific bindings of biomolecules by magnetorelaxometry; *Journal of Nanobiotechnology* 6 (4) (2008) 1 – 12
- [Elliott 1982] Elliott J. C. and Dover S. D.; X-ray microtomography; *Journal of Microscopy* 126 (1982) 211 – 213
- [Feldkamp 1984] Feldkamp L. A., David L. and Kress J.; Practical Cone Beam Algorithm; *Journal of the Optical Society of America* (1) (1984) 612 – 619
- [Fellers 1928] Fellers C. R. and Griffiths F. P.; Jelly-Strength Measurements of Fruit Jellies by the Bloom Gelometer; *Industrial and Engineering Chemistry* (1928) 857 – 859
- [Ferrotec 2010] Ferrotec; <http://www.ferrotec.com>; zuletzt abgerufen am 19.12.2010, 14:10
- [Gilchrist 1957] Gilchrist R. K., Medal R., Shorey W. D., Hanselman R. C., Parott J. C. and Taylor C. B.; Selective inductive heating of lymph nodes; *Annals of Surgery* 146 (1957) 596 – 606
- [Gitter 2010] Gitter K. and Odenbach S.; Experimental investigations on a branched tube model in magnetic drug targeting; *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 323 (10) (2010) 1413 – 1416
- [Goodfellow 2011] <http://www.goodfellow.com>; zuletzt abgerufen am 07.07.2011, 20:30
- [Harris 2003] Harris J. M. and Chess R. B.; Effect of pegylation on pharmaceuticals; *Nature Reviews Drug Discovery* 2 (2003) 214 – 221
- [Hasse 2008] Hasse B., Rahn H., Odenbach S., Beckmann F., Reimers W.; First Results of the DITO-Experiment at the HARWI II Beamline at GKSS/DESY. *Material Science Forum* 571-572 (2008) 201-209

- [Heim 2008] Heim E., Harling S., Ludwig F., Menzel H. and Schilling M.; Fluxgate magnetorelaxometry for characterization of hydrogel polymerization kinetics and physical entrapment capacity; *Journal of Physics: Condensed Matter* 20 (2008) 204106 – 204111
- [Herman 1979a] Herman G. T.; *Image Reconstruction from projections, Implementation and Applications*; Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York 1979
- [Herman 1979b] Herman G. T.; Correction for Beam Hardening in Computed Tomography; *Physics in Medicine & Biology* 24, (1) (1979) 81 – 106
- [Herzen 2009] Herzen J., Donath T., Pfeiffer F., Bunk O., Padeste C., Beckmann F., Schreyer A. and David Ch.; Quantitative phase-contrast tomography of a liquid phantom using a conventional x-ray tube source; *Optic Express* 17 (12) (2009) 10010 – 10018
- [Hilger 2001] Hilger I., Andrä W., Hergt R., Hiergeist R., Schubert H. and Kaiser W. A.; Electromagnetic Heating of Breast Tumors in Interventional Radiology: In Vitro and in Vivo Studies in Human Cadavers and Mice; *Radiology* 218 (2001) 570 – 575
- [Hilger 2005] Hilger I., Rapp A., Greulich K. O. and Kaiser W. A.; Assessment of DNA Damage in Target Tumor Cells after Thermoablation in Mice; *Radiology* 237 (2005) 500 – 506
- [Hitchens 1939] Hitchens A. P. and Leikind M. C.; The introduction of Agar-agar into Bacteriology, *Journal of Bacteriology* 37 (5) (1939) 485-493
- [Holst 2007] Holst G. C. and Lomheim T. S.; *CMOS/CCD Sensors and Camera Systems*; Winter Park: JCD Publishing; Bellingham: SPIE Press 2007
- [Hounsfield 1980] Hounsfield G. N.; Computed Medical Imaging; Nobel Award address, *Medical Physics* 7 (4) (1980) 283 – 290

- [Hsieh 2003] Hsieh J.; Computed Tomography: Principles, Design, Artifacts and Recent Advances; SPIE Press; Bellinham, WA, USA 2003
- [Huber 2011] HUBER GmbH; <http://www.xhuber.de/de>; zuletzt abgerufen am 12.02.2011, 13:06
- [ImageJ 2011] ImageJ; <http://rsbweb.nih.gov/ij/>; zuletzt abgerufen am 03.06.2011, 19:05
- [Imaging 2010] IMAGING Solutions;  
<http://www.imagingsolutionsaus.com.au/index.php>;  
zuletzt abgerufen am 10.10.2010, 16:24
- [Imetum 2011] Zentralinstitut für Medizintechnik;  
<http://www.imetum.tum.de/>; zuletzt abgerufen am 07.06.2011, 08:24
- [Johannsen 2005] Johannsen M., Gneveckow U., Eckelt L., Feussner A., Walsöfner N., Scholz R., Deger S., Wust P., Loening S. A. and Jordan A.; Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: presentation of a new interstitial technique; International Journal of Hyperthermia 21 (7) (2005) 637 – 647
- [Johannsen 2007] Johannsen M., Thiesen B., Wust P. and Jordan A.; Magnetic nanoparticle hyperthermia for prostate cancer; International Journal of Hyperthermia 26 (8) (2010) 790 – 795
- [Johns 1983] Johns H. E. and Cunningham J. R.; Physics of Radiology; Charles C. Thomas; Springfield USA 1983
- [Johns 1987] Johns P. C. and Jaffe M. J.; X-ray characterisation of normal and neoplastic breast tissue; Physics in Medicine & Biology 32 (6) (1987) 675 – 695



- [Jordan 1999] Jordan A., Scholz R., Wust P., Fähling H. and Felix R.; Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles; *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 201 (1999) 413 – 419
- [Jordan 2001] Jordan A., Scholz R., Maier-Hauff K., Johannsen M., Wust P., Nadobny J., Schirra H., Schmidt H., Deger S., Loening S., Lanksch W. and Felix R.; Presentation of a new magnetic field therapy system for the treatment of human solid tumors with magnetic fluid hyperthermia; *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 225 (2001) 118 – 126
- [Jussila 2004] Jussila J.; Preparing ballistic gelatine-review and proposal for a standard method; *Forensic Science International* 141 (2-3) (2004) 91 – 98
- [Kak 1999] Kak A. C. and Slaney M.; *Principles of Computerized Tomographic Imaging*; IEEE Press; New York 1998
- [Kalender 2006] Kalender W. A.; *Computertomographie – Grundlagen, Gerätetechnologie, Bildqualität, Anwendungen*; Publics Corporate Publishing; Erlangen 2006
- [Kinase 2005] Kinase S., Kimura M., Noguchi H. and Yokoyama S.; Development of lung and soft tissue substitutes for photons; *Radiation Protection Dosimetry* 115 (1-4) (2005) 284 – 288
- [Kohlrausch 1996] Kohlrausch F.; *Praktische Physik Band 2*; B. G. Teubner; Stuttgart 1996
- [Kropf 1998] Kropf A. J., Bunker B. A., Eisner M., Moss S. C., Zecca L., Stroppolo A. and Crippa P. R.; X-Ray Absorption Fine-Structure Spectroscopy Studies of Fe Sites in Natural Human Neuromelanin and Synthetic Analogues; *Biophysical Journal* Volume 75 (1998) 3135 – 3142
- [Krukemeyer 2009] Krukemeyer M. G., Wagner W., Jakobs M. and Krenn V.; Tumor regression by means of magnetic drug targeting; *Nanomedicine* 4 (8) (2009) 857 – 882

- [Kunz 2007] Kunz S. N.; Wundballistische Untersuchungen über die Wirkung und Wirksamkeit von Geschossen nach Durchdringen einer PKW-Seitenscheibe aus Verbundglas unter verschiedenen Schusswinkeln; Dissertation; Ludwig Maximilians Universität München 2007
- [Lakeshore 2010] Lakeshore; <http://www.lakeshore.com/vsm.html>; zuletzt abgerufen am 19.08.2010, 17:26
- [Lange 2002] Lange J., Kötitz R., Haller A., Trahms L., Semmler W. and Witschies W.; Magnetorelaxometry – a new binding specific detection method based on magnetic nanoparticles; Journal of Magnetism and Magnetic Materials 252 (2002) 381 – 383
- [Lohmann 1971] Lohmann A. W. and Silva D. E.; An interferometer based on the Talbot effect; Optics Communications 2 (9) (1971) 413 – 415
- [Lübbe 1996] Lübbe A. S., Bergemann C. and Riess H.; Clinical experiences with magnetic drug targeting: A phase I study with 4'-epidoxorubicin in 14 patients with advanced solid tumors; Cancer Research 56 (1996) 4686 – 4693
- [Lübbe 1999] Lübbe A. S., Bergemann C., Brock J. and McClure D. G.; Physiological aspects in magnetic drug-targeting; Journal of Magnetism and Magnetic Materials 194 (1999) 149 – 155
- [Ludwig 2006] Ludwig F.; Magnetorelaxometrie magnetischer Nanoteilchen für die quantitative und spezifische Analyse von Biomolekülen; Technisches Messen 73 (4) (2006) 217 – 222
- [Lungman 2010] Lungman - Multipurpose Chest Phantom N1; <http://www.kyotokagaku.com/>; zuletzt abgerufen am 16.11.2010, 17:33

- [Maier-Hauff 2006] Maier-Hauff K., Rothe R., Scholz R., Gneveckow U., Wust P., Thiesen B., Fuessern A. v., Deimling A., Waldoefner N. and Felix R. et. al; Intracarnial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: results of a feasibility study on patients with glioblastoma multiforme; *Journal of Neuro-Oncology* 81 (1) (2006) 53 – 61
- [Mahmoudi 2009] Mahmoudi M., Simchi A., Imani M. and Häfeli U. O., iSuperparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles with Rigid Cross-linked Polyethylene Glycol Fumarate Coating for Application in Imaging and Drug Delivery; *Journal of Physical Chemistry C* 113 (19) (2009) 8124 – 8131
- [MFD 2011] <http://www.mfd.mw.tu-dresden.de/mfd/>; zuletzt abgerufen am 11.07.2011, 20:40
- [Momose 2003] Momose A.; Phase-sensitive imaging and phase tomography using X-ray interferometers; *Optics Express* 11 (2003) 2303 – 2314
- [Momose 2005] Momose A.; Recent advances in X-ray phase imaging; *Japanese Journal of Applied Physics* 44 (2005) 6355 – 6367
- [Mosbach 1979] Mosbach K. and Schröder U.; Preparation and application of magnetic polymers for targeting drugs; *FEBS Letters* 102 (1979) 112 – 116
- [Nagornaya 2002] Nagornaya L., Ryznikov V., Apanasenko A. and Tupitsyna I.; Application prospects of cadmium-containing crystals based on tungstates and double tungstates; *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* 486 (1-2) (2002) 268 – 273
- [Néel 1949] Néel L.; Influence of thermal fluctuation on the magnetization of small particles; *C. R. Acad. Sci. Paris* 228 (1949) 664 – 668
- [Normand 2000] Normand V., Lootens D. L., Amici E., Plucknett K. P. and Aymard P.; New Insight into Agarose Gel Mechanical Properties; *Biomacromolecules* 1 (4) (2000) 730 – 738

- [Odenbach 2001] Odenbach S.; Magnetische Flüssigkeiten kontrollieren, Ferrofluide – ihre Grundlagen und Anwendungen; Physik in unserer Zeit 32 (3) (2001) 122 – 127
- [Odenbach 2002] Odenbach S.; Magnetoviscous Effects in Ferrofluids; Springer-Verlag; Berlin 2002
- [Oxford 2010] Oxford Instruments; <http://www.oxinst.com/>; zuletzt abgerufen am 09.11.2010, 10:09
- [Pankhurst 2003] Pankhurst Q. A., Connolly J., Jones S. K. and Dobson J.; Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine, Journal of Physics D: Applied Physics 36 (2003) R167 – R181
- [Pankhurst 2009] Pankhurst Q. A., Thanh N. K. T., Jones S. K. and Dobson J.; Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine; Journal of Physics D: Applied Physics 42 (2009) 224001 – 224016
- [Papell 1964] Papell S. S.; Low viscous magnetic fluid obtained by colloidal suspensions of magnetic particles; US-Patent, US 3215 572; 1964
- [PCO 2011] PCO Imaging; <http://www.pco.de/de/home/>; zuletzt abgerufen am 06.05.2011, 10:54
- [Phantomlab 2010] Phantom laboratory - Catphan<sup>®</sup> Phantoms; <http://www.phantomlab.com/catphan.html>; zuletzt abgerufen am 10.10.2010, 11:20
- [Phelps 1975] Phelps M. E., Hoffmann E. J. and Ter-Pogossian M. M.; Attenuation Coefficients of Various Body Tissues, Fluids, and Lesions at Photon Energies of 18 to 136 keV; Radiology 117(3 I) Pt 1 (1975) 573 – 583
- [Phoenix 2011] Phoenix X-Ray; <http://www.phoenix-xray.com/de/>; zuletzt abgerufen am 11.07.2011, 21:04

- [Pfeiffer 2006] Pfeiffer F., Weitkamp T., Bunk O. and David C.; Phase retrieval and differential phase-contrast imaging with low-brilliance X-ray sources; *Nature Physics* 2 (4) (2006) 258 – 261
- [QRM 2010] QRM Quality Assurance in Radiology and Medicine GmbH; <http://www.qrm.de/index.htm>; zuletzt abgerufen am 10.10.2010, 17:20
- [Radon 1917] Radon, J.; Über die Bestimmung von Funktionen durch ihre Integralwerte längs gewisser Mannigfaltigkeiten; *Berichte Sächsische Akademie der Wissenschaften*; Leipzig Mathematisch-Physikalische Klasse 69 (1917) 262 – 267
- [Rahn 2009a] Rahn H. and Odenbach S.; X-ray micro-tomography as tool for the investigation of the biodistribution of magnetic nanoparticles; *Nanomedicine* 4 (8) (2009) 981 – 990
- [Rahn 2009b] Rahn H., Gomez-Morilla I., Jurgons R., Alexiou Ch., Eberbeck D. and Odenbach S.; Tomographic examination of magnetic nanoparticles used as drug carriers; *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 312 (10) (2009) 1517 – 1520
- [Renishaw 2011] <http://www.renishaw.de/de/1030.aspx>; zuletzt abgerufen am 20.10.2010, 10:54
- [Richter 2009] Richter H.; Magnetorelaxometric quantification of magnetic nanoparticles in an artery model after ex vivo magnetic drug targeting; *Physics in Medicine & Biology* 54 (2009) N417 – N424
- [RKI 2006] Robert Koch Institut, Statistik der Krebserkrankungsvorkommen in Deutschland bis 2006; <http://www.rki.de>, zuletzt abgerufen am 17.06.2011, 11:05
- [Roentgen 1895] Roentgen W. C.; Eine neue Art von Strahlen; *Sitzungsberichte der Physikalisch-Medicinisch Gesellschaft zu Würzburg* (1895) 132 – 141

- [Rosensweig 1985] Rosensweig R. E.; Ferrohydrodynamics; Cambridge University Press; Cambridge 1985
- [Samei 1998] Samei E. and Flynn M. J.; A method for measuring the presampled MTF of digital radiographic systems using an edge test device; Medical Physics 25 (1) (1998) 102 – 113
- [Schneider 2011] Schneider-Kreuznach;  
<http://www.schneiderkreuznach.com>; zuletzt abgerufen am 17.03.2011, 18:46
- [Sedlmair 2009] Sedlmair M. U.; Dual-Energy CT: Physikalische Modelle und Anwendungen; Dissertation; Ludwig-Maximilians-Universität München 2009
- [Seliger 2007] Seliger C., Jurgons R., Wiekhorst F., Eberbeck D., Trahms L., Iro H., Alexiou Ch.; In vitro investigation of the behaviour of magnetic particles by a circulating artery model; Journal of Magnetism and Magnetic Materials 311 (2007) 358 – 362
- [Sellier 2001] Sellier K. und Kneubuehl B. P.; Wundballistik und ihre ballistischen Grundlagen; Springer Verlag; Berlin 2001
- [Senyei 1978] Senyei A., Widder K. and Czerlinski C.; Magnetic guidance of drug carrying microspheres; Journal of Applied Physics 49 (1978) 3578 – 3583
- [So 2009] So A., Hsieh J., Li J. Y. and Lee T. Y.; Beam hardening correction in CT myocardial perfusion measurement; Physics in Medicine & Biology 54 (2009) 3031 – 3050
- [Soapfix 2010] Soapfix der Firma Glorex, <http://www.glorex.com/>, zuletzt abgerufen am 14.08.2010, 19:41
- [Spieß 2009] Spieß L., Teichert G., Schwarzer R. und Behnken H.; Moderne Röntgenbeugung: Röntgendiffraktometrie für Materialwissenschaft, Physiker und Chemiker; Vieweg+Teubner; Wiesbaden 2009

- [Stonestrom 1981] Stonestrom J. P., Alvarez R. E. and Macovski A.; A Framework for Spectral Artifact Corrections in X-Ray CT; IEEE Transactions on Biomedical Engineering 28 (2) (1981) 128 – 141
- [Tietze 2011] Tietze R., Rahn H., Lyer S., Schreiber E., Mann J., Odenbach S. and Alexiou Ch.; Visualization of superparamagnetic nanoparticles in vascular tissue using X $\mu$ CT and histology; Histochemistry and cell biology 135 (2) (2011) 153 – 158
- [Voltairas 2002] Voltairas P. A., Foriadis D. I. and Michalis L. K.; Hydrodynamics of magnetic drug targeting; Journal of Biomechanics 35 (6) (2002) 813 – 821
- [Volume 2009] Volume Graphics; <http://www.volumegraphics.de/> zuletzt abgerufen am 14.04.2009, 12:46
- [Waske 2010] Waske A., Rahn H. and Odenbach S.; Fast Tomography: a study of image quality; American Institute of Physics, X-RAY OPTICS AND MICROANALYSIS: Proceedings of the 20th International Congress (1221) (2010) 124 – 128
- [Weissleder 1988] Weissleder R., Hahn P. F., Stark D. D., Elizondo G., Saini, S., Todd L. E., Witenberg J. and Ferruccio J. T. jr.; Superparamagnetic iron oxide: enhanced detection of focal splenic tumors with MR imaging; Radiology 196 (1988) 399 – 403
- [Widder 1978] Widder K. J., Senyei A. E. and Scarpelli D. G.; Magnetic Microsphere: a model for site specific drug delivery in vivo; Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 58 (1978) 141 – 146
- [Wust 2006] Wust P., Gneveckow U., Johannsen M., Böhmer D., Henkel T., Kahmann F., Sehouli J., Felix R., Ricke J. and Jordan A.; Magnetic nanoparticles for interstitial thermotherapy – feasibility, tolerance and achieved temperatures; International Journal of Hyperthermia 22 (8) (2006) 673 – 685

- [Wust 2010] Wust P., Rau B. und Schlag P. M.; Prinzipien der Hyperthermie in Kombination mit Strahlentherapie und Chemotherapie; in Siewert J. R., Rothmund M. und Schumpelick V.; Praxis der Viszeralchirurgie onkologische Chirurgie; Springer; Heidelberg 2010; 319 – 332
- [ZVerkV 1998] Zusatzstoff-Verkehrsverordnung - ZVerkV; Verordnung über Anforderungen an Zusatzstoffe und das Inverkehrbringen von Zusatzstoffen für technologische Zwecke, zuletzt geändert durch Art. 2 V v. 28.3.2011 I 530; Bundesgesetzblatt I (1998) 230 – 269



# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1	Schematische Darstellung von Eisenoxidpartikeln, die mit langkettigen Molekülen, dem sogenannten Surfactant, beschichtet sind. ....	20
Abbildung 2.2	a) Transmissionelektronenmikroskopische (TEM) Aufnahme von $Fe_3O_4$ Nanopartikeln [Odenbach 2001]. b) Partikelgrößenverteilung eines magnetitbasierten Ferrofluids [Rosensweig 1985, S. 41].....	20
Abbildung 2.3	Magnetisierungskurve von wasserbasiertem Ferrofluid W12.....	22
Abbildung 2.4	Die Relaxationszeit in Abhängigkeit des Partikeldurchmessers. Die Zunahme des Partikeldurchmessers hat die Zunahme der Relaxationszeit zur Folge [Ludwig 2006]. ....	24
Abbildung 2.5	Messprinzip für eine Magnetorelaxometrie Messung. Nach einer Aufmagnetisierung wird das magnetische Feld spontan abgeschaltet und die Relaxationszeit detektiert [Ludwig 2006].	26
Abbildung 2.6	Dichtung einer nichtmagnetischen Welle mit Ferrofluid [Odenbach 2002, S. 26f.].....	27
Abbildung 2.7	Schematische Darstellung eines durch ein Ferrofluid gekühlten Lautsprechers [Odenbach 2002, S. 27f.].....	28
Abbildung 2.8	Prinzip des magnetischen Drug Targetings [Alexiou 2001]. ....	30
Abbildung 2.9	a) und b) TEM-Aufnahmen eines „multicore“ Nanopartikels [Dutz 2011]. ....	33
Abbildung 3.1	Bremsspektrum einer Wolframanode [Als-Nielsen 2000, S. 31].	39
Abbildung 3.2	Prinzipskizze der Synchrotronstrahlungsentstehung an einem Kreisbeschleuniger. Tangential zur Beschleunigungsrichtung der geladenen Teilchen entsteht hochenergetische Röntgenstrahlung [Als-Nielsen 2000, S. 2]. ....	41
Abbildung 3.3	Übersicht über die derzeitige Brillanz der Synchrotronquellen am DESY [DESY 2011]. ....	42

Abbildung 3.4	Prinzip einer mikrocomputertomographischen Messung. Im Gegensatz zu konventionellen medizinischen CT-Scannern wird hierbei das Objekt rotiert. Zudem kann es noch in $x$ -, $y$ -, und $z$ -Richtung manipuliert werden.....	44
Abbildung 3.5	Tomographische Messung mit einem medizinischen CT-Scanner: der Patient liegt, während ein Assembly aus einem Detektorring und einer Röntgenröhre um ihn rotiert wird [Kalender 2006, S. 38].....	45
Abbildung 3.6	Projektion eines Objektes unter dem Projektionswinkel Theta [Baruchel 2000, S. 51].....	46
Abbildung 3.7	Prinzip des Fourier-Slice-Theorems [Kak 1999, S. 57].....	47
Abbildung 3.8	Bestimmung von $F(u, v)$ aus $S_{\theta}(w)$ für einige Projektionen [Kak 1999, S. 59].....	48
Abbildung 3.9	Zusammenhang zwischen der Ortsfunktion $\mu(x, y)$ , der messbaren Projektion $P_{\theta}(t)$ , sowie deren Fouriertransformierten $F(u, v)$ und $S_{\theta}(w)$ [Buzug 2004, S. 122f.].....	48
Abbildung 3.10	Sinogramm einer Tumorschicht. ....	50
Abbildung 3.11	Draufsicht einer Tumorschicht. a) Der Datensatz ist mit korrektem Rekonstruktionszentrum rekonstruiert worden. b) Der gleiche Datensatz wurde unter Vernachlässigung der Rekonstruktionszentrumskorrektur nochmals rekonstruiert. Es sind helle ringförmige Strukturen zu erkennen. Dies sind Schattenbilder von Bereichen starker Nanopartikelakkumulationen, die im linken Bild deutlich sind. Zudem werden die Ringartefakte durch die Schattenbilder verstärkt. ....	53
Abbildung 3.12	Qualitative Verschiebung (rot) des Strahlungspektrums zu höheren Energien. ....	54
Abbildung 3.13	Tomographische Draufsicht eines Tumors, der mit magnetischem Drug Targeting behandelt wurde. Das Strahlaufhärtungsartefakt ist als cyanfarbener Bereich in der äußeren Region des Tumors zu sehen. ....	54
Abbildung 4.1	CAD-Model der Di und To Parts der Multifunktionsanlage DiTo [Hasse 2008]. ....	58

- Abbildung 4.2 Die Multifunktionsapparatur DiTo aus der Strahlrichtung: Strahlrohr (4) und Spaltsystem (3) sind im Vordergrund zu sehen. Im Hintergrund sind Tomographie- (2) und Diffraktionsdetektor (1) sowie Teile des Probenmanipulators (5) erkennbar. .... 59
- Abbildung 4.3 Der Probenmanipulator mit den beschriebenen Komponenten ist für eine Belastung von 40 kg ausgelegt [Huber 2011]..... 60
- Abbildung 4.4 Skizze des optischen Pfades innerhalb der Tomographie – Detektorbox von DiTo. Die Abstände zwischen dem Leuchtschirm und dem Objektiv sowie dem Oberflächenplanspiegel und dem CCD-Chip werden zur Einstellung der gewünschten optischen Vergrößerung verwendet. .... 62
- Abbildung 4.5 LeTo – Low Energy Tomography. Von rechts nach links sind im Bild die Röntgenquelle (2), der Aluminiumfilter (1) zur Strahlaufhärtungsartefaktsreduktion und ein auf dem Probenmanipulator (4 bis 6) montierter, in Paraffin eingebetteter Tumor nach MDT (3) zu sehen. .... 64
- Abbildung 4.6 Prinzipskizze der TomoTU-Anlage. Der 3 Meter lange optische Tisch bietet ausreichend Raum für Erweiterungen, wie zum Beispiel Probenumgebungen (Schmelzofen, etc.). .... 65
- Abbildung 5.1 Gemessene Modulationstransferfunktionen für a) die Kamera PCO4000 und für b) die Kamera PCO2000..... 68
- Abbildung 5.2 Linearitätsnachweise für den Zusammenhang zwischen Grauwert und Belichtungszeit für die Kameras a) PCO4000 und b) PCO2000..... 69
- Abbildung 5.3 LeTo – Linearitätskurven für fünf Beschleunigungsspannungen. 72
- Abbildung 5.4 TomoTU – Linearitätsnachweis ist für den Flatpaneldetektor bei sechs Beschleunigungsspannungen aufgenommen worden. .... 72
- Abbildung 5.5 Langzeitstabilität der Röntgenquelle von LeTo über 4 Stunden. 74
- Abbildung 6.1 Optische Fotografie der Probe mit markiertem Messbereich, der an DiTo vermessen wurde. .... 78

- Abbildung 6.2 Histogramm des mit DiTo tomographierten Tumorausschnitts, welcher in Abbildung 6.1 schematisch dargestellt ist..... 79
- Abbildung 6.3 Gerenderte Darstellung des mit DiTo vermessenen Tumorschnitts [Rahn 2009a]. ..... 79
- Abbildung 6.4 Draufsicht auf die Tumorschicht. a) Draufsicht auf einen Schnitt des Tumors, der mit monochromatischer Synchrotronstrahlung am DESY mittels DiTo vermessen wurde. b) Draufsicht auf einen Schnitt des gleichen Tumors, der mit der polychromatischen Tomographieanlage LeTo vermessen wurde [Rahn 2009b]. ..... 81
- Abbildung 6.5 Histogramm des mit LeTo tomographierten Tumors [Rahn 2009b]..... 82
- Abbildung 6.6 Tumor nach magnetischem Drug Targeting. a) Optische Fotografie des Tumors in Paraffin, b) orange eingefärbte Graustufen, die das Paraffin darstellen, d) gelb markierte Graustufen, die das Tumorgewebe repräsentieren, d) rote Areale stellen die höchste Dichte in der Probe dar – die magnetischen Nanopartikel im Tumorgewebe. .... 83
- Abbildung 6.7 Prinzip des ex-vivo Experiments zum magnetischen Drug Targeting [Tietze 2011]..... 84
- Abbildung 6.8 a), b), c) Histologische Schnitte aus unterschiedlichen Höhen eines Arterien-segments. d), e), f) Entsprechende  $\mu$ CT-Schnitte, vermessen mit der polychromatischen Tomographieanlage. g), h), i) Entsprechende monochromatische  $\mu$ CT-Schnitte, vermessen mit der Synchrotronkamera [Tietze 2011]..... 86
- Abbildung 6.9 Arteriensegment mit einem seitlichen Abgang. Das Segment ist frontal dargestellt, dabei sind die Grauwerte für Paraffin ausgeblendet. a) Frontale Volldarstellung des Arteriensegmentes. b) Axialer Schnitt bis zur Mitte des Segmentes. Nanopartikelakkumulation ist im Lumen und an den Schnittkanten des Segmentes erkennbar. c) Frontale Volldarstellung des Arteriensegmentes, allerdings sind nur Grauwerte, die den Nanopartikeln entsprechen, eingeblendet. . 87

- Abbildung 6.10 Gerenderte, 3-dimensionale Darstellung der Arteriensegmente, die in den sieben untersuchten Arterien die höchste Ferrofluidkonzentration aufweisen. In dieser Abbildung stehen die mittleren Grauwerte für biologisches Gewebe und die höchsten Grauwerte für magnetische Nanopartikel. Die Grauwerte, die dem Paraffin entsprechen, wurden ausgeblendet. Die oberste Zahlenreihe gibt die Nummerierung der Arterien an, während die darunter liegende Zahl den maximalen Nanopartikelgehalt offenlegt. Die unterste Zahlenreihe zeigt an, bei welchem Segment es in Strömungsrichtung zu der höchsten Nanopartikelanreicherung kam. .... 88
- Abbildung 6.11 Digitale, 3-dimensionale Repräsentation von Grauwerten, die der höchsten Dichte und damit den magnetischen Nanopartikeln entsprechen. Die Grauwerte für Paraffin und biologisches Gewebe wurden ausgeblendet. .... 88
- Abbildung 6.12 Rinderarterie Nr. 7, die Kurvenverläufe zeigen die relativen Ferrofluidmassen und relativen Voxelvolumina entlang der Arterie. .... 89
- Abbildung 6.13 Vergleich von normierten  $\mu$ CT-Daten mit relativen ebenfalls auf das Maximum normierten MRX-Daten des Segments 0 aus der Arterie Nr. 4. .... 90
- Abbildung 7.1 Mittlerer Grauwert von Agarose-Gel-Kegeln in Abhängigkeit der Kegelhöhe und des Kegeldurchmessers. .... 95
- Abbildung 7.2 Agarose-Gel-Kegel (Probe 8). a) Die Polymerisation fand bei 30 °C statt. Ein deutlicher Anstieg der Grauwerte vom Kegelfuß zur Kegelspitze ist zu erkennen. Hierbei entspricht ein hoher Grauwert einer hohen Dichte. b) Die Erstarrung des Agarose-Gels erfolgte bei 15 °C. Der Grauwert- und folglich der Dichtegradient konnten reduziert werden. .... 97
- Abbildung 7.3 a) PUR-Schaum mit 3,57 vol% an „multicore“-Ferrofluid [Dutz 2009]. b) PUR-Schaum mit 1,82 vol% an W12. .... 102
- Abbildung 7.4 Polyurethangel mit darin suspendiertem Ferrofluid. .... 103
- Abbildung 7.5 Mittlere Grauwerte eines PUR-Ferrofluidgels mit einer Nanopartikelkonzentration von 13,16 mg/ml in Abhängigkeit der Objekthöhe, die über die Anzahl der tomographischen Schichten wiedergegeben wird. .... 104

Abbildung 7.6	Trapezoidförmige Referenzphantome. a) Reines Polyurethan-Gel und b) PUR-Ferrofluid-Gel.....	104
Abbildung 7.7	Mittlere Grauwerte zweier PUR-Ferrofluid-Gele, die zu einem Trapezoid geformt und anschließend tomographisch vermessen wurden. Die rote Kurve (oben) stellt ein PUR-Ferrofluid-Gel mit einer Nanopartikelkonzentration von 27 mg/ml dar und die blaue Kurve (unten) eine Konzentration von 20 mg/ml.....	105
Abbildung 7.8	Magnetisierungskurve des PUR-Ferrofluidgels mit einer Nanopartikelkonzentration von 13,19 mg/ml. Die magnetische Untersuchung wurde an drei Proben aus dem oberen, mittleren und unteren Bereich des Referenzphantoms durchgeführt. ....	106
Abbildung 7.9	Kalibrationsgerade für die polychromatische $\mu$ CT-Anlage LeTo für folgende Einstellungen: eine Beschleunigungsspannung von 50 kV, einen Emissionsstrom von 1 mA sowie eine optische Vergrößerung von 1,48. ....	108
Abbildung 7.10	Phantom für die SR $\mu$ CT-Anlage, bestehend aus sechs PUR-Ferrofluid-Gelen. ....	109
Abbildung 7.11	Kalibrationsgerade für die synchrotronbasierte Tomographiekamera des HZG. ....	110
Abbildung 7.12	HE-Werte für 12-Bit Datensätze [Buzug 2004, S. 404f.].....	111
Abbildung 7.13	„MikroCT-Wasserphantom“ von QRM. Das Grundmaterial ist PMMA, die Wanddicke beträgt 0,3 mm, Durchmesser 20 bis 32 mm, Gesamtlänge 66 mm, Innenlänge 44 mm, Gewicht 20 g [QRM 2010].....	112
Abbildung 7.14	a) Fotografien der Wasser-Luft-Phantome. b) Technische Zeichnung des Wasser-Luft-Phantoms mit einem Durchmesser von 20 mm.....	112
Abbildung 7.15	Korrelation von Grauwerten und Hounsfieldeinheiten für die Beschleunigungsspannungen 30, 35, 40, 45 und 50 kV.....	113
Abbildung 7.16	a) Ausgewählte Tumorschicht aus der 3-dimensionalen Repräsentation eines Tumors nach magnetischem Drug Targeting. b) Abtastraster für die diskrete Ermittlung der mittleren Grauwerte und damit für die Nanopartikelkonzentrationen. Jede quadratische Fläche ist 14 $\mu$ m <sup>2</sup> groß. ....	114

- Abbildung 7.17 a) Nanopartikelkonzentrationen in dargestellter Auswahl einer Tumorschicht aus Abbildung 7.16. b) Farbkodierung zu den ermittelten Nanopartikelkonzentrationen. .... 115
- Abbildung 7.18 a) Die Bedienoberfläche der entwickelten Software. b) Die Farbauswahl kann direkt per Mausklick getroffen werden. c) Ein Beispiel der Konzentrationsbereiche und der dazu gewählten Farben. .... 116
- Abbildung 7.19 a) 3-dimensionale Darstellung des semi-quantitativ ausgewerteten Tumors 1 mit c) entsprechender Farbtafel und Konzentrationsbereichen. b) 3-dimensionale Darstellung des qualitativ ausgewerteten Tumors 1, d) dabei geben die Farben rot bis schwarz eine ungefähre Akkumulation der Nanopartikel wieder. .... 118
- Abbildung 7.20 a) und c) Semi-quantitative Auswertung des Tumors 2 mit entsprechender Farbtafel. b) Qualitativ ausgewerteter Tumor 2, d) die Farben rot bis schwarz zeigen die näherungsweise Akkumulation der Nanopartikel. .... 119
- Abbildung 7.21 a) und d) 3-dimensionale Darstellungen des semi-quantitativ ausgewerteten monochromatisch vermessenen Arteriensegments. b) Die für die Kalibration verwendete Farbtafel mit Konzentrationsbereichen. c) und e) 3-dimensionale Repräsentation des qualitativ ausgewerteten Arteriensegments. Die Farbgebung erfolgte nach der Segmentierung des Histogramms gemäß der Farbgebung im histologischen Schnitt, dabei entspricht rosé dem biologischem Gewebe und blau den magnetischen Nanopartikeln. .... 121
- Abbildung 7.22 Vergleich von einem digitalen und histologischen Schnitt. a), c), e) Tomographische, semi-quantitativ ausgewertete Schichten des monochromatisch vermessenen Arteriensegments. b) Entsprechende histologische Schnitte, die Berliner Blau Färbung hebt die Eisenoxidnanopartikel durch die blaue Farbe hervor. 122

- Abbildung 7.23 a) Axialer Schnitt aus dem oberen Bereich des Arteriensegments, die Farben geben unterschiedliche Konzentrationen an. Die entsprechende Farbtafel ist sowohl in Abbildung 7.21 als auch in Abbildung 7.24 zu sehen. b) Ein entsprechender axialer Schnitt des Arteriensegments. Die Farbgebung erfolgte nach der Segmentierung des Histogramms, hierbei steht rosé für das biologische Gewebe und blau für die magnetischen Nanopartikel. 123
- Abbildung 7.24 a) Sagitaler Schnitt durch die 3-dimensionale Darstellung des semi-quantitativ ausgewerteten 2. Arteriensegments. b) Die für die farbliche Visualisierung verwendete Farbtafel. .... 124
- Abbildung 7.25 a) Axialer Schnitt durch die 3-dimensionale Darstellung des semi-quantitativ ausgewerteten 3. Arteriensegments. b) Verwendete Farbtafel und Konzentrationsbereiche. .... 125
- Abbildung 7.26 3-dimensionale Repräsentation einer tumortragenden Maus. . 127
- Abbildung 7.27 Histogramm der oben gezeigten Maus, die X-Achsen führen sowohl 16-Bit Grauwerte als auch Hounsfield-Einheiten an. ... 128
- Abbildung 8.1 Röntgenabsorptionsverhalten von Eisenoxid, aufgenommen mit XAS [Kropf 1998]. .... 132
- Abbildung 8.2 Radiogramm von Tumor 2 nach magnetischem Drug Targeting, anschließend wurden Absorptionsbilder bei unterschiedlichen Beschleunigungsspannungen respektive Energien aufgenommen. a) Tumor 2 bei  $U_1 = 80 \text{ kV}$  aufgenommen und c) Tumor 2 bei  $U_2 = 140 \text{ kV}$  aufgenommen. b) Das mittlere Bild stellt die Differenz dieser Photonenenergien dar. .... 134
- Abbildung 8.3 Kalibrationsdreieck aus den mittleren Grauwerten der drei Phantomobjekte Paraffin, PUR und Ferrofluid. .... 135
- Abbildung 8.4 Eine tomographische Repräsentation mit einer Graustufentiefe von 8-Bit. .... 136
- Abbildung 8.5 Extrahierte Komponenten der Tumorschicht nach der digitalen Aufbereitung. a) Paraffin, b) biologisches Gewebe und c) die magnetischen Nanopartikel. .... 136
- Abbildung 8.6 a) Digitale Überlagerung der drei Hauptbestandteile der Tumorprobe, b) die Graustufendarstellung dieser Tumorschicht. 137



# Tabellenverzeichnis

Tabelle 4.1	Technischen Details der CCD-Kameras, welche in DiTo für die tomographische Datenakquisition verwendet werden. ....	63
Tabelle 4.2	Parameter, die an der Nanofokusröhre der TomoTU-Anlage eingestellt werden können [Phoenix 2011]. ....	65
Tabelle 5.1	Räumliche Auflösung der röhrenbasierten Tomographieanlagen LeTo und TomoTU. ....	71
Tabelle 5.2	Übersicht über die verfügbaren Tomographieanlagen, die im Rahmen dieser Arbeit aufgebaut und verwendet wurden. ....	75
Tabelle 6.1	Relative Volumina der Komponenten der am Synchrotron vermessenen Tumorprobe. ....	80
Tabelle 6.2	Relative Volumina des mit polychromatischer Strahlung gemessenen Tumors [Rahn 2009b]. ....	82
Tabelle 7.1	Nanopartikelkonzentrationen in Agarose-Gel. ....	95
Tabelle 7.2	Dichtewerte für Seife, mit Wasser verdünnter Seife, Ferrofluidseife und Ferrofluid. ....	100
Tabelle 7.3	Volumenanteil und mittlerer Partikeldurchmesser für ein PUR-Ferrofluid-Gel, ermittelt aus einer Magnetisierungsmessung. .	106
Tabelle 7.4	Auflistung von experimentell bestimmten mittleren Grauwerten und Nanopartikel-konzentrationen. ....	108
Tabelle 7.5	Nanopartikelgehalt in biologischen Gewebeproben ermittelt aus quantitativer MRX-Vermessung und semi-quantitativer Kalibration. Die prozentualen Werte geben den tomographisch vermessenen Anteil des Arteriensegments wieder. ....	126