

INAUGURAL - DISSERTATION

zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlich - Mathematischen
Gesamtfakultät
der Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg

vorgelegt von
Dipl.-Biophys. Benjamin Schmitt
aus Ludwigshafen/Rh.

Tag der mündlichen Prüfung: 13.April 2011

Selektive NMR-Bildgebung am Menschen mittels des Protonenaustauschs zwischen Metaboliten und Wasser

Gutachter: Prof. Dr. Peter Bachert
Prof. Dr. Uwe Oelfke

Selektive NMR-Bildgebung am Menschen mittels des Protonenaustauschs zwischen Metaboliten und Wasser

Der chemische Austausch von Protonen zwischen freien Wassermolekülen und darin gelösten Stoffen kann mittels ^1H -NMR gemessen werden. Das dazu verwendete Verfahren wird als Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) bezeichnet. Es beruht auf der selektiven Sättigung des Resonanzsignals von labil gebundenen Protonen gelöster Stoffe und der anschließenden Detektion der durch chemischen Austausch von Protonen übertragenen Sättigung auf den Pool von freien Wassermolekülen. Die maximale Größe des Sättigungstransfers ist abhängig vom Konzentrationsverhältnis der labilen Protonen zu Protonen des freien Wassers und der Geschwindigkeit des chemischen Austauschs, die wiederum durch den pH-Wert der chemischen Umgebung sowie deren Temperatur beeinflusst wird. In dieser Arbeit wurde eine neue Methode zur selektiven Sättigung von Kernspinresonanzen mit Serien von Hochfrequenzpulsen entwickelt. Darüber hinaus wurden verschiedene Techniken zur schnellen Detektion von präparierten CEST-Effekten an klinischen MR-Tomographen entwickelt und experimentell durch Untersuchungen an Modellösungen validiert. Parallel dazu wurden Ansätze zur Korrektur von Fehlerquellen bei CEST-Experimenten evaluiert. Schließlich wurden die Verfahren an klinischen Ganzkörper-MR-Tomographen für pH-gewichtete Bildgebung des Gehirns, zur Evaluation der biochemischen Qualität von Knieknorpel und zur Detektion von Tumoren in der weiblichen Brust bei magnetischen Feldstärken von $B_0 = 3\text{ T}$ und 7 T eingesetzt. Dabei konnte gezeigt werden, dass das höhere statische Feld die Detektierbarkeit von CEST-Kontrasten verbessert, was hauptsächlich durch eine Verlängerung der Lebensdauer (T_1) der gesättigten Spinzustände bedingt ist.

Selective Magnetic Resonance Imaging in Humans by Means of Proton Exchange between Metabolites and Water

Chemical exchange of protons between bulk water and solute molecules can be detected by means of ^1H -NMR. The technique was dubbed chemical exchange saturation transfer (CEST). It is based on selective saturation of the resonance signals of labile protons bound to solute molecules and the subsequent detection of saturation, which originates from chemical exchange of protons, on the bulk water pool. The amount of maximum transferable saturation depends on the fraction of labile protons relative to bulk water protons and on the chemical exchange rate, which depends on pH value and temperature of the chemical environment. In this thesis, a new method for selective saturation of an NMR resonance with a train of radio-frequency pulses was developed. Furthermore, different techniques for rapid detection of prepared CEST effects on clinical MR tomographs were developed and validated by experiments with model solutions. Additionally, methods for correction of common artifacts occurring in CEST experiments were evaluated. Finally, the developed techniques were applied to pH-weighted imaging of the human brain, evaluation of biochemical cartilage quality, and, for the first time, the detection of breast cancer on whole-body MR tomographs with static magnetic fields of $B_0 = 3\text{ T}$ and 7 T , respectively. The results indicate a beneficial effect of the higher magnetic field strength on CEST MRI, which is mainly attributed to a longer lifetime (T_1) of saturated spin states.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VII
Tabellenverzeichnis	XI
1 Einleitung	1
2 Grundlagen	5
2.1 Atomkerne im Magnetfeld	5
2.1.1 Kernmagnetische Resonanz	5
2.1.2 Makroskopische Magnetisierung	6
2.1.3 Zeitentwicklung der makroskopischen Magnetisierung	7
2.1.4 Makroskopische Magnetisierung im magnetischen Wechselfeld	8
2.1.5 Die Bloch-Gleichungen	9
2.1.6 Relaxation	12
2.1.7 Chemische Verschiebung	13
2.2 Transfer von Magnetisierung	14
2.2.1 Das Pool-Modell	14
2.2.2 Dipol-Dipol-Kopplung	15
2.2.3 Chemischer Austausch	16
2.2.4 Magnetisierungstransfer-Experimente in der NMR	18
2.3 Chemischer Austausch und NMR	19
2.3.1 Bloch-McConnell-Gleichungen	19
2.3.2 Einfluss von CE auf die NMR-Linienform	20
2.4 Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST)	21
2.4.1 Sättigung	22
2.4.2 Darstellung des Magnetisierungstransfer in der MR	23
2.4.3 Selektive Sättigung	24
2.4.4 Quantitative Beschreibung des CEST-Effekts	26
2.4.5 Fehlerquellen in CEST-Experimenten	29
2.4.6 Klassen von CEST-Experimenten	31
3 Material und Methoden	35
3.1 NMR Hardware	35
3.2 Modelllösungen	36

3.3	<i>In-Vivo</i> -Untersuchungen	38
3.3.1	Untersuchungen des Kopfes	39
3.3.2	Untersuchungen des Kniegelenks	40
3.3.3	Untersuchungen der Mamma	41
3.4	Selektive Sättigung mit Pulsfolgen	42
3.4.1	Energieberechnung von Pulsfolgen	43
3.4.2	Spoiling	44
3.5	NMR-Pulssequenzen	44
3.5.1	Spektroskopie-Methoden	45
3.5.2	Bildgebungsmethoden	47
3.6	Auswertung von z-Spektren	55
3.6.1	Spektroskopiedaten	55
3.6.2	Bilddaten	56
3.7	Simulation von MT-Experimenten	56
4	Ergebnisse der physikalischen Methodenentwicklung	59
4.1	Gepulste Sättigung	59
4.1.1	Theoretische Betrachtung der Frequenzselektivität	59
4.1.2	Experimentelle Evaluation der Frequenzselektivität	60
4.1.3	Experimentelle Evaluation der Sättigungseffizienz	64
4.2	Signalakquisition	68
5	Ergebnisse der Anwendung	79
5.1	CEST in Modelllösungen	79
5.2	APT-Kontrast bei Hirntumoren	81
5.3	APT-Kontrast bei Radionekrose	83
5.4	gagCEST-Kontrast im Knieknorpel	85
5.5	CEST-Kontrast in der Mamma	90
6	Diskussion	93
6.1	Gepulste Sättigung	93
6.2	Akquisition von CEST-Signalen	95
6.3	Fehlerquellen	98
6.4	Anwendbarkeit von CEST-Bildgebung	99
7	Zusammenfassung und Ausblick	103
	Veröffentlichungen	107
	Literaturverzeichnis	109
	Danksagung	121

Abkürzungsverzeichnis

APT	Amide Proton Transfer, Seite 2
APTR	Amidprotonen-Transferrate, Seite 40
AVM	Arteriovenöse Malformation, Seite 83
BSA	Bovine Serum Albumin, Seite 37
bSSFP	balanced SSFP, Seite 53
CE	Chemical Exchange, Seite 16
CEST	Chemical Exchange Saturation Transfer, Seite 2
cs	complete saturation, Seite 27
CW	Continuous-Wave, Seite 9
DCE	Dynamic Contrast Enhanced, Seite 41
DDK	Dipol-Dipol-Kopplungen, Seite 15
EPI	Echo Planar Imaging, Seite 50
FID	Free Induction Decay, Seite 13
FLASH	Fast Low-Angle Shot, Seite 51
FOV	Field-of-View, Seite 50
FWHM	Full Width at Half Minimum, Seite 61
GAG	Glykosaminoglykane, Seite 33
GRE	Gradientenecho, Seite 44
KM	Kontrastmittel, Seite 41
MRA	MR-Angiographie, Seite 24
MRS	Magnetresonanzspektroskopie, Seite 1
MRSI	MR Spectroscopic Imaging, Seite 2
MRT	Magnetresonanztomographie, Seite 1
MS	Multiple Sklerose, Seite 24
MT	Magnetisierungstransfer, Seite 14
MTC	Magnetization Transfer Contrast, Seite 24

NMR	Nuclear Magnetic Resonance, Seite 1
PD	Protonendichte, Seite 81
PG	Proteoglykane, Seite 33
PRESS	Point-Resolved Spectroscopy, Seite 46
PTE	Proton Transfer Enhancement, Seite 27
PTR	Protonentransferrate, Seite 27
RFPA	Radio-Frequency Power Amplifier, Seite 35
ROI	Region of Interest, Seite 56
SAFARI	Saturation with Frequency Alternating RF Irradiation, Seite 99
SAR	Spezifische Absorptionsrate, Seite 26
SE	Spinecho, Seite 44
SNR	Signal-to-Noise-Ratio, Seite 46
SSFP	Steady-State Free Precession, Seite 51
STEAM	Stimulated Echo Acquisition Mode, Seite 46
TrueFISP	siehe bSSFP, Seite 53
WASSR	Water Saturation Shift Referencing, Seite 30
WEX	Water Exchange, Seite 32

Abbildungsverzeichnis

2.1	Zeitlicher Verlauf des FID-Signals mit Relaxation	12
2.2	Schematische Darstellung eines Systems aus gekoppelten Spin-Pools	14
2.3	Temperaturabhängigkeit der ^{13}C NMR-Spektren von N, N' -Dimethylformamid-Gas (Quelle: [Ross and True 1984])	21
2.4	Typisches z -Spektrum eines konventionellen MT-Experiments	23
2.5	Auswirkungen einer Verschiebung des statischen Magnetfeldes auf die Analyse der Asymmetrie von z -Spektren	30
2.6	Schematischer Aufbau von Knorpelgewebe bestehend aus Proteoglykanen, Kollagenfasern und Chondrozyten	32
3.1	Strukturformel von Kreatin	36
3.2	Strukturformel von Carnosin	37
3.3	Mehrkammerphantom aus Plexiglas	38
3.4	Schematische Darstellung anatomischer Schnittebenen (Quelle: de.wikipedia.org/wiki/Sagittalebene, Zugriff: 12.2010)	39
3.5	Spektrale Auswirkungen von Pulsfolgen auf Resonanzen von Spinsystemen	42
3.6	Gradientenecho	45
3.7	Spinecho	46
3.8	“Stammbaum“ gängiger Pulssequenzen für die MR-Bildgebung	48
3.9	Schematische Darstellung des 2D k -Raums mit Trajektorien für zeilenweises Auslese der k -Raumdaten	49
3.10	Schematische Darstellung zur Auslese des k -Raums für Echo-planare Bildgebung (EPI)	50
3.11	Schematische Darstellung der Analyse von CEST-Messungen auf Basis von Bild-daten	57
4.1	^1H -NMR-Spektren von wässriger BSA-Lösung gemessen bei $B_0 = 3\text{ T}$ nach gepulster off-resonanter Sättigung	60
4.2	Maximale Magnetisierungstransferrate in z -Spektren und volle Halbwertsbreite der z -Spektren als Funktion der Periode $\tau_P + \tau_D$ der Pulsfolge	61
4.3	Experimentelle z -Spektren und Asymmetrieanalysen von Kreatinlösung für unterschiedliche Duty-Cycles der Sättigungspulsfolge	62
4.4	Gemessene und simulierte z -Spektren von wässriger Kreatinlösung	64
4.5	Experimentelle z -Spektren und MTR_{asym} -Kurven von Kreatinlösung gemessen bei $B_0 = 3\text{ T}$ und 7 T	65
4.6	Einfluss des statischen Magnetfeldes auf die maximale Asymmetrie in Kreatinlösung	66

4.7	Asymmetriekurven von Kreatinlösung für drei verschiedene t_{sat} , gemessen bei $B_0 = 3 \text{ T}$	67
4.8	Untersuchung von CEST-Effekten in Kreatinlösung bei Signalakquisition in einer einzelnen Schicht mit EPI-Auslese bei $B_0 = 3 \text{ T}$	69
4.9	Schematische Darstellung der Pulssequenzen für eine CEST-Messung einer Schicht bzw. mehrerer Schichten mit EPI	70
4.10	z-Spektren und MTR_{asym} von 3 sequenziell mit EPI aufgenommenen Schichten in nativem Eiweiß eines rohen Hühnerreis	71
4.11	Schematische Darstellung der Pulssequenz für CEST-Messungen mit 3D-FLASH	72
4.12	Schematischer Verlauf des verfügbaren bzw. gemessenen MR-Signals während Sättigung, anschließender FLASH-Bildgebung sowie freier Relaxation	73
4.13	Schematische Darstellung der segmentierten Pulssequenz für CEST-Messungen mit 3D-FLASH	74
4.14	Vergleich von z-Spektren und Asymmetriekurven gemessen mit FLASH- bzw. TrueFISP-Bildgebung in Kreatinlösung	75
4.15	Vergleich von z-Spektren und MTR_{asym} -Werten gemessen mit FLASH- bzw. TrueFISP-Bildgebung im Gehirn eines gesunden Probanden	76
5.1	Bei $B_0 = 3 \text{ T}$ gemessenes z-Spektrum und Asymmetrieanalyse von Carnosinlösung (pH 7,5)	79
5.2	z-Spektren und MTR_{asym} -Kurven von pasteurisiertem Eiweiß, gemessen bei $B_0 = 3 \text{ T}$	80
5.3	MR-Bilder eines Patienten mit Astrozytom WHO °3 gemessen bei $B_0 = 3 \text{ T}$. . .	81
5.4	MTR_{asym} -Karte aus Abb. 5.3 mit ROIs in Tumor- (T), peritumoralem (P) und gesundem (G) Gewebe sowie die dazugehörigen z-Spektren und Asymmetriekurven	82
5.5	Bei $B_0 = 7 \text{ T}$ gemessene MR-Bilder einer Patientin mit einem großflächigen Astrozytom	83
5.6	APT-gewichtetes Bild aus Abb. 5.5 mit ROIs in Tumor- (T), kontralateralem gesundem (K) und peritumoralem (P) Gewebe sowie in Liquor (L)	83
5.7	MR-Bilder einer Patientin (60 Jahre) mit Radionekrose 6 Monate nach Bestrahlung einer arteriovenösen Malformation (AVM) im Gehirn, aufgenommen bei $B_0 = 7 \text{ T}$	84
5.8	PD-gewichtetes Bild aus dem Gehirn einer Patientin mit Radionekrose mit ROIs in nekrotischem (N) und kontralateralem gesundem (K) Gewebe sowie in Liquor (L)	85
5.9	Vergleich der Bildqualität von CEST-Untersuchungen des Kniegelenks bei unsegmentierter und segmentierter Signalakquisition	86
5.10	gagCEST und ^{23}Na -Bilder des Kniegelenks eines Patienten nach Knorpelersatztherapie in der medialen Femurkondyle	88
5.11	MR-Bilder eines Patienten mit fokaler Läsion im retropatellaren Knorpel gemessen mit der segmentierten FLASH-Technik bei $B_0 = 3 \text{ T}$	89
5.12	PD-gewichtetes Bild eines Kniegelenks mit Läsion im retropatellaren Knorpel mit ROIs in der primären Läsion, morphologisch unauffälligem Knorpel sowie zwei Stellen, die in Natrium-Bildgebung Signalreduktionen zeigten	90

5.13 CEST-Daten und MR-Bilder einer Patientin mit invasivem duktalem Karzinom in der rechten Brust, gemessen bei $B_0 = 3 \text{ T}$	91
---	----

Tabellenverzeichnis

2.1	Relaxationszeiten von verschiedenen Geweben <i>in vivo</i> bei $B_0 = 1, 5; 3$ und 7 T . . .	13
3.1	Inhalt der Kompartimente des Mehrkammerphantoms	38
4.1	Gemessene Relaxationszeiten sowie Parameter für die Simulation der Evolution der Magnetisierung auf Grundlage eines 2-Pool-Modells für Kreatinlösung	63
4.2	Messwerte des dynamischen Bereich von z-Spektren aus ROIs identischer Lokalisierung im Gehirn eines gesunden Probanden gemessen mit FLASH bzw. TrueFISP	77

Kapitel 1

Einleitung

Freude am Schauen und
Begreifen ist die schönste Gabe
der Natur.

(Albert Einstein)

MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE (MRT) hat sich seit der Entdeckung durch Paul Lauterbur und Sir Peter Mansfield [Lauterbur 1973; Mansfield 1977] als eines der wichtigsten Hilfsmittel der radiologischen Diagnostik etabliert. Mittels MRT können unter der Hautoberfläche gelegene Körperstrukturen nicht-invasiv räumlich aufgelöst dargestellt und außerdem eine Reihe von funktionellen physiologischen Parametern bestimmt werden. Die MRT beruht dabei auf dem Prinzip der kernmagnetischen Resonanz (NMR für NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE), das historisch wiederum auf die Entdeckung des Protonenspins durch Stern und Frisch [Stern and Frisch 1933] zurückzuführen ist. Nach dieser Entdeckung führten Rabi *et al.* 1938 die ersten NMR-Experimente durch, indem sie den Aufbau des Stern-Gerlach-Experiments um die Möglichkeit zur Einstrahlung eines elektromagnetischen Wechselfeldes erweiterten [Rabi *et al.* 1938]. 1946 entdeckten Purcell *et al.* die resonante Absorption von Hochfrequenz-Energie durch Protonen in beinahe starrem Paraffin [Purcell *et al.* 1946], während Bloch *et al.* zeitgleich über resonante Induktion in flüssigem Wasser berichteten [Bloch *et al.* 1946]. Die erste NMR-basierte Analysemethode, die in der Folge eingeführt wurde, beruhte auf der 1950 entdeckten CHEMICAL SHIFT, d.h. darauf, dass die Resonanzfrequenzen von Atomkernen in äußeren Magnetfeldern von deren chemischer Umgebung abhängig sind [Proctor and Yu 1950]. Die so genannte NMR-Spektroskopie wird seitdem erfolgreich zur Analyse von Kernen, Atomen und Molekülen in Flüssigkeiten, Festkörpern, aber auch *in vivo* eingesetzt. Die NMR-Spektroskopie an lebenden Präparaten wird dabei als MAGNETRESONANZSPEKTROSKOPIE (MRS) bezeichnet. Die NMR generell entwickelte sich so aus einer Technik der Experimentalphysik zu einer Routinemethode in der Chemie und durch MRS und MRT auch in der Medizin. Die Anzahl und die Komplexität klinischer NMR-Methoden zeigen seither eine konstante Zunahme und sind für die radiologische Diagnostik unverzichtbar.

Neben der Verwendung von klinischen MRT-Systemen für morphologische Bildgebung, bei der Kontraste zwischen Geweben auf Basis der magnetischen Eigenschaften von Protonen freier Wassermoleküle erzeugt werden, ist es durch Entwicklung neuer Methoden in den letzten Jah-

ren zunehmend möglich, an klinischen Tomographen auch physiologische Parameter zu bestimmen. Zu diesen Techniken zählen u.a. die Messung des Sauerstoffverbrauchs im Gewebe mittels BOLD(BLOOD OXYGEN LEVEL DEPENDENT)-MRT, die Bestimmung von Parametern der Gewebepfusion und der Diffusion im Gewebe oder auch die räumlich aufgelöste Verteilung von Stoffwechselkomponenten mittels spektroskopischer Bildgebung (MRSI für MR SPECTROSCOPIC IMAGING). Im Jahre 1990 stellten Wolff und Balaban die Idee vor, den chemischen Austausch von Protonen, die labil an bestimmte Moleküle gebunden sind, mit freien Wassermolekülen zu nutzen, um Informationen über die chemische Umgebung und über die Moleküle selbst zu erhalten [Wolff and Balaban 1990]. Durch den chemischen Übertrag der Protonen von niedrig konzentrierten Molekülen auf freie Wassermoleküle, kann molekülspezifische Information auf Basis des Wassersignals räumlich hochaufgelöst dargestellt werden (CEST für CHEMICAL EXCHANGE SATURATION TRANSFER). In ihrer initialen Arbeit war der Fokus von Balaban und Wolff noch darauf ausgelegt, exogene Substanzen mit labilen Protonen zur Generierung eines CEST-Kontrasts, der vom pH-Wert in der chemischen Umgebung der austauschenden Protonen abhängt, einzusetzen. Der Hintergrund aller dieser Überlegungen war es, auszunutzen, dass die Ratenkonstante des chemischen Austausch pH-abhängig ist und CEST somit pH-gewichtete Bildgebung ermöglichen kann. Tatsächlich beschäftigen sich seit den initialen CEST-Arbeiten einige Forschergruppen mit der Entwicklung von dia- und paramagnetischen Substanzen, die optimierte Eigenschaften für CEST besitzen. Die Klasse von Experimenten, die auf exogenen paramagnetischen Substanzen beruht, wird dabei als PARACEST und die auf diamagnetischen Substanzen beruhende als DIACEST bezeichnet. 2003 wurde dann von Zhou *et al.* [Zhou et al. 2003] erstmals auch die Möglichkeit beschrieben, mittels des chemischen Austauschs von Amidprotonen mobiler endogener Proteine und Peptide auf freie Wassermoleküle einen pH-gewichteten MR-Kontrast zu erzeugen. In ihrer Studie zeigten Zhou *et al.* durch Messungen an Gehirnen von Ratten, in denen durch Minderperfusion künstlich hypoxische Areale erzeugt wurden, dass die in hypoxischen Arealen verminderten pH-Werte zu einem Abfall von beobachtbaren CEST-Effekten in MR-Bildern führten. Dies führten Sie auf eine Abhängigkeit der Ratenkonstante des chemischen Austauschs vom pH-Wert in der unmittelbaren Umgebung zurück und nannten diese Variante der CEST-Bildgebung APT(AMIDE PROTON TRANSFER)-Bildgebung.

Seit 2003 wurden dann verschiedene weitere endogene Substanzen entdeckt, die zur Generierung eines CEST-Kontrastes benutzt werden können. Dazu zählen unter anderem Glykosaminoglykane, die in hoher Konzentration in Knorpel und Bandscheiben vorliegen, und Glykogen, das als Speicherstoff für Traubenzucker in vielen Geweben zu finden ist. Die entsprechenden MR-Techniken, die seitdem zur Erzeugung eines CEST-Kontrasts auf Basis dieser Substanzen eingesetzt werden, wurden gagCEST bzw. glycoCEST genannt. Neben der Suche nach neuen CEST-Kontrasten stand in den letzten Jahren auch die Übertragung der experimentellen Techniken in die klinische Anwendung im Vordergrund. Allerdings erschwerten zum einen intrinsische Limitationen des CEST-Prinzips, wie z.B. viele freie, nicht bestimmbare Variablen sowie eine geringe Messsensitivität, und zum anderen Limitationen, die bei Messungen an klinischen MR-Tomographen entstehen, wie z.B. Hardware-Einschränkungen und Grenzwerte zum Schutz von Patienten, die Etablierung einer klinischen CEST-Messmethode. Als Folge dieser Hindernisse wurden bis heute keine klinischen Studien an Patientenkollektiven mit einer CEST-Technik basierend auf einem endogenen Kontrastmechanismus durchgeführt.

Das primäre Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Möglichkeit, pH-gewichtete MR-Bildgebung mittels APT an klinischen Ganzkörper-MR-Tomographen durchzuführen. Sekundäre Ziele waren, neben dem tieferen Verständnis der theoretischen CEST-Grundlagen, die Entwicklung einer CEST-Messtechnik für klinische Tomographen sowie die Suche nach weiteren endogenen Metaboliten, die möglicherweise für CEST benutzt werden können.

Im Verlauf der Arbeit wurde zunächst eine Methode zur effektiven und selektiven Sättigung von Spin-Ensembles verschiedener endogener CEST-Substanzen entwickelt. Die Technik besteht aus einer Serie frequenzselektiver Hochfrequenz(HF)-Pulse, deren Parameter anhand von Simulationen und Experimenten an Modelllösungen optimiert wurden. Das optimierte Sättigungsschema wurde anschließend mit einer Spektroskopie- und verschiedenen Bildgebungsmethoden kombiniert, wobei der Fokus auf einer stabilen und schnellen Aufnahme des gesättigten Signals lag. Nach Untersuchungen an Modelllösungen und später auch gesunden Probanden, wurde schließlich eine der entwickelten Techniken für die weitere Optimierung ausgewählt. Um aus den vom Tomographen gelieferten Bildern sekundäre Bilder zu berechnen, die Informationen über den CEST-Effekt enthalten, wurde eine Software-Umgebung entwickelt, die flexibel für die Auswertung von verschiedenen, endogen produzierten CEST-Kontrasten benutzt werden kann. Die komplette, aus Sättigungsschema, Bildgebungsmethode und Auswertesoftware bestehende Technik konnte schließlich erfolgreich in Untersuchungen von Patienten mit verschiedenen Krankheitsbildern eingesetzt werden. Dabei wurde ein neuer, in der Literatur noch nicht beschriebener CEST-Kontrast entdeckt, mit dem Tumoren in Brustgewebe von gesundem Gewebe abgegrenzt werden können.

Kapitel 2

Grundlagen

2.1 Atomkerne im Magnetfeld

In diesem Abschnitt werden die grundlegenden physikalischen Prinzipien beschrieben, auf denen die Messtechniken für NMR-Experimente in lebenden Systemen beruhen. Die theoretische Betrachtung der kernmagnetischen Grundlagen beschränkt sich im Folgenden auf Wasserstoffprotonen in flüssiger Phase, da nur solche Kerne in dieser Arbeit als Signalquelle verwendet wurden. Da allerdings ungefähr $2/3$ aller stabilen Kerne einen von Null verschiedenen Kernspin besitzen, wird für spezielle theoretische Grundlagen auf die Standardwerke [Abragam 1961] und [Slichter 1989] verwiesen.

2.1.1 Kernmagnetische Resonanz

Ein Proton im Grundzustand besitzt wie alle Atomkerne mit ungerader Nukleonenzahl einen von Null verschiedenen Drehimpuls oder Spin \mathbf{J} , der mit einem nuklearen magnetischen Dipolmoment $\boldsymbol{\mu}$ verbunden ist. Mit dem dimensionslosen Drehimpulsoperator $\hat{\mathbf{I}} = \hat{\mathbf{J}}/\hbar$ erhält man die Beziehung

$$\hat{\boldsymbol{\mu}} = \gamma \hat{\mathbf{J}} = \gamma \hbar \hat{\mathbf{I}}. \quad (2.1)$$

Es gelten die aus der Quantenmechanik bekannten Regeln für den Betrag des Drehimpulses und die Größe der z -Komponente, wobei das Spinsystem durch die Drehimpulsquantenzahl I und die magnetische Quantenzahl m gekennzeichnet ist. Anwendung der Operatoren auf einen Drehimpulseigenzustand $|I, m\rangle$ liefert:

$$\hat{\mathbf{I}}^2 |I, m\rangle = I(I+1) |I, m\rangle \quad (2.2)$$

$$\hat{I}_z |I, m\rangle = m |I, m\rangle \quad (2.3)$$

Dabei kann m jeden der $2I+1$ Werte $(-I, -I+1, \dots, I-1, I)$ und I halb- oder ganzzahlige Werte annehmen.

In der kernmagnetischen Resonanz wird die Wechselwirkung des magnetischen Moments der Kerne mit äußeren Magnetfeldern untersucht, was allgemein durch den Hamiltonoperator

$$\hat{\mathbf{H}} = -\hat{\boldsymbol{\mu}} \cdot \mathbf{B} \quad (2.4)$$

beschrieben wird. Zumeist wird das Verhalten in einem Koordinatensystem betrachtet, in dem ein äußeres statisches magnetisches Feld in z -Richtung $\mathbf{B}_0 = (0, 0, B_0)$ anliegt, wodurch sich der Hamiltonoperator vereinfacht zu

$$\hat{H}_z = -\hbar \hat{I}_z \gamma B_0. \quad (2.5)$$

Man erhält aus der Schrödingergleichung

$$\hat{\mathbf{H}} |I, m\rangle = E_m |I, m\rangle \quad (2.6)$$

die Energieeigenwerte der verschiedenen Zustände

$$E_m = -\gamma \hbar m B_0. \quad (2.7)$$

Das Anlegen eines äußeren Magnetfelds hebt also die m -Entartung der Energiezustände auf (Zeeman-Aufspaltung bzw. Kern-Zeeman-Aufspaltung). Es ergeben sich $2I + 1$ verschiedene magnetische Energiezustände, wobei zwischen benachbarten Energieniveaus mit $\Delta m = \pm 1$ (Einquanten-Übergang) eine Energiedifferenz

$$\Delta E = E_{m-1} - E_m = \gamma \hbar B_0 \quad (2.8)$$

besteht. Spinsysteme sind in der Lage Energie zu absorbieren, wenn die Resonanzbedingung aus Gl.(2.8) erfüllt ist, was die Grundlage von NMR-Experimenten darstellt. Die Resonanzfrequenz $\nu_0 = \frac{1}{2\pi} \gamma B_0$ hängt durch γ von der Kernsorte ab. Für Protonen in einem statischen Magnetfeld $B_0 = 1 \text{ T}$ ergibt sich $\nu_0 = 42,577 \text{ MHz}$.

2.1.2 Makroskopische Magnetisierung

Erweitert man die Betrachtung von NMR von einem Kern auf ein makroskopisches Ensemble von N unabhängigen Kernen mit Spin I im Volumen V , so findet man gemäß der Boltzmann-Statistik, dass die Besetzungswahrscheinlichkeit P_m der Energieniveaus proportional $e^{-(E_m/kT)}$ ist. Den Erwartungswert der z -Komponente des magnetischen Moments erhält man aus Gl. (2.1) und Gl. (2.3)

$$\langle \hat{\mu}_z \rangle = \gamma \langle \hat{I}_z \rangle = \gamma \hbar \sum_{m=-I}^I m P_m, \quad (2.9)$$

woraus sich wiederum der Betrag der makroskopischen Magnetisierung in z-Richtung im Volumen V ergibt:

$$M_0 = \sum_{i=1}^N \frac{\langle \hat{\mu}_z \rangle_i}{V} \quad (2.10)$$

Durch Einsetzen in Gl. (2.10) erhält man:

$$M_0 = N \gamma \hbar \frac{\sum_{m=-I}^I m e^{\gamma \hbar m B_0 / kT}}{\sum_{m=-I}^I e^{\gamma \hbar m B_0 / kT}} \quad (2.11)$$

Das Verhältnis $\gamma \hbar B_0 / kT$ hat für Protonen mit $\gamma = 2,68 \cdot 10^8$ Ts, $\hbar = 1,05 \cdot 10^{-34}$ Js und Boltzmann-Konstante $k = 1,38 \cdot 10^{-23}$ J/K bei Raumtemperatur und $B_0 = 1$ T einen Wert der Größenordnung 10^{-6} , was die lineare Entwicklung des Exponenten aus Gl. (2.11) (Hochtemperatur-Näherung) zulässt. Für die Magnetisierung ergibt sich dann

$$M_0 \approx \frac{N \gamma^2 \hbar^2 B_0}{kT} \cdot \frac{\sum_{m=-I}^I m^2}{2I+1} = \frac{N \gamma^2 \hbar^2 I(I+1)}{3kT} B_0. \quad (2.12)$$

Trotz des geringen Besetzungszahlunterschiedes zwischen den beiden magnetischen Energieniveaus $P_{1/2} - P_{-1/2}$ kann in wässriger Lösung in Probenvolumina $\leq 1 \text{ mm}^3$ eine makroskopische Magnetisierung gemessen werden. Die Erklärung dafür ist, dass die Anzahl der Protonen im Probenvolumen typischerweise groß ist (in $V = 1 \text{ mm}^3$ Wasser befinden sich ca. 10^{19} ^1H -Kerne).

2.1.3 Zeitentwicklung der makroskopischen Magnetisierung

Die zeitliche Entwicklung des Erwartungswertes des magnetischen Moments $\langle \hat{\boldsymbol{\mu}} \rangle$ im Magnetfeld \mathbf{B} lässt sich nach den Regeln der Quantenmechanik im Heisenberg-Bild wie folgt berechnen, wenn man voraussetzt, dass der Operator des magnetischen Moments nicht explizit zeitabhängig ist:

$$\frac{d}{dt} \langle \hat{\boldsymbol{\mu}} \rangle = -\frac{i}{\hbar} \langle [\hat{\boldsymbol{\mu}}, \hat{\mathbf{H}}] \rangle \quad (2.13)$$

Unter Verwendung der Vertauschungsrelationen für Drehimpulsoperatoren kann Gl. (2.13) umformuliert werden:

$$\frac{d}{dt} \langle \hat{\boldsymbol{\mu}} \rangle = -\frac{i}{\hbar} \langle [\gamma \hat{\mathbf{I}}, -\gamma \hat{\mathbf{I}} \cdot \mathbf{B}] \rangle = \langle \hat{\boldsymbol{\mu}} \rangle \times \gamma \mathbf{B} \quad (2.14)$$

Nimmt man an, dass die magnetischen Momente der N Spins im Probenvolumen V nicht oder nur schwach miteinander wechselwirken, kann Gl. (2.14) auf die makroskopische Magnetisierung (Gl. (2.10)) übertragen werden und man erhält für deren Zeitentwicklung

$$\frac{d\mathbf{M}(t)}{dt} = \mathbf{M}(t) \times \gamma\mathbf{B}(t). \quad (2.15)$$

Gleichung (2.15) beschreibt eine Kreiselbewegung der Magnetisierung $\mathbf{M}(t)$ um die Achse $\mathbf{B}(t)$. Für ein statisches äußeres Magnetfeld $\mathbf{B} = (0, 0, B_0)$ ist die Präzessions- oder Larmorfrequenz dieser Bewegung gegeben durch $\omega_L = \gamma B_0$. Interessanterweise erhält man Gl. (2.15) auch durch die klassische Betrachtung des Elektromagnetismus, wenn man die Bewegung eines Magneten in einem äußeren Feld untersucht. Diese Übereinstimmung von quantenmechanischer und klassischer Betrachtung beim Übergang zu makroskopischen Systemen wird auch als Ehrenfest'sches Theorem bezeichnet.

2.1.4 Makroskopische Magnetisierung im magnetischen Wechselfeld

Zur Vereinfachung der Darstellung der ablaufenden Prozesse in einem NMR-Experiment, in dem dem konstanten äußeren Feld \mathbf{B}_0 ein Hochfrequenzfeld $\mathbf{B}_1(t)$ überlagert wird, betrachtet man die zeitliche Entwicklung der makroskopischen Magnetisierung nicht im Laborsystem S (Achsen: x, y, z) sondern in einem relativ dazu bewegten Koordinatensystem S' (Achsen: $x', y', z' = z$). Das neue Koordinatensystem rotiert dabei mit der Frequenz ω um die z -Achse von S . Die Transformation von Größen aus dem Laborsystem in das rotierende Koordinatensystem wird durch Multiplikation mit der Rotationsmatrix

$$\mathbf{R} = \begin{pmatrix} \cos(\omega_{HF}t) & \sin(\omega_{HF}t) & 0 \\ -\sin(\omega_{HF}t) & \cos(\omega_{HF}t) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (2.16)$$

erzielt.

Strahlt man auf ein Spinsystem ein Hochfrequenz(HF)-Feld mit der oszillierenden Magnetfeldkomponente $\mathbf{B}_1(t) = B_1(\cos(\omega_{HF}t), \sin(\omega_{HF}t), 0)$ ein, die senkrecht zur \mathbf{B}_0 -Achse polarisiert ist, erhält man für die Bewegung der makroskopischen Magnetisierung im rotierenden Koordinatensystem \mathbf{M}' aus Gl. (2.15):

$$\frac{d\mathbf{M}'(t)}{dt} = \gamma\mathbf{M}'(t) \times \begin{pmatrix} B_1 \\ 0 \\ B_0 - \frac{\omega_{HF}}{\gamma} \end{pmatrix} = \gamma\mathbf{M}'(t) \times \mathbf{B}_{eff} \quad (2.17)$$

Wie Gl. (2.15) beschreibt auch Gl. (2.17) eine Präzessionsbewegung von $\mathbf{M}'(t)$ um ein statisches Magnetfeld, in diesem Fall um die Richtung des effektiven Magnetfeldes \mathbf{B}_{eff} . Im Resonanzfall

$$\omega_{HF} = \omega_L = \omega_0 = \gamma B_0 \quad (2.18)$$

verschwindet die z -Komponente von \mathbf{B}_{eff} und $\mathbf{M}'(t)$ rotiert um die x' -Achse. Der Rotationswinkel α – in der NMR auch Flipwinkel genannt –, den der Magnetisierungsvektor nach Abschalten des amplitudenmodulierten B_1 -Feldes zur Zeit t_p akkumuliert hat, ist gegeben durch

$$\alpha = \int_0^{t_p} \gamma B_1(\tau) d\tau. \quad (2.19)$$

Wenn B_1 mit konstanter Amplitude während t_p eingestrahlt wird, gilt $\alpha = \gamma B_1 t_p$. Diese Art der Hochfrequenz-Anregung eines Spinsystems bezeichnet man auch als CONTINUOUS-WAVE (CW) Anregung.

Ein einfaches Experiment zur Beobachtung von NMR besteht aus der Einstrahlung eines HF-Feldes, das den Magnetisierungsvektor eines Spinsystems um 90° aus der Richtung des äußeren statischen Felds B_0 auslenkt. Danach wird der Magnetisierungsvektor mit der Frequenz $\omega = \gamma B_0$ in der Ebene senkrecht zur Richtung von B_0 präzedieren. In einer Leiterschleife, deren Achse senkrecht zu B_0 orientiert ist, induziert die präzedierende Magnetisierung eine detektierbare Spannung, deren Größe proportional zur Transversalmagnetisierung ist. Diese Spannung stellt das Messsignal von MRS und MRT dar.

2.1.5 Die Bloch-Gleichungen

Bloch hatte die Absicht, die Phänomene, die er bei den NMR-Experimenten seiner Mitarbeiter in Flüssigkeiten beobachten konnte, zu beschreiben. Aus der Bewegungsgleichung (2.15) erwartet man für das Messsignal eines Kernresonanzexperiments, wie in Abschnitt 2.1.4 beschrieben, eine ungedämpfte Schwingung. In einem realen Experiment beobachtet man jedoch, dass das Messsignal nach einer Zeit abklingt und sich die Magnetisierung entlang des statischen Magnetfelds wieder in der ursprünglichen Größe aufbaut. Dieser Vorgang wird als Relaxation bezeichnet. Bloch ergänzte also Gl. (2.15) um phänomenologische Terme [Bloch 1946], die das Verhalten der Magnetisierung während eines NMR-Experiments in flüssigen Proben vollständig beschreiben:

$$\frac{d\mathbf{M}'(t)}{dt} = \mathbf{M}' \times \gamma \mathbf{B}_{eff} - \begin{pmatrix} M_{x'}/T_2 \\ M_{y'}/T_2 \\ M_z - M_0/T_1 \end{pmatrix} \quad (2.20)$$

Hier ist M_i ($i = x', y', z$) die Größe der Magnetisierung entlang der verschiedenen Raumrichtungen des rotierenden Koordinatensystems. T_1 und T_2 sind Konstanten, die als Relaxationszeiten bezeichnet werden und in Abschnitt 2.1.6 näher beschrieben werden.

Mit der Differenz $\Delta\omega = \omega - \omega_0$ der Frequenz des eingestrahlteten HF-Felds zur Larmorfrequenz $\omega_0 = \gamma B_0$ und der Amplitude $\omega_1 = \gamma B_1$ des eingestrahlteten HF-Felds, erhält man folgende

Gleichungen

$$\frac{d}{dt}M_{x'}(t) = -\frac{M_{x'}}{T_2} - \Delta\omega M_{y'} \quad (2.21)$$

$$\frac{d}{dt}M_{y'}(t) = -\frac{M_{y'}}{T_2} + \Delta\omega M_{x'} + \omega_1 M_z \quad (2.22)$$

$$\frac{d}{dt}M_z(t) = -\frac{M_z - M_0}{T_1} - \omega_1 M_{y'}, \quad (2.23)$$

die als Bloch-Gleichungen bezeichnet werden.

Für die allgemeine Lösung der Bloch-Gleichungen nach einer HF-Anregung berücksichtigt man lediglich das statische Magnetfeld, wobei man annimmt, dass Relaxationsprozesse während der Anregung des Spinsystems durch einen HF-Puls aufgrund der kurzen Pulsdauer t_p vernachlässigbar sind. Man betrachtet also nur die freie Relaxation ohne HF-Feld. Fasst man beide transversalen Komponenten zu $M_{Tr} = M_{x'} + iM_{y'}$ zusammen, erhält man für die zeitliche Entwicklung der Magnetisierung

$$M_{Tr}(t) = M_{Tr}(0) \cdot e^{-t/T_2} \quad (2.24)$$

$$M_z(t) = M_0 - (M_0 - M_z(0))e^{-t/T_1}. \quad (2.25)$$

Eine stationäre Lösung der Bloch-Gleichungen nach einer HF-Anregung ergibt sich, wenn die zeitlichen Ableitungen der Magnetisierungskomponenten verschwinden ($dM_x/dt = dM_y/dt = dM_z/dt = 0$):

$$M_{x'} = \Delta\omega\gamma B_1 T_2^2 \cdot \Gamma \quad (2.26)$$

$$M_{y'} = \gamma B_1 T_2 \cdot \Gamma \quad (2.27)$$

$$M_z = [1 + (\Delta\omega T_2)^2] \cdot \Gamma \quad (2.28)$$

mit

$$\Gamma \equiv \frac{M_0}{1 + (\Delta\omega T_2)^2 + \gamma^2 B_1^2 T_1 T_2}. \quad (2.29)$$

Die transversalen Magnetisierungskomponenten $M_{x'}$ und $M_{y'}$ im rotierenden Koordinatensystem können im Laborsystem berechnet werden durch:

$$M_x = M_{x'} \cos\omega t - M_{y'} \sin\omega t \quad (2.30)$$

$$M_y = M_{x'} \sin\omega t + M_{y'} \cos\omega t \quad (2.31)$$

$$M_x + iM_y = (M_{x'} + iM_{y'})e^{i\omega t} \quad (2.32)$$

Durch Einsetzen der Werte für die Komponenten aus Gl. (2.26) und (2.27) erhält man für die stationäre Lösung der Komponente in x -Richtung:

$$\begin{aligned} M_x &= \Delta\omega\gamma B_1 T_2^2 \Gamma \cos\omega t - \gamma B_1 T_2 \Gamma \sin\omega t \\ &= 2B_1(\chi' \cos\omega t - \chi'' \sin\omega t). \end{aligned} \quad (2.33)$$

Die Komponenten der Magnetisierung im Laborsystem sind zeitabhängig und dafür verantwortlich, dass in einer Empfangsspule eine Wechselspannung mit der Frequenz ω induziert wird. Die Empfangseinheiten von NMR Systemen sind standardmäßig durch einen Quadro-Demodulator in der Lage, beide transversalen Magnetisierungskomponenten zu messen. Die Größen χ' und χ'' sind die Komponenten einer komplexen Suszeptibilität χ , die die Magnetisierung in der Transversalebene als Funktion der HF-Amplitude B_1 beschreiben. Ihre Größe ergibt sich mit den stationären Lösungen der Bloch-Gleichungen (Gl. (2.26),(2.27)) und Gl. (2.33) zu

$$\chi' = \frac{M_{x'}}{B_1} = \frac{\frac{1}{2}\Delta\omega\gamma T_2^2 M_0}{1 + (\Delta\omega T_2)^2 + \gamma^2 B_1^2 T_1 T_2} \quad (2.34)$$

$$\chi'' = \frac{M_{y'}}{B_1} = \frac{\frac{1}{2}\gamma T_2 M_0}{1 + (\Delta\omega T_2)^2 + \gamma^2 B_1^2 T_1 T_2}. \quad (2.35)$$

Dies lässt sich umschreiben zu

$$\chi' = \frac{1}{2}\pi\Delta\omega T_2' \gamma M_0 \cdot f_{T_2'}(\Delta\omega) \quad (2.36)$$

$$\chi'' = \frac{1}{2}\pi\gamma M_0 (1 + \gamma^2 B_1^2 T_1 T_2)^{-\frac{1}{2}} \cdot f_{T_2'}(\Delta\omega), \quad (2.37)$$

wobei $T_2' = \frac{T_2}{\sqrt{1 + \gamma^2 B_1^2 T_1 T_2}}$. $f_{T_2'}$ beschreibt die Linienform des Systems, die in diesem Fall eine Lorentzkurve

$$\frac{T_2'}{\pi} \cdot \frac{1}{1 + (T_2' \Delta\omega)^2} \quad (2.38)$$

mit Halbwertsbreite $\Delta = 2/T_2'$ ist. Generell kann die Linienform der Resonanzen eines Spinsystems in NMR-Experimenten durch eine Glockenkurve mit der maximalen Intensität bei ω_0 beschrieben werden. Die genaue Form der Kurve ist stark abhängig von verschiedenen Eigenschaften des Systems, die im weiteren Verlauf der Arbeit noch genauer beschrieben werden.

So lange die Anregung des Spinsystems mit genügend kleinem B_1 erfolgt, kann eine lineare Antwort des Systems angenommen werden. Wenn gilt $\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2 \ll 1$, erhält man für die stationäre Lösung der Bloch-Gleichungen aus Gl. (2.27) ein MR-Signal der Form

$$\frac{\gamma B_1 M_0 T_2}{1 + (T_2 \Delta\omega)^2}. \quad (2.39)$$

Ist die Linienform des Spinsystems bekannt, lässt sich die Impulsantwort des Systems durch die Suszeptibilität berechnen zu

$$g(t) = \frac{2}{\pi} \int_0^\infty \chi''(\Delta\omega) \cos(\Delta\omega t) d\Delta\omega. \quad (2.40)$$

2.1.6 Relaxation

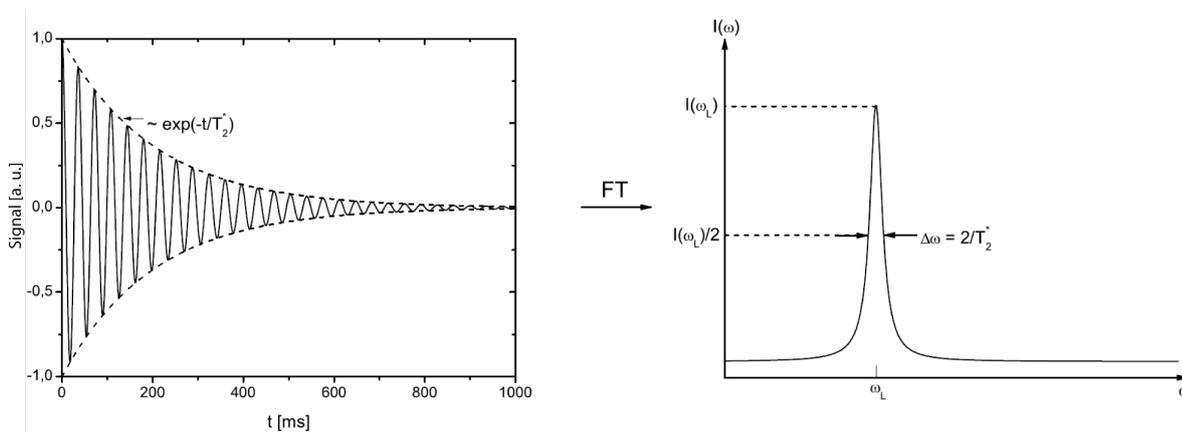


Abbildung 2.1: Zeitlicher Verlauf des FID-Signals mit Relaxation. Durch Fouriertransformation (FT) des Signals in der Zeitdomäne erhält man die Intensität in der Frequenzdomäne.

Die charakteristische Zeit für die Einstellung des thermischen GG-Werts der Magnetisierung wird mit T_1 bezeichnet, und T_2 ist die Zeit, in der die transversale Magnetisierung verschwindet. Beide Relaxationsprozesse entstehen durch inter- bzw. intramolekulare Störfelder und beruhen dabei auf der Tatsache, dass die in der Probe vorhandenen elektrischen und magnetischen Momente im thermischen Gleichgewicht wegen ihrer vielfältigen Schwingungs-, Rotations- und Translationsbewegungen fluktuierende Magnetfelder unterschiedlichster Frequenzen erzeugen. Der zur Resonanzfrequenz der Probe isochromatische Anteil dieses Frequenzspektrums induziert nun Übergänge zwischen den Zeeman-Niveaus einzelner Spinsysteme. Dieser Austausch von Energie aus dem thermodynamischen Reservoir – auch als Gitter bezeichnet – auf die Spinsysteme führt zur Wiederherstellung der longitudinalen Magnetisierung im thermischen Gleichgewicht, weswegen die T_1 -Relaxation auch als Spin-Gitter-Relaxation bezeichnet wird.

Die Auflösung der Transversalmagnetisierung wird als Ergebnis der Wechselwirkung einzelner Spins gedeutet. Nach dem Einstrahlen eines HF-Pulses mit dem Flipwinkel 90° sind alle Spins phasenrichtig zueinander in der Transversalebene ausgerichtet. Diese Phasenkohärenz geht mit der Zeitkonstante T_2 aufgrund verschiedener Spin-Spin-Wechselwirkungen vollständig und irreversibel verloren, wodurch die Transversalmagnetisierung exponentiell abfällt. Die T_2 -Relaxation wird daher auch als Spin-Spin-Relaxation bezeichnet. Durch das Abklingen der Transversalmagnetisierung verschwindet auch das messbare MR-Signal, was als freier Induktionszerfall (FID für

FREE INDUCTION DECAY) bezeichnet wird (Abb. 2.1). Für einen Verlust der Phasenkohärenz sorgen auch Inhomogenitäten des Grundfelds ΔB_0 , denn lokal leicht unterschiedliche ω_0 führen natürlich auch zu einer Dephasierung. Daher wird zusätzlich auch die effektive T_2 -Relaxationszeit T_2^* definiert:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \Delta B \cdot \text{const} \quad (2.41)$$

Um einen Eindruck über Größenordnungen von Relaxationszeiten in menschlichem Gewebe zu geben, sind Messwerte in Tab. 2.1 zusammengestellt.

Tabelle 2.1: Relaxationszeiten von verschiedenen Geweben *in vivo* bei $B_0 = 1, 5; 3$ und 7 T; aus [Stanisz et al. 2005; Wright et al. 2008]

Gewebe	1, 5 T		3 T		7 T
	T_1 [ms]	T_2 [ms]	T_1 [ms]	T_2 [ms]	T_1 [ms]
Weißer Hirnschicht	650 ± 30	72 ± 4	840 ± 50	69 ± 3	1130 ± 100
Graue Hirnschicht	1200 ± 130	95 ± 8	1600 ± 110	99 ± 7	1940 ± 150
Leber	576 ± 30	46 ± 6	812 ± 64	42 ± 3	—
Muskel	1008 ± 20	44 ± 6	1412 ± 13	50 ± 4	—
Knorpel	1024 ± 70	30 ± 4	1168 ± 18	27 ± 3	—

2.1.7 Chemische Verschiebung

Betrachtet man statt freier Protonen in Molekülen gebundene Protonen, muss man einen weiteren, für die NMR wichtigen Effekt berücksichtigen, der auf den Einfluss der molekularen Elektronenhülle zurückzuführen ist: Die Elektronenhülle bewirkt eine Abschirmung des Kerns vom äußeren Feld B_0 , auf den somit ein lokales Feld $B_{loc} = B_0 + \delta B$. Die resultierende Verschiebung der Resonanzfrequenz $\delta\omega = \gamma\delta B$ von der Larmorfrequenz ist von der chemischen Umgebung des Atoms und somit von der Struktur des Moleküls abhängig. Sie wird daher als CHEMISCHE VERSCHIEBUNG (auch: CHEMICAL SHIFT) bezeichnet und als feldunabhängiges Frequenzverhältnis in ppm (d.h. Hz/MHz) angegeben:

$$\delta[\text{ppm}] = \frac{\omega - \omega_{ref}}{\omega_{ref}} \cdot 10^6 \quad (2.42)$$

ω_{ref} ist dabei die Larmorfrequenz einer willkürlich gewählten Referenzsubstanz – in der ^1H -NMR üblicherweise Protonen der Methylgruppe von Tetramethylsilan (TMS, $\delta = 0$). Die chemische Verschiebung wird konventionsgemäß bei der Darstellung eines NMR-Spektrums von links nach rechts abfallend aufgetragen. Die Verschiebung der Protonen von freiem Wasser wird bei MRS-Experimenten *in vivo* gewöhnlich mit $\delta = 4, 7$ ppm angegeben.

2.2 Transfer von Magnetisierung

Als MAGNETISIERUNGSTRANSFER (MT) bezeichnet man allgemein magnetische Wechselwirkungen zwischen Spinsystemen, die zu Änderungen von ihren Magnetisierungszuständen führen. Die Methoden und Techniken, die im Rahmen dieser Arbeit entwickelt und angewendet wurden, basieren auf diesem Phänomen, weswegen an dieser Stelle eine ausführlichere Beschreibung der physikalischen Grundlagen des Magnetisierungstransfers gegeben wird.

2.2.1 Das Pool-Modell

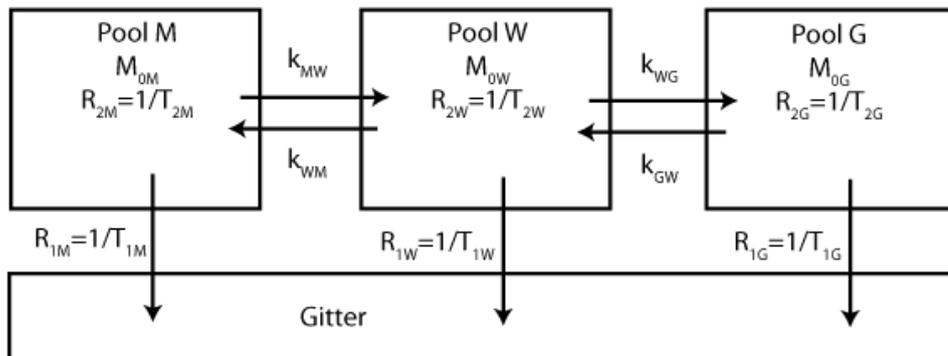


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung der Relaxations- und Austauschparameter eines gekoppelten Systems bestehend aus den Pools W, M und G.

Bisher war die Betrachtung von NMR zunächst auf magnetisch identische Spins, die ein Spinsystem bilden, beschränkt. Im Anschluss wurden Relaxationsprozesse als Wechselwirkungen der Spins mit ihrer Umgebung beschrieben. In Abschnitt 2.1.7 wurde gezeigt, dass die magnetische Umgebung von Kernen deren Resonanzfrequenz beeinflusst. Es gibt also mehrere Parameter, in denen sich Spinsysteme unterscheiden können. Protonen-Spinsysteme, die gleichartige magnetische Eigenschaften – Resonanzfrequenzen und Relaxationsparameter – besitzen, werden im folgenden zu Pools zusammengefasst.

Bei der Betrachtung mehrerer Pools tauchen bisher noch nicht beschriebene Wechselwirkungen auf, die mit dem Austausch von Magnetisierung einhergehen. Je nach Anzahl n der betrachteten Pools in einem Messvolumen, werden diese aufgrund ihrer Kopplungen zu Systemen zusammengefasst, welche als n -Pool-Systeme bezeichnet werden. Bei der Beschreibung von Magnetisierungstransfer-Phänomenen in biologischem Gewebe kann vereinfachend zwischen 3 Pools unterschieden werden. Sie bestehen aus

- Pool W – Protonen von frei beweglichen Wassermolekülen
- Pool M – Protonen, die an Makromolekülen gebunden sind
- Pool G – Protonen von chemischen Gruppen in gelösten Metaboliten

In diesem 3-Pool-System wechselwirken alle Pools miteinander, untereinander und mit ihrer

Umgebung, dem Gitter. Die magnetischen Wechselwirkungen untereinander und mit dem Gitter wurden durch T_2 und T_1 bereits beschrieben. Der Transfer von Magnetisierung miteinander wird im Folgenden ebenfalls mit Ratenkonstanten, den sogenannten Austauschraten k_{xy} ($x, y = W, M, G$) beschrieben. Eine schematische Illustration der Verbindungen innerhalb des 3-Pool-Systems und der zugehörigen Ratenkonstanten zeigt Abb. 2.2.

2.2.2 Dipol-Dipol-Kopplung

Die Interaktionen zwischen Spins, die durch deren magnetische Felder vermittelt werden, werden als DIPOL-DIPOL-KOPPLUNGEN (DDK) bezeichnet. Während die dipolaren Wechselwirkungen in isotropen Flüssigkeiten bei der Betrachtung einzelner Spins aufgrund von Bewegung verschwinden (Der Hamiltonoperator, der die DD-Wechselwirkung zwischen zwei Spins I und J beschreibt, wird im isotropen zeitlichen Mittel $\cong 0$), ist es bei der Betrachtung von Spins auf molekularem Level trotzdem möglich, DDK zu beobachten und zu berechnen. Die Rotationskorrelationszeit τ_c zwischen zwei Molekülen ist von entscheidender Bedeutung für das Zustandekommen von DDK. Zunehmende Molekülmasse und Viskosität des Lösungsmittels verlangsamen die Rotation und Translation von Molekülen, wodurch die Zeit für gerichtete Wechselwirkung zwischen zwei Molekülen τ_c erhöht wird. Je nach Größe von τ_c ergeben sich Übergangswahrscheinlichkeiten für Null-, Einzel- und Doppelquantenübergänge zweier dipolar koppelnder Kernspins, wodurch Magnetisierung übertragen, aber auch Relaxation ausgelöst werden kann. Alle Übergangswahrscheinlichkeiten W sind proportional zum Quadrat der dipolaren Kopplungskonstante $b = -\frac{\mu_0 \gamma^2 \hbar}{4\pi r^3}$, so dass gilt

$$W \propto b^2 \propto \frac{1}{r^6} \quad (2.43)$$

DDK ist homonuklear, d.h. zwischen Kernen eines Isotops, und heteronuklear möglich. Darüber hinaus können inter- und intramolekulare DDK unterschieden werden. Für diese Arbeit ist lediglich die homonukleare DDK zwischen Protonen relevant. Inter- und intramolekulare DDK sind in biologischen Systemen allerdings gleichwohl beobachtbar. Während die intermolekulare DDK aufgrund der Bewegung von Molekülen und räumlicher Geometrien eingeschränkt sein kann, unterliegt die Bewegung von Kernen und der Abstand der Kerne innerhalb eines Moleküls deutlich geringeren Schwankungen.

DDK kann in hochaufgelöster NMR-Spektroskopie direkt oder indirekt als nuklearer Overhauser-Effekt (NOE) beobachtet werden. Der NOE beruht darauf, dass eine selektive Einstrahlung eines HF-Feldes auf einen Pool zu einer Verstärkung der longitudinalen Magnetisierung eines anderen, dipolar gekoppelten Pools führen kann. In solchen NOE-Experimenten konnte gezeigt werden, dass Wasserprotonen, die an der Oberfläche eines Makromoleküls gebunden sind, also die Hydrathülle des Moleküls bilden, Verweilzeiten im Subnanosekunden-Bereich besitzen [Otting et al. 1991; Liepinsh et al. 1992b,a] und somit nur sehr ineffektiv dipolar gekoppelt sind. Andere Untersuchungen ergaben jedoch, dass sich eine geringe Anzahl von Wassermolekülen innerhalb der dreidimensionalen Struktur eines Makromoleküls befinden kann, die bedeutend weniger Bewegung und effektive DDK mit makromolekularen Protonen zeigt [Otting et al. 1991; Kakalis and

Baianu 1988; Denisov and Halle 1995b]. Die DDK zwischen Protonen von großen Makromolekülen und Protonen von freiem Wasser ist somit auf wenige Fälle beschränkt, in denen die Verweilzeiten von freien Wassermolekülen an der Moleküloberfläche ausreichend lang sind [Koenig et al. 1993; Koenig and Brown III 1993; Iino 1994; Denisov and Halle 1995a].

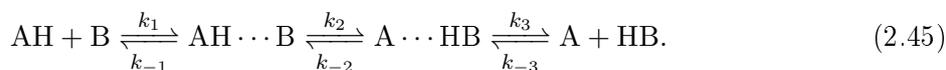
2.2.3 Chemischer Austausch

Als CHEMISCHEN AUSTAUSCH (CE für Chemical Exchange) bezeichnet man alle Prozesse, in denen ein isolierter Kernspin zwischen zwei chemischen Umgebungen ausgetauscht wird, wodurch seine NMR-Parameter – z.B. chemical Shift, Relaxationszeiten etc. – verändert werden. Der Austausch ist dabei reversibel und wird mit folgender Reaktionsgleichung beschrieben



A und B sind beliebige Atome, H ein Proton. Ist das Proton an A oder B gebunden, befindet es sich in unterschiedlichen chemischen Umgebungen, sofern $A \neq B$. A und B stellen also per se keine in Abschnitt 2.2 beschriebenen Pools dar. Ein Pool umfasst stattdessen die Gesamtmenge der vorhandenen Protonen innerhalb einer chemischen Umgebung, im chemischen Bild also die Konzentration der Protonen, die an A bzw. B gebunden vorliegt [AH], [HB].

CE unterscheidet sich in zwei entscheidenden Punkten von DDK: Weder Abstand noch Korrelationszeit zwischen Protonen werden bei der Beschreibung von CE berücksichtigt. Dies liegt vor allem daran, dass die Austauschprozesse von CE im Gegensatz zu DDK in der NMR-Literatur nicht auf Kern- oder sogar Kernspin-Ebene beschrieben werden. Stattdessen erfolgte eine Charakterisierung von CE häufig auf makroskopischer Ebene. Die relevanten Größen sind dort die Ratenkonstanten des chemischen Austausch k . Sie geben die Wahrscheinlichkeit $k_{AB} \cdot \tau$ an, mit der ein Teilchen nach der Zeit τ von Pool A in den Pool B gewechselt ist. Der CE von Protonen in wässriger Lösung kann mit der von Eigen [Eigen 1964] formulierten Elementarreaktion auf atomarer Ebene beschrieben werden



Die gepunktet dargestellten Verbindungen stellen Zwischenzustände dar, in denen die Bindung der Protonen an die jeweiligen Atome nicht mehr kovalent ist, sondern durch Wasserstoffbrücken erfolgt. Die Lebensdauer der Zwischenzustände ist i.A. sehr kurz, was z.B. mit excited-state proton transfer (ESPT)-Methoden aufgelöst werden kann [Pines et al. 1997; Huppert et al. 1997]. Die Abstände zwischen den Atomen in den einzelnen Zuständen werden oft mit NMR gemessen, da sie Einflüsse auf die skalare Kopplung benachbarter Kerne im Molekül besitzen.

Wesentlich häufiger wird der CE in der NMR allerdings auf molekularer Ebene betrachtet, wo sich die Reaktionsgleichung aus (2.45) vereinfacht zu Gl. (2.44), weil nur Ausgangsstoffe und Endpro-

dukte, nicht aber Zwischenzustände betrachtet werden. Gl. (2.44) ist eine Gleichgewichtsreaktion, in der gilt:

$$\frac{k_{AB}}{k_{BA}} = \frac{[\text{HB}]}{[\text{AH}]} = K \quad (2.46)$$

K ist die Gleichgewichtskonstante der Reaktion. Wenn die Größen der Pools gleich sind, also wenn gilt $[\text{HB}] = [\text{AH}]$, dann sind auch die Austauschraten in beide Richtungen gleich ($k_{BA} = k_{AB} = k$). Generell wird die Ratenkonstante des Protonenaustausch beschrieben durch [Woodward and Hilton 1980; Liepinsh and Otting 1996; Zhou and van Zijl 2006]

$$\begin{aligned} k &= k_H[\text{H}^+] + k_{OH}[\text{OH}^-] + k_0 \\ &= k_H \cdot 10^{-\text{pH}} + 10^{\text{pH}-\text{p}K_W}, \end{aligned} \quad (2.47)$$

wobei k_H, k_{OH}, k_0 die Austauschraten der Reaktion für Katalyse durch Säuren ($[\text{H}^+]$), Basen ($[\text{OH}^-]$) oder sonstige Katalysatoren sind; $\text{p}K_W$ ist die Dissoziationskonstante von Wasser. Die Ratenkonstanten k_H und k_{OH} können mit

$$k_{\text{H, OH}} = k_{Diff} \frac{1}{1 + 10^{\text{p}K_{Do} - \text{p}K_{Ak}}} \quad (2.48)$$

berechnet werden [Liepinsh and Otting 1996]. Dabei ist k_{Diff} die Ratenkonstante für den diffusionsabhängigen Kontakt zwischen Protonendonator und -akzeptor (in der Größenordnung von $10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, [Eigen 1963]) und $\text{p}K_{Do}$ bzw. $\text{p}K_{Ak}$ sind deren Dissoziationskonstanten. Der Ausdruck $(1 + 10^{\text{p}K_{Do} - \text{p}K_{Ak}})^{-1}$ beschreibt somit die Wahrscheinlichkeit für Protonentransfer, wenn sich Donor und Akzeptor im Gleichgewicht befinden.

Mit Gl. (2.47) und (2.48) lassen sich gute Vorhersagen für die Austauschraten in einfachen säure- oder basenkatalysierten Reaktionen treffen, wie z.B. dem Protonentransfer zwischen Aminosäureseitenketten und freiem Wasser [Wagner 1977; Wüthrich 1986]. Ist bekannt, inwiefern es sich bei einer Austauschreaktion um eine säure- oder basenkatalysierte Reaktion handelt, lässt sich der Zusammenhang aus Gl. (2.47) vereinfachen. Man erhält z.B. für die Ratenkonstante des Austauschs von Amidprotonen mobiler Proteine und Peptide mit freiem Wasser, der nachgewiesenermaßen basenkatalysiert ist [Englander et al. 1972; Wüthrich and Wagner 1979; Wüthrich 1986; Liepinsh and Otting 1996; McMahon et al. 2006]:

$$k_{GW} \cong k_{OH}[\text{OH}^-] = k_{OH} \cdot 10^{\text{pH} - \text{p}K_w}, \quad (2.49)$$

wobei sich die Indizes G und W wie oben auf die Pools der Protonen von gelösten Molekülen bzw. von freien Wassermolekülen beziehen. Zhou *et al.* bestimmten $5,57 \cdot 10^9 \text{ Hz}$ für k_{OH} [Zhou et al. 2003], wodurch sich mit $\text{p}K_W = 15,4$ bei 37°C und $\text{pH} 7$ eine effektive Rate für den Austausch von Amidprotonen kleiner mobiler Proteine mit freien Wassermolekülen berechnen lässt:

$$k_{GW} \cong 2,22 \cdot 10^{\text{pH}} \text{ Hz} = 35,77 \text{ Hz} \quad (2.50)$$

Eine explizite Abhängigkeit der Austauschrate vom pH-Wert ist bereits aus Gl. (2.49) ersichtlich. Allerdings besteht darüber hinaus eine indirekte Abhängigkeit der Austauschrate von der Temperatur [Englander et al. 1972], deren Mechanismen nicht vollständig verstanden sind. Untersuchungen haben ergeben, dass die Vibrationsenergien der Moleküle und somit die Tunnelwahrscheinlichkeiten eine direkte Temperaturabhängigkeit haben [Glasstone et al. 1941; Bell 1980]. Dies spiegelt sich vereinfacht im Dissoziationsgrad und somit in den pK -Werten der beteiligten Moleküle wider.

2.2.4 Magnetisierungstransfer-Experimente in der NMR

Um MT in der NMR sichtbar zu machen, müssen zwei miteinander gekoppelte Pools vorhanden sein. Prägt man einem Pool durch resonante Einstrahlung von HF-Leistung einen bestimmten Magnetisierungszustand auf, wird ein Teil der Magnetisierung via Magnetisierungstransfer auf den gekoppelten Pool übertragen, was in einer anschließenden Auslese seines NMR-Signals sichtbar gemacht werden kann. In der MRT ist vor allem eine Sorte von MT-Experimenten von großer Bedeutung. Dabei wird der MT von großen, sich nur langsam bewegenden, „festkörperartigen“ Makromolekülen, die in biologischem Gewebe ubiquitär vorkommen, auf freies Wasser experimentell visualisiert. Der Ausdruck „festkörperartig“ ist nicht darauf zurückzuführen, dass die betrachteten Makromoleküle (Nukleinsäuren, Kohlenhydrate oder Proteine, die eine Molekülmasse 1000 u besitzen) tatsächlich starre Strukturen darstellen, sondern vielmehr einige „festkörperartige“ Eigenschaften besitzen. So führt die dreidimensionale Faltung der Moleküle, die darauf optimiert ist, deren räumliche Ausdehnung zu minimieren und ihre biologische Funktion zu optimieren, dazu, dass viele intramolekulare Spin-Spin-Wechselwirkungen stattfinden, was im Zusammenspiel mit oftmals eingeschränkter Mobilität der Moleküle zu T_2 -Relaxationszeiten in der Größenordnung von einigen μs führt [Edzes and Samulski 1977]. Diese extrem kurzen transversalen Relaxationszeiten führen zu extrem breiten Resonanzlinien, die typischerweise im Bereich von einigen kHz liegen, was aus den Beschreibungen in Abschnitt 2.1.5 abzuleiten ist. Die Nutzung des MT-Effekts, der durch diese „festkörperartigen“ makromolekularen Strukturen übertragen wird, zur Generierung eines Kontrasts für die *In-vivo*-MRT wurde erstmals durch Wolff und Balaban beschrieben [Wolff and Balaban 1989]. Eine ausführliche Zusammenfassung der theoretischen Grundlagen und möglichen Anwendungen dieser Art von MT in *In-vivo*-Experimenten ist zu finden in [Henkelman et al. 2001] und wird im folgenden Text als konventioneller MT bezeichnet.

2.3 Chemischer Austausch und NMR

2.3.1 Bloch-McConnell-Gleichungen

Besteht zwischen zwei in Abschnitt 2.2 beschriebenen Pools W und G ein Austausch von Magnetisierung, lässt sich die zeitliche Entwicklung der Magnetisierung in den Pools durch einen Formalismus beschreiben, der einer Erweiterung der Bloch-Gleichungen entspricht. Mathematische Fassungen der Vorgänge wurden 1955 von Solomon [Solomon 1955] bzw. 1958 von McConnell [McConnell 1958] vorgestellt. Während sich die Herleitung von Solomon auf die Beeinflussung der Übergangswahrscheinlichkeiten von Quantenzuständen in dipolar gekoppelten Spins (I, S) stützte, führte McConnell die Wechselwirkungen zwischen Pools auf chemischen Austausch von Magnetisierung zurück. Beide Formulierungen zur Beschreibung der zeitlichen Entwicklung der Pool-Magnetisierungen sind mathematisch äquivalent mit den folgenden Substitutionen:

$$\rho_I = \frac{1}{R_{1W} + k_{WG}} \quad \rho_S = \frac{1}{R_{1G} + k_{GW}} \quad (2.51)$$

$$\sigma_I = -k_{GW} \quad \sigma_S = -k_{WG} \quad (2.52)$$

Da im Rahmen dieser Arbeit Effekte untersucht wurden, die auf chemischem Austausch beruhen, werden im weiteren Verlauf die von McConnell vorgeschlagenen Gleichungen verwendet, um die zeitlichen Entwicklungen der Magnetisierungskomponenten in gekoppelten Pools zu beschreiben. Diese Gleichungen werden allgemein auch als Bloch-McConnell-Gleichungen bezeichnet:

$$\frac{dM_{zG}(t)}{dt} = -\omega_1 M_{yG} \quad -R_{1G}(M_{zG} - M_{0G}) \quad -k_{GW}M_{zG} + k_{WG}M_{zW} \quad (2.53)$$

$$\frac{dM_{zW}(t)}{dt} = -\omega_1 M_{yW} \quad -R_{1W}(M_{zW} - M_{0W}) \quad +k_{GW}M_{zW} - k_{WG}M_{zG} \quad (2.54)$$

$$\frac{dM_{xG}(t)}{dt} = -\Delta_G M_{yG} \quad -R_{2G}M_{xG} \quad -k_{GW}M_{xG} + k_{WG}M_{xW} \quad (2.55)$$

$$\frac{dM_{xW}(t)}{dt} = -\Delta_W M_{yW} \quad -R_{2W}M_{xW} \quad +k_{GW}M_{xG} - k_{WG}M_{xW} \quad (2.56)$$

$$\frac{dM_{yG}(t)}{dt} = \omega_1 M_{zG} + \Delta_G M_{xG} \quad -R_{2G}M_{yG} \quad -k_{GW}M_{yG} + k_{WG}M_{yW} \quad (2.57)$$

$$\frac{dM_{yW}(t)}{dt} = \omega_1 M_{zW} + \Delta_W M_{xW} \quad -R_{2W}M_{yW} \quad +k_{GW}M_{yG} - k_{WG}M_{yW} \quad (2.58)$$

mit den Größen

ω_1	=	γB_1	–	Amplitude des B_1 -Feldes
Δ_i	=	$\omega - \omega_i$	–	Differenz zwischen der Frequenz des eingestrahlten HF-Feldes und der Larmorfrequenz von Pool i
R_1	=	$1/T_1$	–	longitudinale Relaxationsrate
R_2	=	$1/T_2$	–	transversale Relaxationsrate
M	=		–	Magnetisierung auf einer Achse innerhalb eines
k_{WG}	=		–	Ratenkonstante des Protonenaustausch von Pool W zu Pool G

Die Indizes x , y und z geben die Projektion von Variablen auf die jeweilige Achse des rotierenden Koordinatensystems an. Die Indizes G bzw. W geben an, dass sich die entsprechende Größe auf die Eigenschaft eines bestimmten Pools bezieht. In der NMR wird in einer Vielzahl von Experimenten der Magnetisierungstransfer zwischen Wasserprotonen und anderen Pools betrachtet. Die Resonanzfrequenz von Wasserprotonen wird dabei als Referenz genommen und lediglich die Frequenzverschiebung des eingestrahlten HF-Feldes relativ dazu in Einheiten der chemischen Verschiebung angegeben. Man bezeichnet die resultierende Größe $\Delta\omega$ dann als FREQUENZOFFSET oder nur OFFSET des eingestrahlten HF-Feldes.

Für die Gültigkeit der Gleichungen (2.53) bis (2.58) gelten folgende Voraussetzungen zusätzlich zu den Bedingungen der Bloch-Gleichungen:

- Relaxationszeiten des Kerns X innerhalb der Pools G oder W müssen unabhängig von k_{GW} und k_{WG} sein
- Relaxationsprozesse des Kerns X in Pool G sind unabhängig von den Relaxationsprozessen des Kerns X in Pool W

Die Bloch-McConnell Gleichung können analytisch gelöst werden, wenn die Anregung über eine genügend lange Zeit mit CW-Einstrahlung erfolgt, so dass die zeitlichen Ableitungen der Magnetisierungskomponenten verschwinden.

2.3.2 Einfluss von CE auf die NMR-Linienform

Bewegung von Spins auf der Zeitskala der NMR führt zu einer Veränderung ihrer Resonanzlinienform. Eine solche Bewegung kann durch den in Abschnitt 2.2.3 beschriebenen chemischen Austausch gegeben sein. Wenn man sich zwei gleich große, gekoppelte Protonenpools A und B vorstellt, ist der Effekt des Austauschprozesses auf das NMR-Spektrum abhängig vom Verhältnis der Differenz in der chemischen Verschiebung zwischen den Pools ($\Delta\omega = \delta_A - \delta_B$) zur Rate des chemischen Austausch k .

Man unterscheidet normalerweise zwischen drei verschiedenen Größenordnungen des Verhältnisses:

- slow exchange limit: $\left| \frac{\Delta\omega}{k} \right| \gg 1$

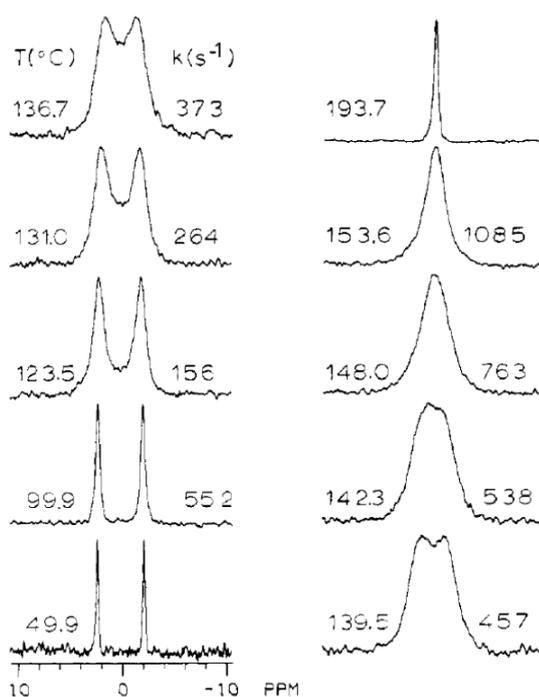


Abbildung 2.3: Experimentelle ^{13}C NMR-Spektren von N, N' -Dimethylformamid-Gas in Abhängigkeit der Temperatur gemessen bei 4, 7 T (Quelle: [Ross and True 1984]).

- intermediate exchange limit: $\left| \frac{\Delta\omega}{k} \right| \approx 1$
- fast exchange limit: $\left| \frac{\Delta\omega}{k} \right| \ll 1$

Während die Resonanzlinien zweier Pools, deren chemischer Austausch im slow exchange limit liegt, deutlich von einander getrennt im NMR-Spektrum auflösbar sind, fließen sie mit zunehmender Austauschrate immer mehr zusammen. Im fast exchange limit ist schließlich nur noch eine Resonanzfrequenz messbar, die bei symmetrischem Austausch – d.h. $k_{AB} = k_{BA}$ – in der Mitte zwischen den Resonanzfrequenzen der beiden Pools liegt (Abb. 2.3). Bei asymmetrischem Austausch – d.h. $k_{AB} \neq k_{BA}$ – wird die im fast exchange limit messbare Linie eine Resonanzfrequenz besitzen, die sich aus der mittleren Resonanzfrequenz der beiden Pools gewichtet mit der Gleichgewichtskonstante der Austauschreaktion ergibt. Mit Gl. (2.46) erhält man die chemische Verschiebung der resultierenden Resonanzlinie:

$$\delta_{res} = \frac{[A]\delta_A + [B]\delta_B}{[A] + [B]} = \frac{\delta_A + K\delta_B}{1 + K} \quad (2.59)$$

2.4 Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST)

CEST bildet die Grundlage der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Methoden. Ein CEST-Experiment ist in zwei Punkten mit einem konventionellem MT-Experiment vergleichbar:

- HF-Leistung wird off-resonant von der Frequenz der Protonen freien Wassers (Pool W) eingestrahlt, um einen mit Pool W gekoppelten Pool zu sättigen
- Die Messgröße ist die durch Magnetisierungstransfer nach Sättigung reduzierte Magnetisierung von Pool W

Jedoch weicht CEST in folgenden Punkten beträchtlich von MT ab:

- Es wird ausschließlich der Teil der transferierten Magnetisierung betrachtet, der durch chemischen Austausch eines Pools von labilen Protonen – auch als CEST-Pool bezeichnet – mit Pool W bedingt ist
- Die Resonanzfrequenz eines CEST-Pools S ist ungleich der von Pool W : $\omega_S \neq \omega_W$
- Die Resonanz des CEST-Pools kann spektral aufgelöst und dadurch selektiv angeregt werden
- HF-Anregungsmuster, die Sättigung generieren sollen, müssen daher nicht nur effizient, sondern auch frequenzselektiv sein

Im Folgenden sollen sowohl die Gemeinsamkeiten als auch die speziellen Unterschiede zwischen einem konventionellen MT-Experiment und CEST-Experimenten näher beschrieben werden.

2.4.1 Sättigung

Im Regelfall betrachtet man in einfachen NMR-Experimenten resonante Absorption von HF-Strahlung in einem Spinsystem wie in Abschnitt 2.1.5 beschrieben. Im quantenmechanischen Bild entspricht dies einer Anregung von Übergängen zwischen Spinzuständen $|I, m\rangle$, die zu einer Abweichung der Besetzung der Zustände im thermischen Gleichgewicht führt. Bei der Rückkehr der Spinzustände ins thermische Gleichgewicht findet dann Emission von HF-Strahlung statt. In einem verlustfreien System würde die emittierte Leistung genau der Anregungsleistung entsprechen. Nach einer genügend langen Einstrahlung von HF auf ein Spinsystem nähern sich die Besetzungen der Zustände einem Gleichgewicht an, bei dem die Zahl der Spins im angeregten Zustand gleich der im Grundzustand ist [Levitt 2008]. Dieses Verschwinden des Besetzungszahlunterschiedes wird als SÄTTIGUNG bezeichnet und führt dazu, dass bei einer nachfolgenden HF-Anregung kein NMR-Signal mehr detektiert werden kann.

Sättigung kann auch im klassischen Bild mit Hilfe der Bloch-Gleichungen beschrieben werden. Wie auch im quantenmechanischen Bild kann hier nach HF-Anregung eines Spinsystems kein NMR-Signal, also keine Transversalmagnetisierung detektiert werden. Dazu muss M_y aus Gl. (2.27) gleich 0 sein. In Abschnitt 2.1.5 wurde das Messsignal nach resonanter Absorption von HF-Leistung unter der Voraussetzung $\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2 \ll 1$ betrachtet. Es konnte angenommen werden, dass die Antwort des Spinsystems proportional zu B_1 war. Aus den stationären Lösungen der Bloch-Gleichungen erhält man allgemein

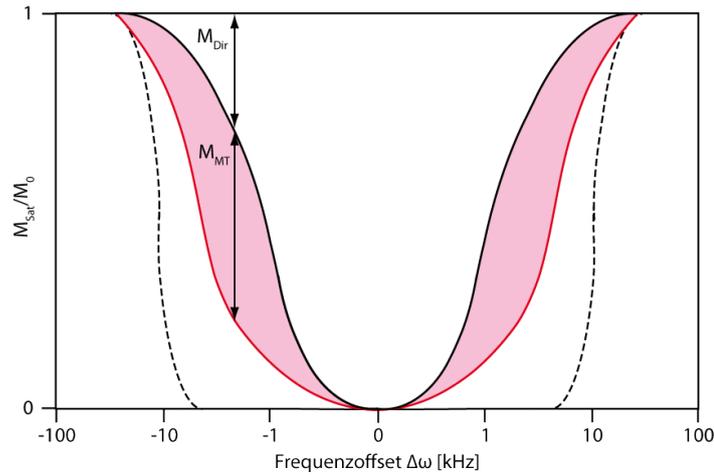


Abbildung 2.4: Typisches z-Spektrum (rote Kurve) eines konventionellen MT-Experiments. Die gemessene Signalreduktion ergibt sich aus zwei Effekten: Direkte Wassersättigung und Magnetisierungstransfer aus dem makromolekularen Pool auf freie Wassermoleküle.

$$M_{y'} = \frac{\pi\gamma B_1 M_0}{1 + (\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2)^{\frac{1}{2}}} \cdot f(\Delta\omega) \quad (2.60)$$

mit der Linienform $f(\Delta\omega)$ wie beschrieben in Gl. (2.38). Wenn B_1 nun gesteigert wird, nimmt die Breite der Resonanzlinie gemäß

$$\frac{T_2}{T_2'} = 1 + (\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2)^{\frac{1}{2}} \quad (2.61)$$

zu. Der Wert von $M_{y'}$ ist maximal auf der Resonanz ($\Delta\omega = 0$) und gleich

$$M_{y'-max} = \frac{\gamma B_1 M_0 T_2}{1 + (\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2)^{\frac{1}{2}}}. \quad (2.62)$$

Betrachtet man den Verlauf von $M_{y'-max}$ auf der Resonanz, erkennt man, dass er für kleine Werte von B_1 proportional zu B_1 ist, dann ein Maximum erreicht für $\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2 = 1$ und gegen Null geht, wenn B_1 weiter erhöht wird. Für große Werte von B_1 lässt sich aus Gl. (2.28) ebenfalls ableiten, dass M_z gegen Null strebt und damit das Erreichen des Sättigungszustandes anzeigt.

2.4.2 Darstellung des Magnetisierungstransfer in der MR

In ihren ersten MT-Experimenten *in vivo* benutzten Wolff und Balaban die bereits 1963 von FORSEN und HOFFMAN vorgestellte Methode des Sättigungstrfers [Forsen and Hoffman 1963] zur Messung des Magnetisierungstrfers zwischen Protonen freien Wassers und Protonen mit

eingeschränkter Beweglichkeit [Wolff and Balaban 1989]. Bei diesem Experiment wurde das MR-Signal von freiem Wasser im Anschluss an eine CW-Einstrahlung von mehreren Sekunden Länge, die der Sättigung von Spinsystemen dienen sollte, gemessen. Bei konstanter HF-Leistung wurde die Veränderung der Intensität des residualen Wassersignals in Abhängigkeit vom Frequenzoffset ($\Delta\omega$) des sättigenden HF-Feldes registriert. Die gemessene Signalintensität von freiem Wasser nach vorheriger Sättigung ($M_{Sat}(\Delta\omega)$) wurde dabei gegen das Signal ohne vorherige Sättigung normiert (M_0). Die Darstellung des normierten Signals aufgetragen gegen den Frequenzoffset des Sättigungspulses zu der Resonanzfrequenz freier Wasserprotonen wird als z-SPEKTRUM bezeichnet [Grad and Bryant 1990] und hat sich zur Visualisierung von MT-Effekten etabliert (Abb. 2.4). In diesem Zusammenhang hat sich die Magnetisierungstransferrate (MTR) als eine aus dem z-Spektrum abgeleitete Größe, die oft zur Quantifizierung von MT verwendet wird, durchgesetzt:

$$\begin{aligned} MTR(\Delta\omega) &= 1 - \frac{M_{Sat}(\Delta\omega)}{M_0} \\ &= 1 - \left(\frac{M_{Dir}}{M_0} + \frac{M_{MT}}{M_0} \right). \end{aligned} \quad (2.63)$$

In Gl. (2.63) ist zu sehen, dass sich die Abschwächung des Wassersignals aus der Summe direkter Sättigung – d.h. Sättigungsleistung wurde trotz off-resonanter HF-Einstrahlung von Wasserprotonen absorbiert – und durch MT übertragener Sättigung zusammensetzt (vgl. auch Abb. 2.4). In der MRT wird der konventionelle MT benutzt, um Bilder mit einem MAGNETISIERUNGSTRANSFERKONTRAST (MTC für MAGNETIZATION TRANSFER CONTRAST) zu erzeugen. Ein solcher Kontrast erweist sich als hilfreich in der MR-ANGIOGRAPHIE (MRA) [Parker et al. 1995] sowie zur Diagnostik von MULTIPLER SKLEROSE (MS) [Silver et al. 1998]. Dabei wird die MTR für jedes Bildelement an einem bestimmten Frequenzoffset bestimmt. Normalerweise wird ein hoher Frequenzoffset (≥ 5 kHz) des Sättigungspulses verwendet, da man über einen weiten Frequenzbereich konventionellen MT detektieren und bei großem Offset die Einflüsse von direkter Wassersättigung minimieren kann.

2.4.3 Selektive Sättigung

Behandelt man ein Spinsystem als ein kausales lineares System, kann die Form der Absorptionslinie wie in Abschnitt 2.1.5 beschrieben als der Realteil einer komplexen Suszeptibilität betrachtet werden. Die Impulsantwort des Spinsystems kann dann allgemein berechnet werden zu (vgl. Gl. (2.40)):

$$g(t) = \frac{2}{\pi} \int_0^\infty f(\Delta\omega) \cos(\Delta\omega t) d\Delta\omega \quad (2.64)$$

$f(\Delta\omega)$ ist die Funktion der Absorptionslinie. Im Unterschied zu Gl. (2.40) wird hier lediglich die Linienform anstatt der gesamten Suszeptibilität verwendet, um eine Normierung des Integrals

zu erreichen. In der NMR treten vor allem zwei Absorptionslinienformen, nämlich Lorentz- und Gaußformen, in Abhängigkeit des betrachteten physikalischen Systems auf;

$$f_L(\Delta\omega) = \frac{T_2}{1 + (T_2\Delta\omega)^2} \quad (\text{Lorentz}) \quad f_G(\Delta\omega) = \frac{T_2}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(\Delta\omega T_2)^2}{2}} \quad (\text{Gauß})$$

In MR-Untersuchungen von konventionellem MT wird, wie in Abschnitt 2.2.4 beschrieben, der MT zwischen dem Pool „festkörperartiger“ Makromoleküle und freiem Wasser betrachtet. Für die theoretische Beschreibung der Linienform dieses makromolekularen Pools eignet sich am besten die sog. SUPER LORENTZIAN-Funktion [Morrison and Henkelman 1995]:

$$f_{MM}(\Delta\omega) = \int_0^{\frac{\pi}{2}} d\theta \sin(\theta) \sqrt{\frac{2}{\pi}} \frac{T_2}{|3\cos^2(\theta) - 1|} \exp\left(-2 \left(\frac{\Delta\omega T_2}{3\cos^2(\theta) - 1}\right)^2\right) \quad (2.65)$$

Das Integral entspricht einer Summierung von Gaußfunktionen verschiedener Breite. Die Funktion fällt im Vergleich zu einer Lorentzfunktion zu beiden Seiten schneller ab.

Für rechteckförmige CW-Anregung eines Spinsystems mit bekannter Absorptionslinienform kann die Anregungsrate R_{RF} , die auch als Sättigungs- oder Übergangsrate bezeichnet wird, berechnet werden [Bloembergen et al. 1948]:

$$R_{RF} = \pi\omega_1^2 f(\Delta\omega) \quad (2.66)$$

Hierfür muss zusätzlich noch die Bedingung erfüllt sein, dass die gesamte HF-Leistung von dem Spinsystem absorbiert wird, was bedeutet, dass die Bandbreite der Anregung kleiner als die Breite der Absorptionslinie sein muss.

Eine allgemeine Lösung für die Anregungsrate, in der ein HF-Feld mit zeitlich variierender Amplitude sowie die Tatsache berücksichtigt ist, dass die spektrale Breite der HF-Anregung die Breite der Absorptionslinie des Spinsystems übersteigen kann, erhält man aus der Faltung der Linienform des Spinsystems mit dem zeitabhängigen B_1 -Feld:

$$R_{RF}(t) = f(t) \otimes \omega_1(t) \quad (2.67)$$

Um die spektralen Effekte von HF-Anregungen auf ein Spinsystem zu analysieren, soll die Antwortfunktion des Spinsystems in der Frequenzdomäne betrachtet werden – also die Fouriertransformation der Anregungsrate $\text{FT}[R_{RF}]$. Der Satz von Parseval besagt, dass sich diese durch Multiplikation der Fouriertransformierten von Linienformfunktion und HF-Anregung ergibt:

$$\text{FT}[R_{RF}(t)] = \text{FT}[f(t)] \cdot \text{FT}[\omega_1(t)] \quad (2.68)$$

Im Grunde kann zur Sättigung eines Pools jede beliebige HF-Wellenform benutzt werden, so lange die Amplitude der FT hauptsächlich innerhalb des Absorptionsbereichs des zu sättigenden

Pools verteilt ist. Die einfachste und effektivste Sättigung kann also mittels eines langen CW HF-Pulses erreicht werden, was in unterschiedlichen Ausprägungen von MT-Experimenten an Modellsystemen und Tieren breite Anwendung findet [Henkelman et al. 1993; Guivel-Scharen et al. 1998; Sun et al. 2010]. Praktische Gründe machen es für die *In-vivo*-MRT am Menschen allerdings notwendig, andere HF-Pulsformen von kürzerer Dauer zu benutzen:

1. Leistungsdeposition im Gewebe führt zu dessen Erwärmung und ist nur innerhalb der Grenzwerte der spezifischen Absorptionsrate (SAR) an klinischen MR-Tomographen zugelassen.
2. Die Geschwindigkeit der Bildaufnahme muss hoch sein, um die Verweilzeit eines Patienten im Tomographen zu minimieren.
3. Die HF-Verstärker von klinischen MR-Tomographen sind nicht in der Lage, lange CW-Pulse zu liefern, sondern können nur viele kurze ($\tau_P < 100$ ms) HF-Pulse pro Zeiteinheit mit variierender Amplitude erzeugen.

In der Literatur finden sich verschiedene Ansätze zur Beschreibung und Quantifizierung von konventionellem MT [Graham and Henkelman 1997; Sled and Pike 2000; Helms and Piringner 2005]. In diesen Arbeiten wurden die Auswirkungen von kurzen HF-Pulsen und Binomialpulsen auf den MT in der MRT untersucht. Da bei konventionellem MT der Transfer von Magnetisierung aus dem *in vivo* sehr großen makromolekularen Pool M auf freies Wasser W übertragen wird, ist der Grad der Sättigung von M nur von untergeordneter Bedeutung. Bei einem CEST-Experiment jedoch, sind die transferierenden Pools meist wesentlich kleiner, so dass hier eine effektive Sättigung extrem wichtig ist.

Um hochgradige Sättigung trotz mangelnder Möglichkeit für CW-Bestrahlung zu realisieren, schlugen daher Zhou *et al.* als Erste vor, kurze repetitive HF-Pulse zur off-resonanten Sättigung eines Protonenpools einzusetzen [Zhou et al. 2003]. Um die spektralen Eigenschaften einer solchen Folge zu beschreiben, kann dieser aus mehreren HF-Wellenformen bestehende Pulszug als ein zusammengesetzter HF-Puls betrachtet werden [Bernstein et al. 2004]. In der Vergangenheit wurden verschiedene Pulszüge mit dem Ziel entwickelt, optimierte Refokussierung, Inversion oder spektral-selektive Anregung eines Spinsystems zu erreichen. Ein Ziel dieser Arbeit war es, ein Spinsystem mit einer Abfolge von HF-Pulsen selektiv zu sättigen. Die speziellen Überlegungen dazu werden in Kapitel 3 näher beschrieben. Eine Beschreibung der spektralen Eigenschaften einer solchen Pulsfolge mit der Fragestellung nach optimierter spektral-selektiver Sättigung war bis zum Abschluss dieses Projektes in der Literatur nicht zu finden.

2.4.4 Quantitative Beschreibung des CEST-Effekts

Während der Sättigung eines CEST-Pools durch Einstrahlung von HF-Leistung mit der Resonanzfrequenz des Pools wird Sättigung durch chemischen Austausch von Protonen auf freie Wassermoleküle übertragen. Sofern die Zahl der Protonen in Pool W bedeutend größer ist als im CEST-Pool S erfolgt der Sättigungs- und Transferprozess pro Molekül, das labile Protonen trägt, innerhalb eines Beobachtungszeitraumes mehrfach mit unterschiedlichen Protonen, die danach

auf freie Wassermoleküle übertragen werden. Auf diese Weise erfolgt eine Akkumulation von Sättigung in Pool W , was zu einer erhöhten Detektierbarkeit der labilen Protonen im Vergleich zur Auslese ihres Resonanzsignals führt. Goffeney *et al.* definieren diesen Verstärkungsfaktor PTE (für PROTON TRANSFER ENHANCEMENT) als [Goffeney et al. 2001]

$$PTE = \frac{[W] \cdot PTR}{[S]} = \frac{PTR}{f} \quad (2.69)$$

mit dem Verhältnis f der Konzentration von Protonen innerhalb der Pools und der PROTONENTRANSFERRATE PTR, die der durch Protonenaustausch bedingten Verminderung des MR-Signals freier Wasserprotonen entspricht. Die maximale PTR kann man unter der Annahme berechnen, dass ein HF-Feld auf der Frequenz des Pools S ($\Delta\omega_S=0$) eingestrahlt wird, das den Pool der freien Wasserprotonen nicht beeinflusst ($\Delta\omega_W \rightarrow \infty$) und Pool S vollständig sättigt (cs für COMPLETE SATURATION). Dadurch ergibt sich, dass $M_{zS} = 0$ und Sättigung von Pool W lediglich durch chemischen Austausch mit Protonen aus Pool S entsteht. Aus den Bloch-McConnell-Gleichungen erhält man

$$M_{zW}^{cs} = \frac{R_{1W}}{R_{1W} + k_{WS}} M_{0W}, \quad (2.70)$$

woraus sich die maximale PTR ergibt:

$$PTR_{max} = \frac{M_{0W} - M_{zW}^{cs}}{M_{0W}} = \frac{k_{WS}}{k_{WS} + R_{1W}} = \frac{f \cdot k_{SW}}{f \cdot k_{SW} + R_{1W}} \quad (2.71)$$

Ist das Konzentrationsverhältnis von labil gebundenen Protonen und Protonen freien Wassers bekannt, lässt sich der maximal zu erzeugende CEST-Effekt berechnen, denn aus Gl. (2.69) und Gl. (2.71) erhält man:

$$PTE_{max} = \frac{k_{SW}}{f \cdot k_{SW} + R_{1W}} = \frac{PTR_{max}}{f} \quad (2.72)$$

Da f für endogene Stoffe, die labile Protonen tragen, in *In-vivo*-Experimenten typischerweise in der Größenordnung $\approx 10^{-5}$ liegt, ist das Produkt $f \cdot k_{SW} \ll R_{1W}$ und eine Abschätzung ergibt, dass $PTR \cong k_{SW} \cdot T_{1W}$. Dies belegt die Bedeutung der T_1 -Zeit von freiem Wasser für den CEST-Kontrast.

Ein etabliertes Verfahren, CEST-Effekte experimentell zu bestimmen, ist die Analyse der Asymmetrie eines z-Spektrums [Guivel-Scharen et al. 1998; Zhou et al. 2003]. Dabei wird ein z-Spektrum im Offset-Bereich ($\pm\Delta\omega_{max}$) aufgenommen, wobei die gemessenen Offset-Punkte symmetrisch zur Resonanz von freiem Wasser verteilt werden. Da der CEST-Effekt, der durch einen bestimmten CEST-Pool erzeugt wird, nur an der Resonanzfrequenz des Pools ($\Delta\omega = \Delta\omega_S$) auftritt, ist er asymmetrisch in Bezug auf die Resonanzfrequenz des freien Wassers ($\Delta\omega = 0$). Der Asymmetrieparameter wird folgendermaßen definiert:

$$\begin{aligned}
MTR_{asym}(\Delta\omega) &= MTR(+\Delta\omega) - MTR(-\Delta\omega) \\
&= M_{Sat}(-\Delta\omega)/M_0 - M_{Sat}(+\Delta\omega)/M_0
\end{aligned}
\tag{2.73}$$

Er nimmt positive Werte an für Sättigungseffekte, die im positiven Offset-Bereich auftreten. Die Asymmetrieanalyse ist also sinnvoll, um CEST-Effekte von symmetrisch verteilten Sättigungseffekten zu trennen. Ein solcher symmetrisch auftretender Effekt ist z.B. die direkte Wassersättigung – sofern die Resonanzlinie des Wassersignals symmetrisch um $\Delta\omega = 0$ verteilt ist –, die durch Asymmetrieanalyse effektiv entfernt werden kann. Weitere Sättigungseffekte, die in einem *In-vivo*-Experiment neben CEST-Effekten auftreten können, sind z.B. konventioneller MT und homonukleare intramolekulare NOEs. Konventioneller MT ist vor allem für kleine Offsets ($\Delta\omega_{max} \leq 5$ ppm) asymmetrisch zur Wasserresonanz und stattdessen verteilt um eine mittlere Frequenz im aliphatischen Bereich des ^1H -NMR-Spektrums [Pekar et al. 1996]. NOEs tauchen ebenfalls im negativen Offset-Bereich mit kleinem Frequenzabstand zur Wasserresonanz auf [Zhou et al. 2003; Ling et al. 2008b]. Beide Effekte können somit Asymmetrien, die durch CEST-Effekte im positiven Offsetbereich hervorgerufen werden, reduzieren und somit künstlich „maskieren“. Es entsteht somit an einem bestimmten Frequenzoffset eine aus verschiedenen asymmetrischen Effekten (MTR'_{asym}) und der PTR der austauschenden Protonen zusammengesetzte Asymmetrie:

$$MTR_{asym}(\Delta\omega) = MTR'_{asym}(\Delta\omega) + PTR(\Delta\omega) \tag{2.74}$$

Weitere Methoden zur Bestimmung von CEST-Effekten sind neben der Asymmetrieanalyse Ansätze zum parametrischen Fitten von z -Spektren. Die in der Literatur beschriebenen Methoden beruhen dabei zumeist auf numerischen und wenigen analytischen Lösungen der Bloch-McConnell-Gleichungen für austauschende Spin-Systeme mit 2- [Sun et al. 2007a; Zaiß et al. 2010], 3- [Woessner et al. 2005; Sun et al. 2008] und 4-Pools [Li et al. 2008]. Analytische Lösungen gehen oftmals davon aus, dass ein Pool durch HF-Einstrahlung vollständig gesättigt wird und sich in der Folge ein Gleichgewicht zwischen dem Magnetisierungstransfer der gekoppelten Pools und Relaxation einstellt, so dass die zeitlichen Ableitungen in den Bloch-McConnell-Gleichungen verschwinden. Dieses von Henkelman *et al.* ursprünglich für konventionellen MT entwickelte Modell [Henkelman et al. 1993] wurde vielfach modifiziert und zur Beschreibung von CEST-Effekten verwendet [Wolff and Balaban 1990; Guivel-Scharen et al. 1998; Goffeney et al. 2001; Zhou et al. 2004]. Andere analytische Modelle, die verschiedene Sättigungsgrade eines „bestrahlten“ Pools berücksichtigen, existieren ebenfalls [Baguet and Roby 1997; Sun et al. 2005]. Auch sie nehmen die Einstellung eines Gleichgewichts sowie CW-Anregung des CEST-Pools an. Die existierenden analytischen Modelle werden hauptsächlich für Simulationen und Optimierungen von experimentellen Parametern verwendet, da sie aufgrund vereinfachender Annahmen nur unzureichende Genauigkeit beim Fitten gemessener z -Spektren erreichen. Das Modell von Sun *et al.* erreicht auf der CEST-Resonanz auch in der experimentellen Bestimmung von CEST-Effekten eine sehr gute Übereinstimmung mit numerischen Modellen. Jedoch stellt es keine Lösung für das gesamte z -Spektrum dar und benötigt die Bestimmung oder Schätzung weiterer Parameter (Relaxationszeiten und Austauschraten), um notwendige Korrekturfaktoren berechnen zu können. Das

von Zaiß entwickelte analytische Modell, das ebenfalls auf einer heuristischen Kombination zweier Partikulär-Lösungen der Bloch-McConnell-Gleichungen beruht, stellt dagegen insofern eine Neuerung dar, dass es nicht der Bestimmung von PTR durch Korrektur gemessener Asymmetriewerte dient. Stattdessen erfolgt eine direkte Anpassung von Modellfunktionen an gemessene z-Spektren, wodurch in der Asymmetrieanalyse maskierte $PTR(\Delta\omega)$ sofort rekonstruiert werden können [Zaiß 2010].

Numerische Fit-Methoden dienen dem Zweck, gemessene Asymmetriewerte durch Modellierung des zeitlichen Verhaltens mehrerer Pools so zu korrigieren, dass maskierende Effekte von anderen Pools und weitere abschwächende Effekte, z.B. T_1 -Relaxation während der Signalakquisition und direkte Wassersättigung, eliminiert werden und schließlich die PTR eines CEST-Pools extrahiert werden kann. Sie sind jedoch für *In-vivo*-Messungen impraktikabel, da z-Spektren mit einer sehr hohen Frequenzauflösung aufgenommen werden müssen, um die vielen freien Parameter mit ausreichender Präzision bestimmen zu können, was zu zeitintensiv ist. Die Alternative, freie Parameter durch zusätzliche Messungen direkt zu bestimmen, sind ebenfalls aus Zeitgründen bei *In-vivo*-Messungen stark limitiert.

2.4.5 Fehlerquellen in CEST-Experimenten

Wie im vorigen Abschnitt beschrieben, gibt es mehrere Möglichkeiten zur Korrektur von z-Spektren, die die Quantifizierung von CEST-Effekten in Messergebnissen ermöglichen. Hier soll nun eine kurze Übersicht über die wichtigsten experimentell auftretenden Fehlerquellen gegeben werden, die den Einsatz von Korrekturmethode notwendig machen.

- **Inhomogenitäten des statischen magnetischen Feldes:**

Ist in einer Schicht der Dicke dz eines Probenvolumens das statische Magnetfeld nicht homogen, sondern weist an jedem Punkt eine Verschiebung δb um einen bestimmten Betrag auf, so findet man in einem Volumenelement V mit den Kantenlängen dx , dy und dz , das in der MR Voxel genannt wird und die Mittelpunktswerte x_0 , y_0 und z_0 besitzt, ein effektives Magnetfeld

$$B_0 + \int_{x_0-dx/2}^{x_0+dx/2} \int_{y_0-dy/2}^{y_0+dy/2} \int_{z_0-dz/2}^{z_0+dz/2} \delta b(x', y', z') dx' dy' dz' = B_0 + \delta B(x_0, y_0, z_0). \quad (2.75)$$

Dies führt zu einer Verschiebung der Resonanzfrequenzen aller Pools innerhalb des Voxels um $\delta\omega_B = \gamma\delta B(x_0, y_0, z_0)$. Zur korrekten Berechnung von MTR_{asym} muss dieser Offset der Resonanzfrequenzen berücksichtigt werden:

$$MTR_{asym}(\Delta\omega) = MTR(+\Delta\omega + \delta\omega_B) + MTR(-\Delta\omega + \delta\omega_B) \quad (2.76)$$

In einem MR-Bild muss also für jedes Voxel der durch Inhomogenitäten des statischen Felds bedingte Frequenzoffset bestimmt werden, damit die Asymmetrie in jedem Voxel richtig

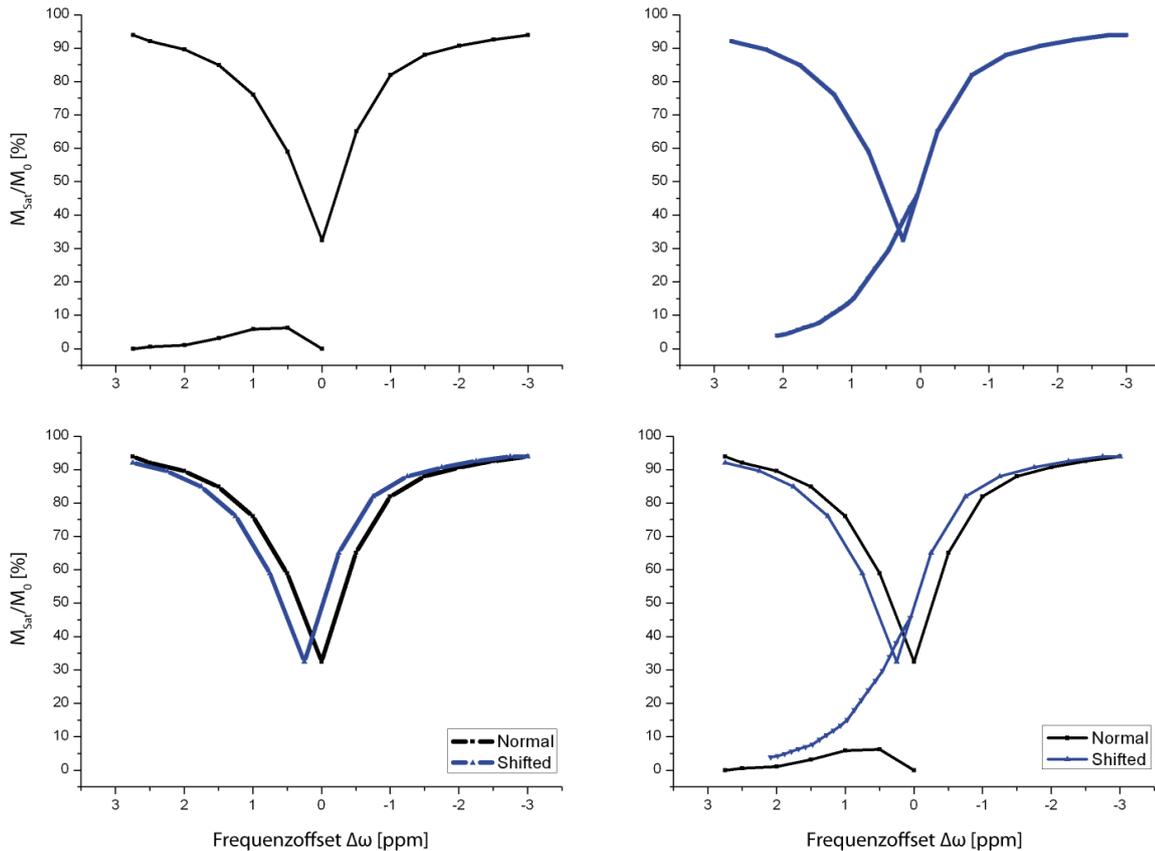


Abbildung 2.5: Auswirkungen einer Verschiebung des statischen Magnetfeldes auf die Analyse der Asymmetrie von z-Spektren.

berechnet werden kann. Man bezeichnet dieses Verfahren als „ B_0 -Korrektur“. In Abb. 2.5 sind die Auswirkungen einer fehlenden „ B_0 -Korrektur“ auf ein z-Spektrum und die dazugehörige Asymmetrie dargestellt.

In der Literatur sind verschiedene Methoden zur Bestimmung von $\Delta\omega_B$ beschrieben, die auf der Korrektur des Minimums in z-Spektren beruhen. Da man das Minimum eines z-Spektrums auf der Resonanzfrequenz von freien Wasserprotonen erwartet, für die gilt $\Delta\omega = 0$, ergibt sich $\Delta\omega_B = \Delta\omega_{Min}$ aus dem Offset des gefitteten Minimums eines z-Spektrums. Zum Fitten der Minima von gemessenen z-Spektren wurde z.B. ein polynomieller Fit höherer (> 12) Ordnung [Zhou et al. 2003; Lu et al. 2009], ein „Smoothing Splines“-Algorithmus [Stancanello et al. 2008] sowie die sog. WASSR (WATER SATURATION SHIFT REFERENCING)-Technik angewendet. In der WASSR-Technik wird ein zusätzliches z-Spektrum mit höherer Offset-Auflösung, aber niedrigerer Sättigungsleistung als in der eigentlichen CEST-Messung aufgenommen. Durch die niedrige Energie der Pulse wird erreicht, dass kaum Sättigungstransfer-Effekte auftreten und stattdessen ausschließlich direkte Wassersättigung beobachtet wird. Die B_0 -Verschiebung ist so direkt an der Position des Minimums des erhaltenen z-Spektrums ablesbar.

Eine weitere, in der MRT verwendete Methode zur Bestimmung der Verteilung des stati-

schen Magnetfeldes ist das sogenannte „phase mapping“. Dabei wird ausgenutzt, dass Spins abhängig von ihrer Resonanzfrequenz während der Zeiteinheit dt eine Phase $d\phi$ akkumulieren, so dass gilt:

$$\Delta B_0 = \frac{d\phi}{dt} \quad (2.77)$$

Mit einem einfachen MR-Bildgebungsexperiment kann nach diesem Prinzip eine Phasenkarte aufgenommen und $\Delta\omega_B$ in jedem Voxel bestimmt werden.

Erfolgt die Messung der B_0 -Verteilung nicht vor einem CEST-Experiment, muss ein z-Spektrum über einen Offset-Bereich aufgenommen werden, für den mindestens gilt $\Delta\omega_{max} = \Delta\omega_S + \Delta\omega_{B-max}$, wobei $\Delta\omega_{B-max}$ die maximale B_0 -Verschiebung innerhalb des Messvolumens ist. So ist sichergestellt, dass die Asymmetrie am Offset des Pools S auch nach B_0 -Korrektur in jedem Volumenelement noch ausgewertet werden kann.

- **Spillover:** Als SPILLOVER oder auch HF-BLEEDOVER bezeichnet man die Tatsache, dass bei off-resonanter HF-Einstrahlung ein Teil der HF-Leistung auf der Wasserresonanz absorbiert wird. Bei einem Sättigungspuls führt dies trotz off-resonanter Einstrahlung zu direkter Sättigung des Wassersignals. Mit der direkten Wassersättigung wird die Zahl der Wasserprotonen, die Sättigung von einem CEST-Pool aufnehmen können, und somit das maximal mögliche PTE reduziert. Der Spillover-Effekt nimmt allgemein bei konstantem Offset mit steigender Sättigungsleistung zu. Er nimmt ebenso bei konstanter Sättigungsleistung und zunehmendem Offset ab, was durch die Breite der Wasserlinie und somit die Fähigkeit des Pools, an einer bestimmten Frequenz selektiv Leistung zu absorbieren, begründet ist. Im Offset-Bereich < 5 ppm ist der Spillover allerdings an jeder Stelle relevant.

Sun *et al.* konnten eine Abhängigkeit des maximal messbaren CEST-Effekts von der Leistung des sättigenden HF-Feldes analytisch herleiten und zeigen, dass für zwei gekoppelte Pools ein Wendepunkt erreicht wird, ab dem eine weitere Steigerung der Sättigungsleistung zu einer Abnahme der PTR führt. Die für den Wendepunkt charakteristische Leistung ist wiederum abhängig von der Geschwindigkeit des chemischen Austauschs [Sun et al. 2005]. Die Existenz des Wendepunkts ist darauf zurückzuführen, dass Spillover-Effekte ab einer bestimmten HF-Leistung Sättigungstransfer-Effekte überdecken, was auch in numerischen Simulationen gezeigt werden konnte [Zaiß 2010].

2.4.6 Klassen von CEST-Experimenten

CEST-Experimente werden abhängig von den Stoffen, deren chemischer Protonenaustausch mit freiem Wasser untersucht wird, in drei Klassen unterschieden:

1. CEST-Experimente mit endogenen Substanzen:

- **APT:**

Zhou *et al.* beschrieben 2003 als erste die Verwendung von endogenen Substanzen zur Erzeugung eines CEST-Kontrasts in der MR-Bildgebung: Sie nutzten den Transfer von

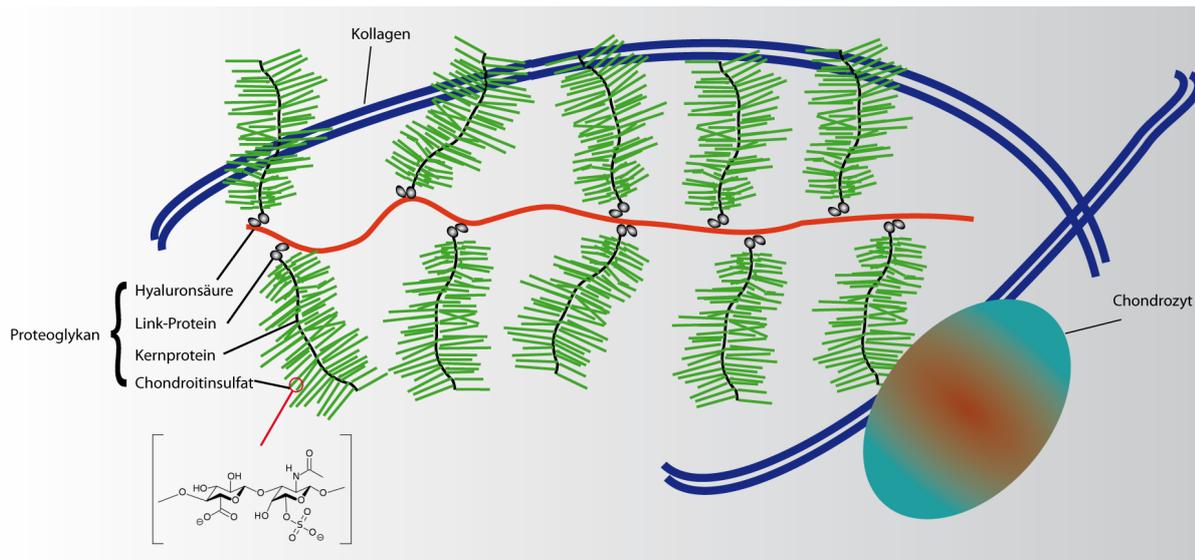


Abbildung 2.6: Schematischer Aufbau von Knorpelgewebe bestehend aus Proteoglykanen, Kollagenfasern und Chondrozyten.

Magnetisierung durch Amidprotonen intrazellulärer mobiler Proteine auf freie Wasserprotonen zur Erzeugung eines Kontrasts, von dem sie zeigen konnten, dass er vom intrazellulären pH-Wert des untersuchten Hirngewebes abhängt [Zhou et al. 2003]. Die Protonen der Amidgruppen von mobilen Peptidmolekülen eignen sich für CEST sehr gut, da die Ratenkonstante des Austauschs mit Protonen umgebender Wassermoleküle im slow-exchange limit liegt; z.B. ist $k_{SW} = (28,6 \pm 7,4) \text{ s}^{-1}$ im gesundem Hirngewebe der Ratte. Da der Austausch basenkatalysiert ist, nimmt die Austauschrate mit steigendem pH-Wert zu. Allerdings tragen ausschließlich die Amidprotonen der Proteine, die ausreichend mobil und somit per MRS detektierbar sind, zu einem messbaren CEST-Effekt bei. Obwohl Proteine ca. 18 % der Masse einer Säugetierzelle ausmachen, ist nur eine kleine Fraktion davon mobil genug für CEST-Experimente. Mittels WATER EXCHANGE (WEX)-Spektroskopie konnten Mori *et al.* eine zusammengesetzte Resonanz bei $\delta = (8,3 \pm 0,5) \text{ ppm}$ identifizieren, die den Amidprotonen des Rückgrats mobiler Proteine und Peptide zugewiesen wurde [Mori et al. 1998]. Die intrazelluläre Konzentration dieser Amidprotonen wurde auf $\approx 71,9 \text{ mmol/L}$ geschätzt, was eine PTR (Gl. (2.71)) von ca. 2,94 % mit dem Pool der Protonen freien Wassers ($[W] = 3,2 \text{ mol/L}$) ergibt [Zhou et al. 2003]. Der APT kann also ein PTE von 45 besitzen und ist somit per MR detektierbar. Nach dem initialen experimentellen Nachweis eines pH-abhängigen APT-Kontrasts im Hirngewebe von Ratten, gelang es zuerst Jones *et al.* den Kontrast für die Tumorbildgebung beim Menschen zu nutzen [Jones et al. 2006]. Seitdem wurden einige Arbeiten über Methoden zur Aufnahme von APT-Bildern [Zhou et al. 2008; Sun et al. 2008, 2010; Zhu et al. 2010], Anwendungsmöglichkeiten der Technik [Sun et al. 2007b; Salhotra et al. 2008] und eine klinische Studie über pH-gewichtete Bildgebung bei Hirntumoren von Patienten veröffentlicht [Wen et al. 2010].

- **gagCEST:**

GLYKOSAMINOGLYKANE (GAG) sind lange unverzweigte Kohlenhydrate mit sich wiederholenden Disaccharid-Untereinheiten. Zur Gruppe der GAG gehören sechs verschiedene Stoffe, nämlich Chondroitinsulfat, Dermatansulfat, Keratansulfat, Heparin, Heparansulfat und Hyaluronsäure [Dudhia 2005]. Sie sind u.a. Bestandteile von Knorpel und Bandscheibe und für deren physiologische Funktion elementar. PROTEOGLYKANE (PG), die aus Proteinen und mehreren kovalent gebundenen GAG-Seitenketten bestehen, sind funktionelle Komponenten der angesprochenen Gewebe und dort vor allem für die federnden Eigenschaften verantwortlich (Abb. 2.6).

Der Verlust von Proteoglykanen aus der extrazellulären Knorpelmatrix, mit dem ein Verlust an GAG einhergeht, wird als initiiertes Ereignis einer Osteoarthritis vermutet [Lohmander 1994]. Ling *et al.* konnten 2008 in einem *In-vitro*-Experiment zeigen, dass es mittels CEST möglich ist (gagCEST), den Gehalt von GAG in Knorpelgewebe zu messen [Ling *et al.* 2008b]. GAG produzieren dabei einen starken CEST-Effekt, der durch labile Protonen von endständigen $-OH$ und $-NH$ vermittelt wird. Die Resonanzen der Protonen von Hydroxylgruppen, welche in gesundem Knorpelgewebe in einer Konzentration von $[OH] = 200 - 300 \text{ mmol/L}$ [Roughley 20063] vorliegen, sind dabei an zwei Stellen im Spektrum mit Offsets von 1 bzw. 1,5 – 2 ppm von der Resonanzfrequenz freien Wassers zu finden. Der Offset der niedriger konzentrierten ($[NH] \approx 100 \text{ mmol/L}$) Amidprotonen liegt bei 3,2 ppm. Ein Pilotversuch, der die Nutzbarkeit der gagCEST-Methode zur Bestimmung des GAG-Gehalts in Knorpelgewebe *in vivo* aufzeigt, wurde 2008 ebenfalls von Ling *et al.* veröffentlicht [Ling *et al.* 2008a].

- **glycoCEST:**

Ähnlich wie bei der gagCEST-Technik beruht glycoCEST auf dem CEST-Kontrast, der durch Hydroxylprotonen von Kohlenhydraten erzeugt wird. Die technischen Voraussetzungen sind in Bezug auf Offsets der Hydroxylprotonen-Pools ($\Delta\omega = 0,5 - 1,5 \text{ ppm}$) und deren Austauschraten mit freiem Wasser vergleichbar mit denen von gagCEST [van Zijl *et al.* 2007]. Jedoch beruht glycoCEST auf dem chemischen Austausch von Glykogenprotonen mit freiem Wasser. Glykogen ist die Speicherform von Traubenzucker (Glukose) im menschlichen Körper. Es ist dabei extrem wichtig für die Aufrechterhaltung der Verfügbarkeit von Glukose als primären Energielieferanten im Körper. In Leber- und Skelettmuskelgewebe konnte Glykogen bereits mit ^{13}C - und ^1H -NMR experimentell nachgewiesen werden. Kenntnisse über den Glykogenmetabolismus in diesen Geweben könnten Aufschluss über den Energiestoffwechsel sowie verschiedene Krankheiten, wie z.B. Diabetes, die diesen verändern, liefern. Eine breite Anwendung von glycoCEST ist allerdings in der Literatur nicht beschrieben.

2. CEST-Experimente mit exogenen diamagnetischen Verbindungen (**DIACEST**):

Ward *et al.* schlugen als Erste die Verwendung von diamagnetischen Molekülen mit niedrigem Molekulargewicht und labilen Protonen als CEST-Protonen-Pools vor [Ward *et al.* 2000; Ward and Balaban 2000]. Sie testeten eine Reihe von Zuckern, Stoffwechselprodukten und Aminosäuren auf ihre Verwendbarkeit für CEST und konnten zeigen, dass einige Stoff-

fe bei Konzentrationen von 10 – 100 mmol/L signifikante CEST-Effekte erzeugten. Durch Komplexierung dieser Stoffe können noch höhere Verstärkungsfaktoren erzielt werden und durch die gute Biokompatibilität der meisten DIACEST-Substanzen ist es auch möglich, sie in hohen Dosen dem Körper ohne toxische Effekte zuzuführen. Die Tatsache, dass sie endogenen Substanzen ähnlich sind, führt aber auch dazu, dass sie relative kurze Halbwertszeiten im Körper, geringe Offsets von der Resonanzlinie von Wasser (≈ 5 ppm) und ähnlich schnelle Austauschraten wie endogene CEST-Substanzen besitzen, was zu ähnlichen Limitationen wie bei CEST-Experimenten mit endogenen Substanzen führt.

3. CEST-Experimente mit exogenen paramagnetischen Verbindungen (**PARACEST**):

Gadolinium-Komplexe finden aufgrund ihrer T_1 -reduzierenden Wirkung breite Anwendung als Kontrastmittel in der MRT. Während Gd^{3+} -Ionen isotrope Struktur haben (sieben ungepaarte Elektronen in sieben 4f-Orbitalen) und daher keine großen chemischen Verschiebungen induzieren können, können andere paramagnetische Lanthanid-Ionen mit anisotropen Verteilungen ihrer f-Elektronen eine starke Abschirmung ihrer Umgebungsprotonen und dementsprechend große chemische Verschiebungen bewirken. Darüber hinaus ist es möglich, die Struktur der Komplexe chemisch so zu verändern, dass die Geschwindigkeit des chemischen Austausch der Protonen für CEST-Experimente optimiert ist. Diese Entdeckungen führten zu der Erkenntnis, dass Lanthanid-basierte Chelate als paramagnetische CEST-Substanzen (PARACEST) benutzt werden können [Zhang et al. 2001]. Die experimentellen Voraussetzungen unterscheiden sich aufgrund der extrem großen chemischen Verschiebung von PARACEST-Protonen (in der Größenordnung ≥ 50 ppm) stark von CEST-Experimenten mit endogenen Substanzen oder DIACEST. So kann die direkte Wassersättigung bei PARACEST-Experimenten vernachlässigt werden und selektive Sättigung ist somit leichter erreichbar. Dafür sind Pharmakokinetik und chemische Parameter wie Stabilität und Löslichkeit der Substanzen von wesentlich größerer Bedeutung. Eine Übersicht über exogene Substanzen, die für PARACEST-Experimente verwendet werden können, sowie experimentelle Methoden sind zu finden in [Sherry and Woods 2008].

Zusätzlich zu den drei Klassen von CEST-Experimenten, die auf Protonentransfer basieren, soll hier noch erwähnt werden, dass CEST-Experimente auch mit hyperpolarisierten Kernen (hyperCEST) durchgeführt werden können [Schroeder et al. 2006]. Eine nähere Beschreibung dieser Technik würde allerdings den Rahmen dieser Arbeit übersteigen.

Kapitel 3

Material und Methoden

Im Folgenden werden in der Arbeit verwendete Materialien und Methoden vorgestellt, die im Vorfeld bereits vorhanden oder beschrieben waren. Darüber hinaus werden grundlegende Gedanken für die Entwicklung von Methoden im Rahmen der Arbeit erläutert.

3.1 NMR Hardware

Alle Experimente wurden an Ganzkörper-MR-Tomographen der Magnetom-Reihe der Firma Siemens (Siemens AG, Healthcare Sektor, Erlangen) durchgeführt. Dabei wurde ein klinisches System (Magnetom Trio - A Tim System) mit einer Grundfeldstärke $B_0 = 3$ T sowie ein experimentelles 7-Tesla-System (Magnetom 7 T) eingesetzt. Es wurden ausschließlich für die jeweiligen Tomographen zugelassene Hardware-Komponenten (Hochfrequenzverstärker, Sende- und Empfangsspulen) verwendet, die im Folgenden kurz aufgelistet sind

- Magnetom Trio: Dieses klinische System besitzt eine in die Bohrung des Tomographen eingepasste Ganzkörper-Spule, die fast ausschließlich zum Senden von HF-Pulsen eingesetzt wird, aber theoretisch auch zur Signalakquisition benutzt werden kann. Diese sog. BODY-COIL wird von einem HF-Verstärker (RFPA für RADIO-FREQUENCY POWER AMPLIFIER), dessen Konfiguration auf hohe Leistungsabgabe in einem schmalen Frequenzbereich – nämlich dem Frequenzbereich von Protonen-Spins in *In-vivo*-Experimenten – optimiert ist. Dieser RFPA kann HF-Pulse mit einer maximalen Leistung von 35 kW, einer maximalen Pulsdauer $t_p = 100$ ms und einer mittleren Leistung von 1,75 kW erzeugen. Das maximale Puls-Pause-Verhältnis (Duty-Cycle) ist dabei 50 %. Die Signalakquisition beim Senden mit der Body-Coil erfolgte mit einer Kopfspule, die 32 einzelne Spulenelemente besitzt. Neben dem RFPA der Body-Coil besitzt das System auch einen zweiten RFPA, der auf eine breitbandigere Abgabe von geringerer HF-Leistung ausgelegt ist und somit für NMR-Experimente mit weiteren Kernen, neben Protonen, genutzt werden kann. Darüber hinaus zeichnet sich dieser RFPA durch eine geringere Maximalleistung 13 kW, aber einen größeren maximalen Duty-Cycle von 90 % aus. Die maximale Pulsdauer ist jedoch gleich. Die Sendeleistung des Low-Power RFPA kann nur mit speziellen Volumen- und Oberflächenspulen benutzt werden, die in der Lage sind, Hochfrequenz-Signale zu senden und zu

empfangen. Für Experimente dieser Arbeit wurde eine 8-Kanal-Kniespule eingesetzt, deren Sendeleistung von diesem Verstärker erzeugt wurde.

- Magnetom 7 T: Dieser experimentelle Ganzkörper-Tomograph, der noch keine klinische Zulassung in Deutschland besitzt, kann ausschließlich mit Sende-/Empfangsspulen betrieben werden und ist dementsprechend mit nur einem RFPA ausgestattet, der die gleichen technischen Spezifikationen wie der Low-Power-RFPA des 3-T-Systems aufweist.

3.2 Modelllösungen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Lösungen von verschiedenen Stoffen zur Modellierung von CEST-Effekten *in vitro* untersucht:

1. Kreatin:

Kreatin ist ein Metabolit, der im Organismus von Säugetieren in vielen Geweben zu finden ist. Dort wird er zum Transport von Phosphaten über die Membran von Mitochondrien eingesetzt und ist somit für den Energiestoffwechsel von Zellen enorm wichtig. Das Molekül besitzt eine delokalisierte Ladung, die sich auf 3 benachbarte Stickstoffatome verteilt, was zu einer stochastischen Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein eines Amidprotons am N-Atom 3 führt (Abb. 3.1). Dieses Amidproton besitzt eine chemische Verschiebung von $\delta = 6,649$ ppm [Govindaraju et al. 2000] und Austauschraten mit freien Wassermolekülen im Bereich von 125 s^{-1} bei pH 6,5 (50 mmol/L Kreatin in 3 % (w/w) Agaroselösung, [Sun et al. 2007a]) und eignet sich somit hervorragend zur Modellierung von CEST-Effekten *in vitro*. Der Stoff wurde als Kreatin-Monophosphat in Salzform bezogen (Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen).

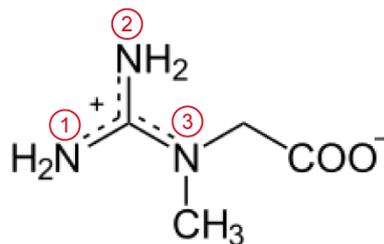


Abbildung 3.1: Strukturformel von Kreatin in wässriger Lösung. Ein labil gebundenes Amidproton wird am Stickstoffatom 3 (rote Zahlen) durch Aufnahme eines Protons aus der Lösung gebildet.

2. Carnosin:

Carnosin ist ein im Organismus vorkommender Stoff, dessen physiologische Rolle jedoch nicht eindeutig geklärt ist. Das Carnosinmolekül ist ein Dipeptid, das aus den Aminosäuren β -Alanin und Histidin besteht (Abb. 3.2). Amidprotonen von verschiedenen intrazellulären mobilen Proteinen und Peptiden werden zur Erzeugung eines CEST-Signals in der APT-Bildgebung verwendet. Das Amidproton der Peptidbindung von Carnosin ist chemisch zu solchen Amidprotonen äquivalent und müsste sich daher zur Modellierung von APT

eignen. Literaturwerte zu Austauschraten liegen für das Amidproton der Peptidbindung von Carnosin nicht vor. L-Carnosin wurde als kristallines Pulver bezogen (Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen).

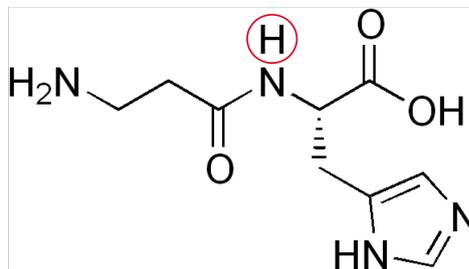


Abbildung 3.2: Strukturformel von Carnosin als Dipeptid bestehend aus β -Alanin (N-Terminus) und Histidin (C-Terminus). Das labil gebundene Amidproton der Peptidbindung ist rot umrandet.

3. Rinderserum-Albumin (BSA für BOVINE SERUM ALBUMIN):

Albumin ist eines der größten gelösten Proteine des Säugetier-Organismus. Es dient hauptsächlich der Aufrechterhaltung der Bindung von Wasser im Gewebe. Das aus Rinderserum gewonnene Albumin wird in den Lebenswissenschaften aufgrund seiner guten Verfügbarkeit gerne zur Modellierung von verschiedensten Proteinreaktionen eingesetzt. In dieser Arbeit wurde BSA zur Erzeugung eines makromolekularen NMR-Signals benutzt. Gelöste Makromoleküle liefern in der *In-vivo*-MRS typischerweise eine breite (Linienbreite ≤ 10 ppm) Linie mit einer ähnlichen chemischen Verschiebung wie die Protonen freien Wassers. In Studien konnten jedoch im aliphatischen Bereich verschiedene aufgelöste Signale Protonen von Makromolekülen, die ein ausreichend langes T_2 besitzen, zugewiesen werden. In gelöstem BSA kann durch Erhitzen oder Zugabe von Chemikalien die Bildung von Querverbindungen mittels Disulfidbrücken zwischen einzelnen Molekülen – sog. CROSS-LINKING – induziert werden. Diese Querverbindung schränkt die Beweglichkeit der einzelnen BSA-Moleküle stark ein, wodurch sich das Verhalten von gebundenen Proteinen und somit auch konventioneller MT simulieren lässt. BSA wurde in getrockneter Form bezogen (Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen).

4. Eiweiß:

Kommerziell verfügbare, pasteurisierte und homogenisierte Eiweiß-Lösung, die aus Hühnererei hergestellt wird, eignet sich aufgrund ihres hohen natürlichen Proteingehalts von 10 % und der guten Mischung aus gelösten und querverbundenen Proteinen hervorragend zur Modellierung von verschiedenen *In-vivo*-MT-Effekten. In Eiweiß-Lösung können daher konventionelle MT- und APT-Effekte gleichzeitig untersucht werden.

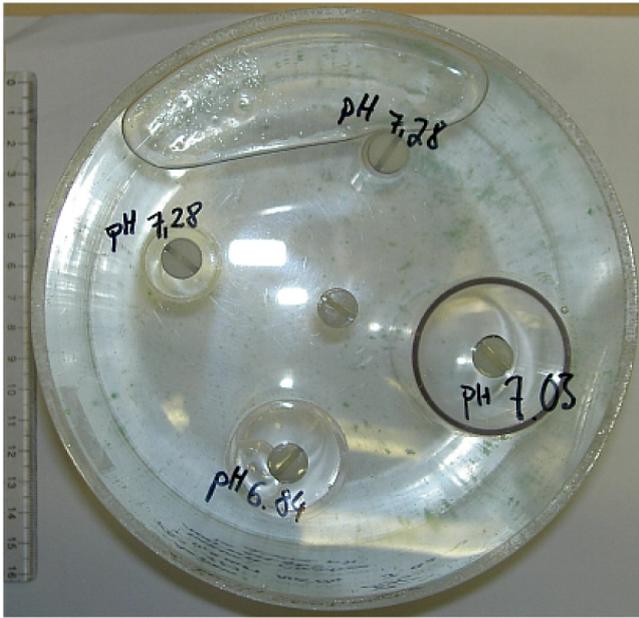


Abbildung 3.3: Mehrkammerphantom aus Plexiglas mit fünf separat befüllbaren Kompartimenten.

hergestelltes Plexiglasbehältnis zum Einsatz, das aus fünf separat befüllbaren Kompartimenten bestand (Abb. 3.3). Von diesen Kammern wurden vier mit Kreatin befüllt, das in 0,1 mol/L Phosphatpuffer bei unterschiedlichen pH-Werten gelöst wurde, und eine mit Phosphatpuffer als Kontrolle (Tab. 3.1).

Tabelle 3.1: Inhalt der Kompartimente des Mehrkammerphantoms, das für Bildgebungsexperimente benutzt wurde. NiSO_4 wurde zur Reduktion von Relaxationszeiten hinzugegeben und Kreatin wurde in 1 M Phosphatpuffer gelöst. Die Volumina der Kammern nehmen mit steigendem Index zu.

Kammer Nr.	Inhalt	pH-Wert	Innendurchmesser [cm]
1	100 mmol/L Kreatinlösung	7,28	0,9
2	100 mmol/L Kreatinlösung	7,28	1,7
3	100 mmol/L Kreatinlösung	6,84	2,5
4	100 mmol/L Kreatinlösung	7,03	3,6
5	1 mol/L Phosphatpuffer + NiSO_4	7,01	14,5

3.3 In-Vivo-Untersuchungen

Zur Evaluation der Funktionalität der entwickelten Bildgebungs- und Auswerteverfahren wurden im Anschluss an Phantom-Experimente auch Untersuchungen an Patienten bzw. Probanden durchgeführt. Abb. 3.4 zeigt schematisch die zur Beschreibung von *In-vivo*-Aufnahmen notwendigen anatomischen Schnittebenen und Richtungsbezeichnungen.

Die o.g. Substanzen wurden in 0,05 mol/L Phosphatpuffer ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4$) gelöst. Die pH-Werte der Lösungen wurden durch das Verhältnis der Konzentrationen der verschiedenen Kaliumsalze vor eingestellt und mit Hilfe von HCl bzw. NaOH auf die gewünschten pH-Werte titriert. Zu manchen Modelllösungen wurde MR-Kontrastmittel in Form von 0,1 % (v/v) Magnevist® (Bayer Schering Pharma, Berlin) zugesetzt, um Werte von Relaxationszeiten der *In-vivo*-Situation anzupassen. Ebenso wurde z.T. 0,1 % (w/v) toxisches Natriumazid (NaN_3) hinzugefügt, um die Haltbarkeit der Lösungen zu verlängern.

Die hergestellten Flüssigkeiten wurden für Messungen in 250 mL fassende Enghalsflaschen aus Polyethylen (PE) abgefüllt. Außerdem kam ein für Messzwecke

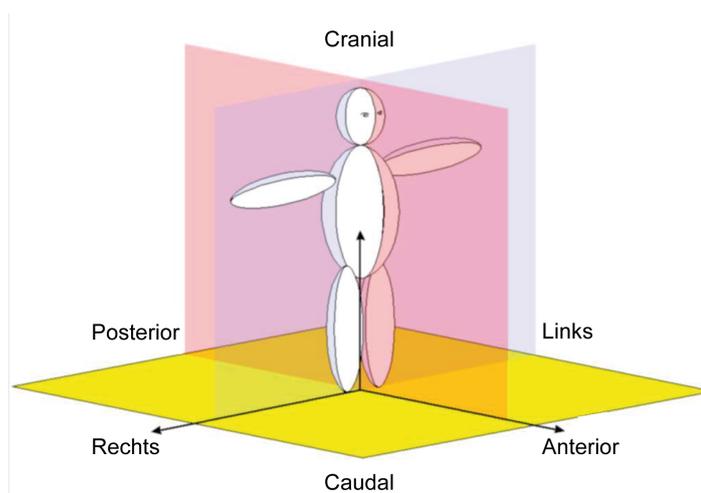


Abbildung 3.4: Schematische Darstellung der für die MR-Bildgebung im menschlichen Körper verwendeten anatomischen Schnittebenen und Richtungsbezeichnungen. Koronare (blau), sagittale (rot) und axiale bzw. transversale Schnittebenen (gelb) sind farblich gekennzeichnet.

Ein wichtiger Punkt bei MR-Untersuchungen am Menschen ist die Gesamtdauer einer Messung. Besonders bei Patienten kann es der Fall sein, dass die maximale Verweilzeit im Tomographen stark eingeschränkt ist. Die Machbarkeit einer bestimmten Untersuchung ist daher immer auch abhängig von ihrer Dauer. Die Patienten- bzw. Probandenuntersuchungen wurden an drei Körperregionen durchgeführt:

3.3.1 Untersuchungen des Kopfes

Kopfuntersuchungen an Probanden sollten die grundsätzliche Anwendbarkeit der Methoden aufzeigen. Ein CEST-Kontrast in nativem Hirngewebe wurde dabei nicht erwartet. Zur Untersuchung verschiedener CEST-Kontraste im Hirngewebe wurden Patienten mit zwei unterschiedlichen Krankheitsbildern untersucht. Klinische Daten sind an den entsprechenden Stellen in Kapitel 4 zu finden.

1. Es wurden Patienten mit bestehenden oder operierten Tumoren des zentralen Nervensystems untersucht. Ziel war es dabei, einen APT-Kontrast im Hirngewebe zu erzeugen. Die mit der größten Inzidenz auftretenden primären Hirntumoren sind Astrozytome. Sie entstehen durch Entartungen der Astrozyten, einer Zellart des Nervenstützgewebes (Gliazellen), weswegen sie auch zu den Gliomen gezählt werden. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) unterteilt Astrozytome anhand ihrer Malignität in 4 verschiedene Grade (I – IV), wobei der Übergang von Grad II zu III den Beginn von anaplastischem Tumorwachstum beschreibt. In der MR ist dieser Übergang häufig am Beginn einer Kontrastmittelanreicherung im Tumorgewebe zu erkennen. Die Sensitivität des kontrastmittelgestützten Verfahrens liegt aufgrund der natürlichen Varianz in den Eigenschaften der Astrozytome jedoch nicht bei 100 %. Für hochgradige ($> \text{WHO } ^\circ 3$) Astrozytome wurde bereits beschrieben, dass mittels APT-

Bildgebung eine Abgrenzung von aktiven Tumorarealen zu weniger aktiven Tumoranteilen, zum Normalgewebe sowie zu umliegenden Gewebsödemen möglich ist [Zhou et al. 2008; Wen et al. 2010]. Hochgradige und aktive Gebiete des Tumors wiesen dabei wesentlich höhere APT-Effekte im Vergleich zu den anderen Gewebekompartimenten auf, was in den vorherigen Studien vor allem auf erhöhte intrazelluläre pH-Werte zurückgeführt wurde. Diese Schluss war auf die These gestützt, dass die schnell wachsenden Tumorzellen aufgrund einer zunehmenden Unterversorgung mit Sauerstoff anaerobe Glykolyse zur Energiegewinnung durchführen. Die dabei intrazellulär anfallende Milchsäure (Laktat) kann von den Tumorzellen nicht weiter verwendet werden und wird daher aktiv nach außen transportiert. Auf diese Weise werden saure Valenzen in den Extrazellulärraum verlagert und der intrazelluläre pH steigt. Aufgrund der intrazellulär größeren Zahl von mobilen Proteinen und Peptiden führt der pH-Anstieg im Intrazellulärraum zu einer Steigerung der AMIDPROTONEN-TRANSFERRATE (APTR), was sich im Bild in einem positiven Kontrast bemerkbar macht.

2. Eine wichtige klinische Therapiemöglichkeit von Hirntumoren ist neben Chemotherapie und operativer Tumorentfernung die Bestrahlung der Tumoren durch Photonen und Elektronen mit Energien im Bereich von einigen MeV. Neben einer direkten Wirkung der Strahlung, die mit einer Zerstörung von Biomolekülen einhergeht, dominieren indirekte Effekte die medizinische Relevanz der Maßnahme. Durch Ionisierung von Wassermolekülen wird die Bildung von Sauerstoffspezies getriggert, die für Zellen hochgradig toxisch sind, da sie u.a. zu Strangbrüchen in der DNA führen. Wenn die DNA-Reparaturmechanismen einer Zelle nicht mehr in der Lage sind, Schäden zu kompensieren, stirbt diese Zelle ab, was bei der Bestrahlung von Tumoren ausgenutzt wird. Der pathologische Untergang von Zellen wird als NEKROSE bezeichnet.

In seltenen Fällen kann es jedoch vorkommen, dass gesunde Zellen nach Strahlentherapie fortschreitend absterben. Dieser durch Strahlentherapie ausgelöste Vorgang wird als RADIONEKROSE bezeichnet. Die Radionekrose ist mittels konventioneller MR-Bildgebung kaum von hochgradigen Astrozytomen zu unterscheiden, da eine Kontrastmittelanreicherung auch in nekrotischen Gewebsteilen zu finden ist. Pathophysiologisch unterscheiden sich absterbende Zellen von aktiven Tumorzellen jedoch dadurch, dass hier eine Ansäuerung des Intrazellulärraumes stattfindet, da saure Valenzen nicht mehr aktiv in den Extrazellulärraum transportiert werden können. Dies würde mit einem Abfall der APTR am Ort der Nekrose einhergehen, was kürzlich von Zhou *et al.* am Tiermodell gezeigt werden konnte [Zhou et al. 2010].

3.3.2 Untersuchungen des Kniegelenks

Untersuchungen des Kniegelenks wurden basierend auf gagCEST durchgeführt, was eine Beurteilung der biochemischen Qualität von Knieknorpel erlauben soll (vgl. Abschnitt 2.4.6). Anhand von Probandenmessungen wurde zunächst eine Methode (CEST-Pulssequenz + Auswertetechnik) erarbeitet, mit der CEST-Effekte reproduzierbar gemessen werden konnten. Diese wurde anschließend mit einer systematischen Untersuchung von 12 Patienten, die sich aufgrund eines

fokalen Knorpelschadens im Kniegelenk einer Knorpelersatztherapie unterzogen hatten, bei 7 T weiter evaluiert.

Der menschliche Knieknorpel besteht im Wesentlichen aus 4 Kompartimenten:

- **Retropatellärer Knorpel:** Hinter der Kniescheibe (Patella) gelegener Anteil
- **Trochleärer Knorpel:** Mittig an der Vorderseite des Oberschenkelknochens (Femur) hinter der Patella gelegen
- **Knorpel der medialen- und lateralen Femurkondylen:** Berührflächen des Femurs mit dem Schienbeinknochen (Tibia)
- **Tibiakondylenknorpel:** Berührfläche der Tibia mit dem Femur

Da die Knorpelbeläge eines Erwachsenen nur durchschnittlich 2–4 mm dick sind, ist eine hohe räumliche Bildauflösung wichtig, um Knorpel hinreichend gut beurteilen zu können. MR-Bildgebungssequenzen zur Beurteilung der Morphologie des Knorpels bei 3 T besitzen daher bei sagittaler Schnittführung in der Bildebene typischerweise räumliche Auflösungen $< 0,3 \times 0,3 \text{ mm}^2$. Ein Großteil der Entwicklung einer gagCEST-Methode in dieser Arbeit fand bei 7 T statt, da die im Vergleich zu 3 T besseren Bedingungen für CEST (längeres T_1 , größere Dispersion der chemischen Verschiebung) und das höhere verfügbare MR-Signal in eine höhere räumliche Auflösung bei gleicher Messzeit investiert werden konnten.

3.3.3 Untersuchungen der Mamma

Zu bildgebenden Untersuchungen von Brustgewebe eingesetzte MRT (MR-Mammographie) hat einen festen Stellenwert in der Diagnostik von Brustkrebs. Dabei zeichnet sie sich vor allem aufgrund ihrer hohen Sensitivität aus und wird gegenüber anderen Verfahren (Röntgen, Ultraschall) für gezielte Diagnostik bevorzugt. Für eine Anwendung in präventiven Screening-Maßnahmen ohnehin zu teuer, kann auch die MR-Mammographie aufgrund einer zu niedrigen Spezifität, also der Möglichkeit zur Unterscheidung von malignen und benignen Veränderungen, keine vollständig gesicherte Diagnose liefern und damit die invasive Entnahme von Gewebeproben (Biopsie) obsolet machen.

Verschiedene MR-Verfahren, nämlich Diffusionsbildgebung und dynamische kontrastverstärkte (DCE für DYNAMIC CONTRAST ENHANCED) MRT, wurden zur Steigerung der Spezifität der MR-Mammographie vorgeschlagen. Während der Nutzen diffusionsgewichteter Bildgebung für die Brustkrebsdiagnostik noch nicht vollständig geklärt ist, ist die DCE-MRT ein etabliertes Verfahren. Nach intravenöser Applikation eines MR-Kontrastmittels (KM) wird ausgenutzt, dass Tumorgewebe aufgrund einer höheren Gefäßdichte und -durchlässigkeit eine signifikant schnellere Aufnahme und größtenteils auch höhere Anreicherung von Kontrastmittel im Vergleich zu normalem Drüsengewebe zeigt. Allerdings können benigne Tumoren ähnliche KM-Dynamiken aufweisen wie Karzinome, was neben der Tatsache, dass die Gabe von Kontrastmittel ein invasiver Vorgang ist, ein entscheidender Nachteil der Methode ist. Im Rahmen dieser Arbeit wurden 3 Patientinnen mit histologisch gesicherten Mamma-Karzinomen mittels CEST-Bildgebung und der Fragestellung, ob ein APT-gewichteter Kontrast erzeugt werden kann, untersucht.

3.4 Selektive Sättigung mit Pulsfolgen

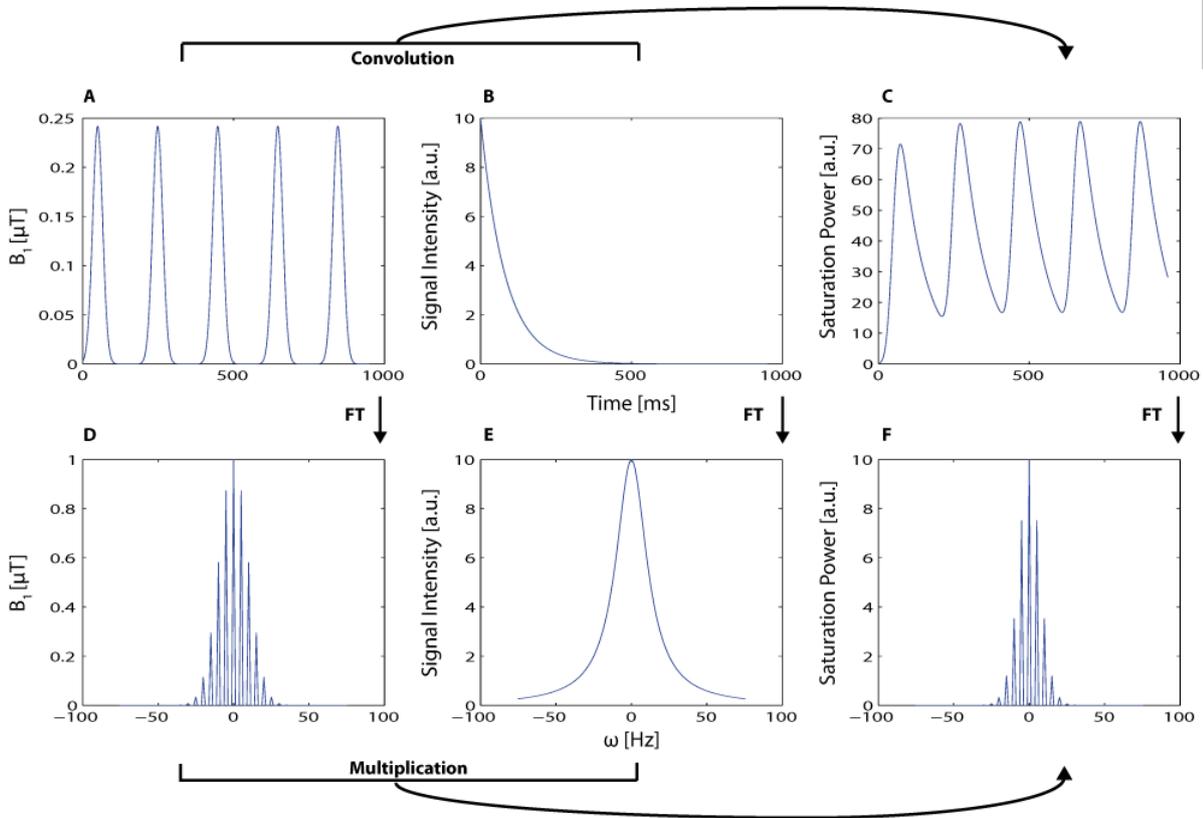


Abbildung 3.5: (A) Folge von gaußförmigen HF-Pulsen in der Zeitdomäne mit Pulsdauer $\tau_P = 100$ ms und Pulsabstand $\tau_D = 100$ ms. (B) T_2 -Zerfall eines Spin-Ensembles mit einer Zeitkonstante von 80 ms. (C) Faltung der Funktionen in (A) und (B) in der Zeitdomäne. (D) Fouriertransformation der Pulsfolge in (A). (E) Resonanzlinie des Spinensembles ((E) = FT[B]). (F) Die Fouriertransformierte der Faltung aus (C) ist gleich dem Produkt der Funktionen aus (D) und (E).

Da mit den RFPA der verwendeten klinischen Tomographen keine Sättigung durch CW-Be-strahlung induziert werden konnte, wurde eine Methode für die gepulste Sättigung an solchen Systemen entwickelt. Ziel war es, ein an klinischen MR-Tomographen einsetzbares Sättigungs-schema zu erhalten, mit dem Spinsysteme effizient und selektiv gesättigt werden können.

Zunächst wurde evaluiert, welche HF-Pulsformen für diesen Zweck geeignete Charakteristika besitzen. Dazu wurden Abfolgen von mehreren Pulsen mit unterschiedlichen Pulsformen (Rechteck, Sinc, Gauß) simuliert und deren Anregungsspektrum, das durch Fast-Fourier-Transformation berechnet wurde, untersucht. Diese qualitative Betrachtung diente lediglich der Vorauswahl von geeigneten Pulsformen. Eine quantitative Analyse wurde anschließend an Abfolgen von mehreren HF-Pulsen der ausgewählten Pulsform durchgeführt. Dazu wurde ausgenutzt, dass ein Zug von mehreren HF-Pulsen mit konstanter Pulsdauer τ_P und Pulsabstand τ_D als eine Funktion mit der Periode $T = \tau_P + \tau_D$ aufgefasst und als Fourier-Reihe mit den Koeffizienten c_k dargestellt werden kann:

$$f(t) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} c_k e^{ik\omega_P t}, \quad (3.1)$$

deren Fouriertransformation das Anregungsspektrum im Frequenzraum liefert

$$\text{FT}[f(t)] = 2\pi \sum_{k=-\infty}^{\infty} c_k \delta(\omega - k\omega_P). \quad (3.2)$$

Die Fouriertransformation liefert eine diskrete Verteilung von Energie in Form von Dirac-Spitzen an den Stellen $k\omega_P$ im Frequenzraum, mit $\omega_P = \frac{2\pi}{T}$. Somit kann der Abstand zwischen benachbarten „Energieportionen“ durch eine Erhöhung der Periode verringert werden. Bei Kenntnis der Absorptionslinienform kann daraus mit Gl. (2.68) eine zeitabhängige Anregungsrate für ein Spinsystem berechnet werden. Diese Zusammenhänge sind in Abb. 3.5 illustriert.

Der Spektralbereich, in dem durch die Pulsfolge HF-Energie deponiert wird, ist durch das Intervall von k eingegrenzt, in dem die Fourier-Koeffizienten eine nicht vernachlässigbare Größe besitzen. Für ein Experiment können Eigenschaften des Pulszuges somit vollständig berechnet und optimiert werden. Da die NMR-Eigenschaften eines Spin-Pools während eines *In-vivo*-Experiments näherungsweise konstant sind, kann die Anregungsrate, die durch eine Pulsfolge im Spinsystem erzeugt wird, im Vorfeld der Messung allein auf Basis der Pulsfolge maximiert werden.

3.4.1 Energieberechnung von Pulsfolgen

Der Flipwinkel der Magnetisierung, der durch einen HF-Puls in einem Spinsystem produziert wird, ist abhängig vom Integral des zeitlichen Verlaufs der HF-Amplitude (Gl. (2.19)). Wie in Abschnitt 2.4 beschrieben, lassen sich Magnetisierungstransfer-Effekte durch die Bloch-McConnell-Gleichungen mit einigen Annahmen berechnen. Für den Fall, dass Sättigung eines Spinsystems durch einen CW-Puls von mehreren Sekunden Dauer erreicht wird, kann das NMR-Signal unter Vernachlässigung von Relaxation während der Sättigung analytisch berechnet werden. Bei Verwendung von Pulsfolgen für die Sättigung ist eine analytische Lösung jedoch nicht explizit möglich. Um analytische Ansätze trotzdem zur quantitativen Beschreibung der durch gepulste Sättigung hervorgerufenen MT-Effekte benutzen zu können, wurden verschiedene Berechnungsmethoden vorgeschlagen, die auf der Beschreibung eines CW-Leistungsäquivalents der applizierten Pulsfolge beruhen und in [Portnoy and Stanisiz 2007] zusammengefasst sind.

In den Experimenten dieser Arbeit wurde ein Ansatz derart gewählt, dass das durch eine Pulsfolge applizierte HF-Feld, gemittelt über die Dauer eines Pulses τ_P und den Abstand zum nächsten τ_D , mit dem HF-Feld einer CW-Einstrahlung der Dauer $\tau_P + \tau_D$ übereinstimmt. Dann gilt:

$$B_{1,CW} = \frac{1}{\tau_P + \tau_D} \int_0^{\tau_P + \tau_D} B_1(t) dt \quad (3.3)$$

3.4.2 Spoiling

Am Ende eines Sättigungspulses kann Transversalmagnetisierung vorhanden sein, welche bei anschließender Signalakquisition ein unerwünschtes NMR-Signal produziert. Um dies zu eliminieren, werden sog. SPOILERGRADIENTEN eingesetzt. Diese direkt im Anschluss an einen HF-Puls angelegten magnetischen Feldgradienten bewirken, dass transversale Magnetisierung entlang der Richtung des Gradienten eine ortsabhängige Phasendispersion erfährt. Der Betrag der Phasendispersion ist dabei abhängig von der Fläche unter dem Gradienten. Während transversale Magnetisierung zerstört wird, bleibt longitudinale Magnetisierung unbeeinflusst, wodurch die in ihr gespeicherte Information in einer anschließenden Signalakquisition ohne Interferenzen abgerufen werden kann.

Die Effektivität des Spoilings der gepulsten Sättigung war neben der Fläche unter den Spoilergradienten abhängig davon, ob

- nach jedem Sättigungspuls der Pulsfolge Gradienten angelegt wurden,
- Gradienten entlang jeder Raumachse angelegt wurden,
- die Polaritäten und Amplituden der Gradienten nach jedem Sättigungspuls konstant waren.

Es wurden daher verschiedene Möglichkeiten zur Optimierung des Gradientenspoilings während der gepulsten Sättigung evaluiert.

3.5 NMR-Pulssequenzen

In Kapitel 2 wurden die physikalischen Grundlagen für die Erzeugung und die Messung eines Kernspinresonanzsignals beschrieben. MRT- und MRS-Experimente bestehen im Wesentlichen aus Hochfrequenzanregung, Frequenz- bzw. Phasenmodulation durch ortsabhängige magnetische Feldgradienten, die dem statischen Grundfeld für eine Zeitspanne Δt überlagert werden, und Datenakquisition. Die zeitliche Abfolge dieser Elemente wird als PULSSEQUENZ oder auch kurz SEQUENZ bezeichnet. Im Folgenden sollen die in dieser Arbeit verwendeten Sequenzen näher beschrieben werden.

Allgemein nutzt man bei fast allen MR-Experimenten aus, dass das nach einer HF-Anregung entstehende, mit T_2 zerfallende Signal durch Manipulation mit Gradienten oder HF-Pulsen refokussiert und damit Gradienten- (GRE, Abb. 3.6) bzw. Spinechos (SE, [Hahn 1950], Abb. 3.7) erzeugt werden können. In der MRS nimmt man bei manchen Techniken das nach einer HF-Anregung entstehende FID-Signal oder ein stimulierte Echo auf.

CEST-Effekte werden in der NMR wie bereits beschrieben anhand einer Reduktion des Signals von Protonen des freien Wassers experimentell gemessen. Dies entspricht einer Reduktion der longitudinalen Magnetisierung des Wassers, weswegen die CEST-Information in longitudinaler Richtung gespeichert ist, aber nach Abschalten der Sättigung mit T_1 zerfällt. Es ist somit not-

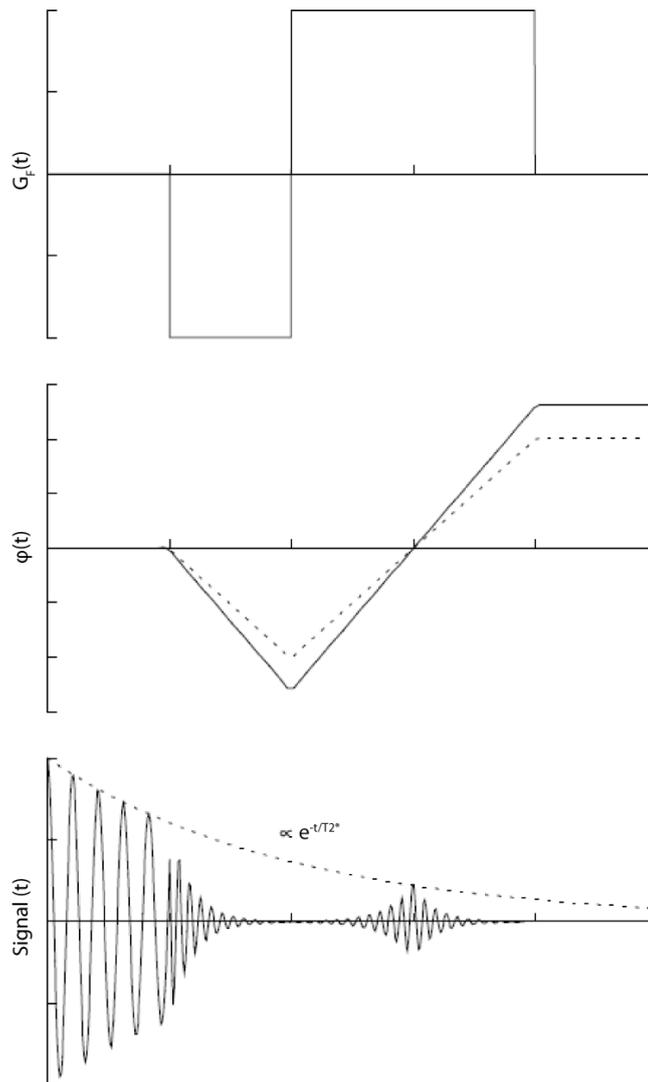


Abbildung 3.6: Durch Anlegen eines Gradienten kann ein zerfallenes MR-Signal rephasiert und das entstehende Gradientenecho detektiert werden.

wendig, das präparierte longitudinale Signal rasch auszulesen. Im Folgenden sind verschiedene Sequenzen beschrieben, die unter anderem zur schnellen Auslese von präpariertem NMR-Signal genutzt wurden.

3.5.1 Spektroskopie-Methoden

In der MRS unterscheidet man zusätzlich zu den aufgenommenen Signalen noch zwischen unlokalisierter Spektroskopie, Single-Voxel-Techniken, bei denen das Spektrum aus einem definierten Voxel aufgenommen wird, und spektroskopischer Bildgebung, wo Spektren mehrerer Voxel in einer Messung aufgenommen werden.

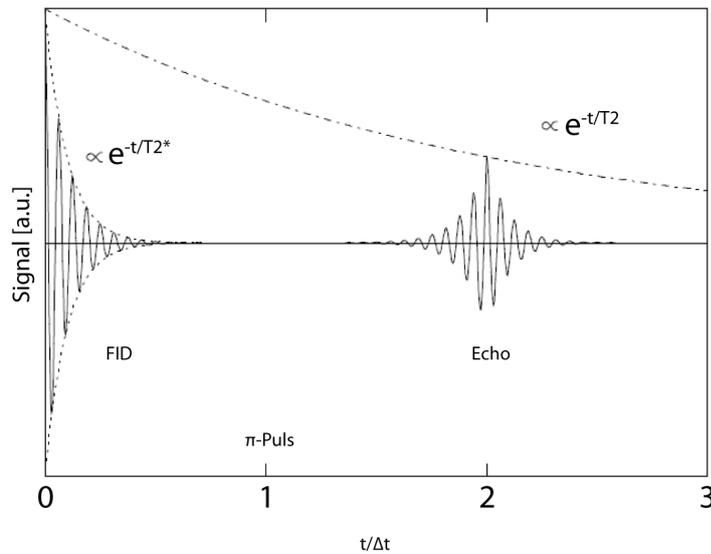


Abbildung 3.7: Ein 180° HF-Puls am Zeitpunkt 1 refokussiert die dephasierende Transversalmagnetisierung, so zum Zeitpunkt 2 ein sog. Spinecho entsteht, das detektiert werden kann.

3.5.1.1 Das FID-Experiment

Das FID-Experiment ist das einfachste Spektroskopie Experiment: Nach einem 90° -Anregungspuls liegt die gesamte Magnetisierung einer Probe in der Transversalebene geklappt. Mit der Signalakquisition des mit T_2^* zerfallenden FID wird unmittelbar nach Anregung begonnen. Das aufgenommene spektrale Signal stammt aus dem gesamten durch angeregte Spins belegten Raum, in dem die Empfangsspule Signal detektiert. Parameter dieses Experiment sind

1. Repetitionszeit TR : Zeit zwischen einer Anregung und dem Beginn der nächsten
2. Anzahl der Wiederholungen NEX (= Number of Excitations), die für das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR, kurz für Signal-to-Noise-Ratio) der Messung wichtig sind ($\text{SNR} \propto \sqrt{NEX}$)
3. Bandbreite, BW (=Bandwidth), des Anregungspulses ($\approx 1/\tau_P$)
4. Anzahl N der aufgenommenen Punkte: Eindimensionales Array von Datenpunkten, die durch den Analog-Digital-Konverter während der Signalakquisition abgetastet werden. BW/N ergibt die Frequenzauflösung des Spektrums.

3.5.1.2 Single-Voxel-Spektroskopie

Die zwei wichtigsten Single-Voxel-Spektroskopie(SVS)-Methoden sind POINT-RESOLVED SPECTROSCOPY (PRESS, [Bottomley 1984]) und STIMULATED ECHO ACQUISITION MODE (STEAM, [Frahm et al. 1987]). Die selektive Anregung von Spins in Schichtebenen geschieht durch ein gleichzeitiges Anlegen eines Gradientenfeldes \mathbf{G} entlang einer der Koordinatenachsen während eines HF-Pulses. Durch dessen Überlagerung mit dem Grundfeld wird die Resonanzfrequenz

abhängig von der Ortskoordinate:

$$\omega(\mathbf{r}) = \gamma(B_0 + \mathbf{r}\mathbf{G})(1 - \delta) \quad (3.4)$$

Wirkt der Gradient G_z entlang der z -Achse, regt ein HF-Puls mit der Bandbreite $BW = \gamma G_z d$ und der Trägerfrequenz ω_0 Spins in einer Schicht der Dicke d um $z_0 = \omega_0/\gamma G_z$. Der Einfluss $(1-\delta)$ der chemischen Verschiebung auf die Schichtdicke kann für ^1H vernachlässigt werden. Spins, deren Resonanzfrequenz einen Offset $\Delta\omega$ zur Trägerfrequenz des HF-Pulses besitzt, werden räumlich nach dem gleichen Prinzip an unterschiedlicher Stelle angeregt:

$$\Delta z = \Delta\omega/\gamma G_z \quad (3.5)$$

Dieser Versatz des Anregungsortes wird Chemical-Shift-Artefakt genannt und kann bei bekannter chemischer Verschiebung für alle Protonen mittels Gl. (3.5) berechnet werden.

Selektive Anregung eines Volumenelements wird bei PRESS und STEAM dadurch erreicht, dass jeder der 3 Anregungspulse schichtselektiv ist und zueinander orthogonale Schichten anregt und so durch Überlagerung der Einzelschichten Signal nur in einem Volumenelement generiert wird. Während bei PRESS ein doppelt-refokussiertes Hahn-Spinoecho entsteht, ist das bei STEAM entstehende MR-Signal ein stimuliertes Echo. Die zusätzlichen Parameter dieser Methoden sind:

1. Echozeit TE. Wird das zerfallende MR-Signal zur Zeit Δt nach einem Anregungspuls refokussiert, entsteht zur Zeit $TE = 2\Delta t$ ein Echo.
2. Mischzeit TM (nur STEAM): Die Zeit zwischen zweitem und dritten HF-Puls.
3. Dimensionen des Voxels in jeder Raumrichtung

3.5.2 Bildgebungsmethoden

Wie oben bereits beschrieben, lassen sich fast alle MRT-Pulssequenzen auf die generierten und ausgelesenen Signalen, nämlich Gradienten (GRE)- und Spinoechos (SE), zurückführen. Dies ist in Abb. 3.8 illustriert. Vielerlei Faktoren führen zur weiteren Unterscheidung der Sequenzen. Für eine grundlegendere Beschreibung von Bildgebungsmethoden sei auf die Literatur verwiesen [Haacke et al. 1999; Bernstein et al. 2004].

Nach der schichtselektiven Anregung werden die Kernspinresonanzen in der 2D-MRT durch Feldgradienten noch weiter kodiert, um sie bei der folgenden Datenakquisition räumlich zuordnen zu können. Das zeitabhängige MR-Signal, das durch transversale Magnetisierung (vgl. Gl. (2.24)) erzeugt wird, kann bei Vernachlässigung der Relaxation in Anwesenheit eines zeitabhängigen magnetischen Feldgradienten geschrieben werden als:

$$S(t) = \int M_{Tr}(\mathbf{r}) B_{Tr}(\mathbf{r}) e^{-i\phi(\mathbf{r},t)} d^3\mathbf{r} \quad (3.6)$$

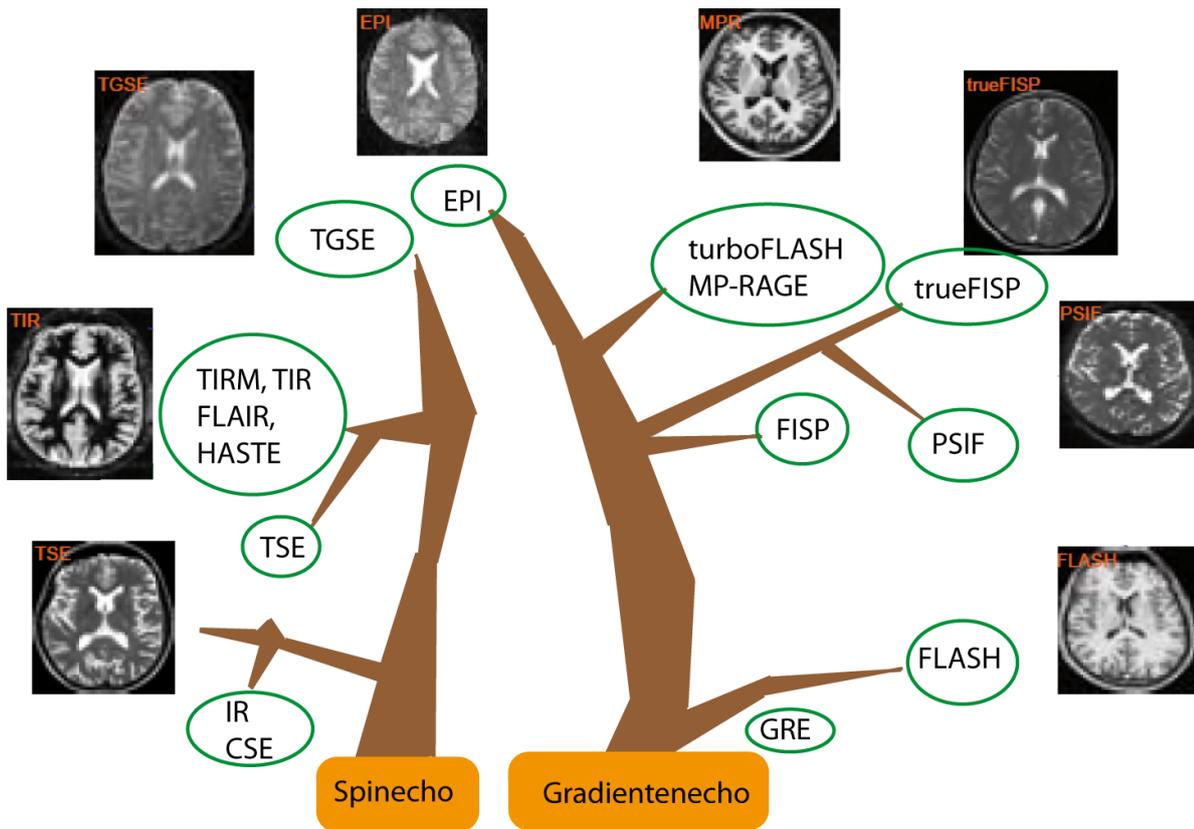


Abbildung 3.8: “Stammbaum“ gängiger Pulssequenzen für die MR-Bildgebung mit den Akronymen, die vom Hersteller Siemens benutzt werden. Die beschriebenen Pulssequenzen lassen sich anhand des akquirierten MR-Signals, nämlich Spin- oder Gradientenecho, klassifizieren.

Die beiden komplexen Grössen $M_{Tr}(\mathbf{r})$ und $B_{Tr}(\mathbf{r})$ sind die Transversalmagnetisierung an der Stelle \mathbf{r} nach dem Anregungspuls bzw. die transversale Komponente des B_1 -Feldes der Empfangsspule. Die akkumulierte Phase in [rad] ist

$$\phi(\mathbf{r}, t) = \gamma \int_0^t \mathbf{r} \cdot \mathbf{G}(t') dt' \quad (3.7)$$

und t die Zeit nach dem Anregungspuls darstellt. Definiert man nun eine ortsabhängige „Frequenz“variable

$$\mathbf{k}(t) = \frac{\gamma}{2\pi} \int_0^t \mathbf{G}(t') dt', \quad (3.8)$$

deren Einheit eine inverse Länge ist, reduziert sich Gl. (3.6) zu:

$$S(t) = \int M_{Tr}(\mathbf{r}) B_{Tr}(\mathbf{r}) e^{-i2\pi \mathbf{k}(t) \cdot \mathbf{r}} d^3 \mathbf{r} \quad (3.9)$$

Das in der Zeitdomäne beobachtete MR-Signal, das einen zweidimensionalen k -Raum mit ortsabhängigen Frequenzen aufspannt, ist dementsprechend gleich der inversen Fouriertransformierten der gewichteten Transversalmagnetisierung $M_{Tr}(\mathbf{r})B_{Tr}$ [Ljunggren 1983; Twieg 1983]. Es wird mittels Gradienten längs der Richtungen des k -Raums kodiert. Auf der horizontalen Achse des k -Raums geschieht dies durch Frequenz- und auf der vertikalen durch Phasenkodierung. Die kodierenden Gradienten werden daher auch als Frequenz- bzw. Phasenkodiergradient bezeichnet.

Die im k -Raum vorliegenden Signale können im MR-Experiment nicht kontinuierlich, sondern nur diskret abgetastet werden. In Frequenzkodierrichtung ist die Datenakquisitionsperiode in N_F gleich lange Teilstücke eingeteilt, zu denen jeweils die k_F -Werte

$$k_F^n = n\Delta k_F = \frac{n\gamma G_y \Delta t_F}{N_F} \quad (3.10)$$

gehören. Δt_F ist hierbei die Gesamtdauer, während der der Frequenzkodiergradient eingeschaltet bleibt. k_F nimmt dann Werte zwischen $-k_{F,max}$ und $+k_{F,max}$ an, die proportional zu den negativen und positiven Maximalwerten des Gradienten sind. Dies stellt eine komplette Zeile des k -Raums dar (Abb. 3.9). Bei vollständiger Abtastung einer Zeile nimmt der Index n in Gl. (3.10) alle Werte zwischen $-N_F/2$ und $+N_F/2$ an.

Der Sequenzablauf muss nun mit unterschiedlicher Phasenkodierung wiederholt werden, um genügend Rohdatenzeilen für die Rekonstruktion eines Bildes aufzunehmen. Ähnlich wie in der Spektroskopie wird die Zeit, die zwischen zwei Datenauslesen vergeht, mit TR bezeichnet. Zusammen mit der Anzahl der Phasenkodierschritte N_P bestimmt sie die Gesamtmessdauer $TA = TR \cdot N_P$ zur Aufnahme eines Bildes. Bei jeder Repetition wird die Amplitude des Phasenkodiergradienten verändert und somit eine andere Zeile im k -Raum ausgewählt. Für den m -ten Phasenkodierschritt erhält man:

$$k_F^m = m\Delta k_P = \frac{m\gamma G_x \Delta t_P}{N_P} \quad (3.11)$$

Der Phasenkodiergradient nimmt dabei alle Werte von $-G_x/2$ bis $+G_x/2$ an. Sind die Rohdaten einer Schicht aufgenommen, kann das Bild durch zweidimensionale Fouriertransformation mit Hilfe des FFT-Algorithmus' (Fast Fourier Transform, [Cooley and Tukey 1965]) effizient

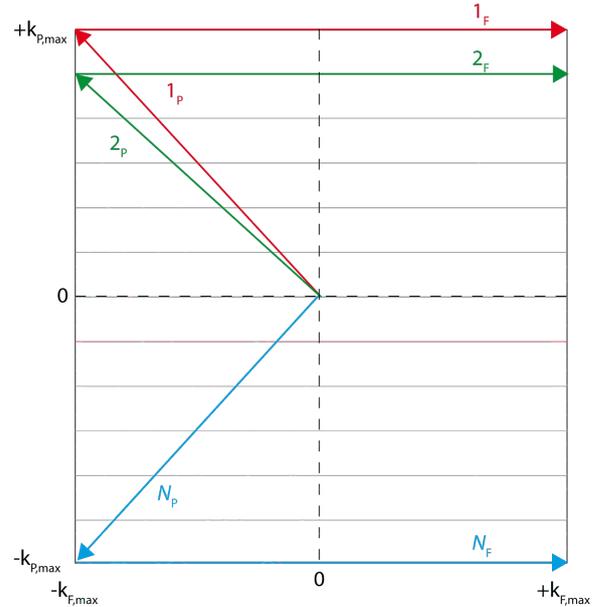


Abbildung 3.9: Schematische Darstellung des 2D k -Raums mit Trajektorien, die die zeilenweise Auslese der k -Raumdaten durch Gradienten illustrieren. Nach Kodieren von Spinpaketen einer Zeile durch einen Phasenkodiergradienten erfolgt die Signalauslese während ein Frequenzkodiergradient anliegt. Dieses Vorgehen wird für N Zeilen wiederholt.

berechnet werden. Neben der Akquisition von zweidimensionalen Daten nach schichtselektiver Anregung besteht auch die Möglichkeit, Rohdaten dreidimensional zu akquirieren. Dabei wird Phasenkodierung auch in Richtung des Schichtselektionsgradienten nach vorheriger Anregung eines Volumens durchgeführt und somit ein dreidimensionaler k -Raum erzeugt. 3D-Verfahren haben gegenüber 2D- oder auch Mehrschichtverfahren u.a. den Vorteil, dass Daten auch in der Schichtselektionsrichtung „nahtlos“, d.h. ohne Abstände zwischen den Schichten, die bei 2D-Verfahren notwendig sind, aufgenommen werden können. Die räumliche Ausdehnung des erfassten Volumens bzw. der erfassten Schicht wird dann als *FOV* (für FIELD-OF-VIEW) bezeichnet.

3.5.2.1 Echo-Planare Bildgebung

Mansfield schlug 1977 vor, den k -Raum nicht zeilenweise nach HF-Anregungen auszulesen, sondern die gesamten Rohdaten nach einer HF-Anregung innerhalb einer Akquisitionsperiode aufzunehmen (ECHO PLANAR IMAGING, EPI, [Mansfield 1977]). Ein vor der Datenauslese angelegter Dephasiergradient in Phasenkodierrichtung setzt hierbei die Phase vor der Datenauslese auf den negativen Maximalwert. Danach wird zur Datenakquisition ein sinusförmiger Frequenzkodiergradient und ein schwacher konstanter Phasenkodiergradient geschaltet, was zu einer sinusförmigen Abtastung des k -Raums führt und bei geeignet schneller Schaltung der Gradienten das gesamte Rohdatenbild erfasst (Abb. 3.10).

EPI ist damit ein Verfahren, das eine sehr schnelle Bildakquisition ermöglicht (TA in der Größenordnung < 100 ms). Allerdings sind folgende Nachteile zu berücksichtigen:

- Das Bild kann nicht direkt aus den Rohdaten berechnet werden. Stattdessen muss erst ein diskretes Hologramm aus den Messdaten interpoliert werden, aus dem die eigentliche Bildrekonstruktion erfolgen kann.
- Da die Zeit für die Auslese der gesamten Bilddaten lang ist im Vergleich zu T_2^* , ist die Signalamplitude während der Auslese nicht konstant, was im Bild zu einer Verschmierung von Objekten führt.

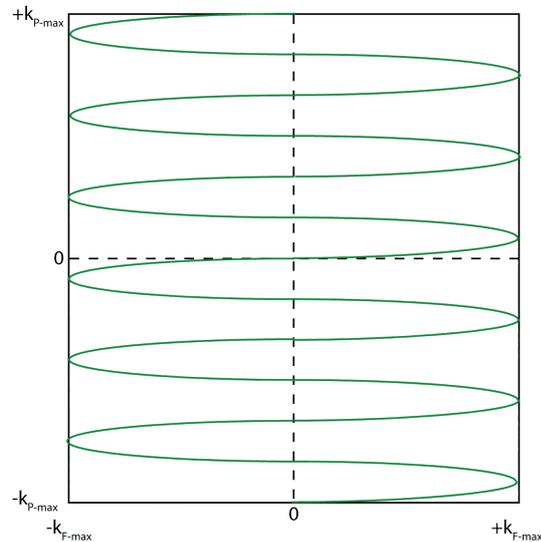


Abbildung 3.10: Schematische Darstellung zur Auslese des k -Raums für Echo-planare Bildgebung (EPI). Einem sinusoidalen Frequenzkodiergradient wird ein konstanter Phasenkodiergradient überlagert, so dass der gesamte k -Raum innerhalb einer Akquisitionsperiode abgetastet wird.

- Durch imperfekte magnetische Feldgradienten und Empfangselektronik, Gradienten-induzierte Wirbelströme, Fluss und Bewegung sowie magnetische Feldinhomogenitäten kann es dazu kommen, dass das Signal aus einem Volumenelement unterschiedliche Amplitude und/oder Phase bei unterschiedlichen Polaritäten des Frequenzkodiergradienten aufweist. Bei der Bildrekonstruktion entstehen dadurch geometrische Verzerrungen oder sog. Geisterbilder, die in Phasenkodierrichtung um $N_P/2$ Pixel vom Original verschoben erscheinen, da $N_P/2$ k -Raumzeilen mit gleicher Polarisation des Frequenzkodiergradienten aufgenommen werden.

3.5.2.2 Spoiled Gradient Echo

Haase *et al.* stellten 1986 die FLASH (FAST LOW-ANGLE SHOT)-Sequenz als erste Gradientenechosequenz für die schnelle MR-Bildgebung vor. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden ausschließlich Spinecho-Sequenzen für die MR-Bildgebung verwendet. Der Flipwinkel des anregenden HF-Pulses α ist in GRE-Sequenzen typischerweise $< 90^\circ$, so dass die longitudinale Magnetisierungskomponente niemals durch einen HF-Puls refokussiert werden muss. Aus diesem Grund sind keine langen Wartezeiten für T_1 -Relaxation und damit kurze TR möglich. In den meisten Fällen werden kleine α benutzt, die ausreichend Transversalmagnetisierung erzeugen, aber den Großteil der Longitudinalmagnetisierung ungestört lassen.

Eine Serie dieser Kleinwinkel Anregungen führt dazu, dass longitudinale und transversale Magnetisierung in ein dynamisches Gleichgewicht, den sog. STEADY STATE getrieben werden. Nachdem eine genügend große Anzahl von Anregungspulsen auf ein Probenvolumen gewirkt hat, ist die longitudinale Magnetisierung M_z am Beginn von zwei benachbarten TR-Intervallen gleich. Auf einem Gradientenecho als MR-Signal basierende Sequenzen werden auch als SSFP (STEADY-STATE FREE PRECESSION)-Sequenzen bezeichnet [Scheffler and Lehnhardt 2003] und unterscheiden sich in Bezug auf die Transversalmagnetisierung M_{Tr} :

- Wenn angenommen werden kann, dass vor jedem Anregungspuls $M_{Tr} = 0$, wird die Pulssequenz als SPOILED bezeichnet.
- In anderen SSFP-Sequenzen kann M_{Tr} jedoch vor jedem α einen von Null verschiedenen Gleichgewichtswert aufweisen. Auf eine dieser Sequenzen wird im kommenden Abschnitt eingegangen.

Als SPOILING wird in der MR die Zerstörung von transversaler Magnetisierung durch Dephasierung des Signals bezeichnet. Während Haase *et al.* bei der Vorstellung der FLASH-Technik noch kein Spoiling der residualen Transversalmagnetisierung am Ende eines Auslesezugues implementierten, wurden seitdem verschiedene Techniken entwickelt, um dies zu erreichen. Die in dieser Arbeit verwendete Spoiling-Technik ist das sog. RF-SPOILING [Crawley et al. 1988]. Dabei wird die Phase Φ_j des j -ten Anregungspulses nach folgendem Muster eingestellt:

$$\Phi_j = \Phi_{j-1} + j\Phi_0 \quad (3.12)$$

In den Messungen für diese Arbeit wurde mit $\Phi_0 = 117^\circ$ gearbeitet, womit ein hohes Maß an Spoiling erreicht werden kann [Zur et al. 1991]. Die Phase des ADC wurde angepasst, um eine Konsistenz des gemessenen MR-Signals mit den k -Raumdaten zu erzeugen. Wenn man perfektes Spoiling annimmt, d.h. $M_{Tr} = 0$ vor jeder neuen Anregung, verwandelt jeder Anregungspuls vorhandene Longitudinalmagnetisierung in neue Transversalmagnetisierung. Es sei M_{zA} die Longitudinalmagnetisierung zum Zeitpunkt A , dann ist sie nach einem HF-Puls mit Flipwinkel α :

$$M_{zB} = M_{zA} \cos \alpha \quad (3.13)$$

Im TR-Intervall zwischen den Zeitpunkten B und C erfolgt T_1 -Relaxation auf. Die Bloch-Gleichungen ergeben

$$M_{zC} = M_{zB} e^{-TR/T_1} + M_0(1 - e^{-TR/T_1}) = M_{zA} \cos \alpha E_1 + M_0(1 - E_1), \quad (3.14)$$

wobei $E_1 = e^{-TR/T_1}$. Wenn die longitudinale Magnetisierung einen Steady State erreicht hat, gilt $M_{zA} = M_{zC}$. Durch Ersetzen von M_{zC} in Gl. (3.14) erhält man:

$$\frac{M_{zA}}{M_0} = \frac{1 - E_1}{1 - \cos \alpha E_1} \equiv f_{z,SS} \quad (3.15)$$

$f_{z,SS}$ ist also ein dimensionsloses Maß für die Longitudinalmagnetisierung im Steady State. Das Signal S_{Spoil} einer RF-Spoiled-GRE-Aufnahme wird durch den Gradienten erzeugt, der den FID zur Zeit TE rephasiert, und ist somit gegeben durch $M_{zA} \sin \alpha e^{TE/T_2^*}$. Die Gleichung kann umgeschrieben werden und man erhält die wohlbekannte FLASH-Gleichung:

$$S_{Spoil} = \frac{M_0 \sin \alpha (1 - e^{-TR/T_1})}{1 - \cos \alpha e^{-TR/T_1}} e^{-TE/T_2^*} \quad (3.16)$$

Der Flipwinkel θ , der das Signal der gespoilten GRE-Sequenz maximiert, wird als Ernst-Winkel bezeichnet:

$$\theta = \arccos E_1 \quad (3.17)$$

Die Annäherung der longitudinalen Magnetisierung an den Steady State und somit auch die Anzahl Pulse, die bis zum Erreichen des Steady States benötigt werden, sind wichtige Parameter der GRE-Technik. Dies gilt insbesondere wenn ein Kontrast ausgelesen werden soll, dessen Information zu Beginn der Signalakquisition in longitudinaler Magnetisierung gespeichert ist. Das MR-Signal nach der j -ten Anregung ist gegeben durch:

$$S_j = M_0 \sin \alpha \left[f_{z,SS} + (\cos \alpha e^{-TR/T_1})^{j-1} (1 - f_{z,SS}) \right] e^{-TE/T_2^*} \quad (3.18)$$

3.5.2.3 Balanced SSFP-Bildgebung

Ist die ortsabhängige Phase ϕ , die der Magnetisierungsvektor im Bild der Bloch-Gleichungen durch magnetische Feldgradienten innerhalb des TR-Intervalls einer SSFP-Sequenz akkumuliert genau Null, spricht man von BALANCED SSFP (bSSFP oder auch TrueFISP, [Oppelt et al. 1986]). Die fehlende Dephasierung wird dadurch erreicht, dass innerhalb eines TRs jeder Gradientenpuls durch einen weiteren Gradientenpuls umgekehrter Polarität kompensiert wird. Am Ende eines TR-Intervalls bleibt also ein einziger, vollständig refokussierter Magnetisierungsvektor übrig, dessen transversale Komponente zu Beginn (kurz nach dem Anregungspuls) und am Ende eines TR-Intervalls bis auf T_1 - und T_2 -Effekte nahezu identisch ist.

Die in dieser Arbeit eingesetzte 3D-SSFP-Sequenz bestand aus einem initialen $\alpha/2$ -Präparationspuls gefolgt von im Vorzeichen alternierenden $\pm\alpha$ -Pulsen. Vernachlässigt man Relaxationseffekte, ist die Entwicklung der Magnetisierung aufgrund fehlender Dephasierung durch Gradienten leicht zu beschreiben: Nachdem der initiale $\alpha/2$ -Puls die Magnetisierung in ihre Steady-State-Position gebracht hat, führen die folgenden Anregungspulse zu einer Oszillation des Magnetisierungsvektors um die z -Achse. Wenn Relaxationseffekte berücksichtigt werden, beobachtet man zusätzlich eine durch Relaxation gedämpfte Oszillation des Magnetisierungsvektors um die z -Achse. Die transversale Magnetisierung konvergiert mit zunehmender Anzahl an Pulsen in den Steady-State, dessen Wert und somit auch die Zeit bis zum Erreichen abhängig von α ist. Die transversale Magnetisierung der TrueFISP-Sequenz im Steady State ist gegeben durch

$$M_{Tr}^{SS} = M_0 \frac{\sqrt{E_2(1-E_1)} \sin \alpha}{1 - (E_1 - E_2) \cos \alpha - E_1 E_2}, \quad (3.19)$$

wobei $E_2 = e^{-TR/T_2}$ [Freeman and Hill 1971; Zur et al. 1988]. Die Gleichung vereinfacht sich für $TR < T_1, T_2$:

$$M_{Tr}^{SS} = M_0 \frac{\sin \alpha}{1 + \cos \alpha + (1 - \cos \alpha)(T_1/T_2)} \quad (3.20)$$

Mit dem optimalen Flipwinkel

$$\cos \alpha = \frac{T_1/T_2 - 1}{T_1/T_2 + 1} \quad (3.21)$$

ergibt sich die Transversalmagnetisierung

$$M_{Tr}^{SS} = \frac{1}{2} M_0 \sqrt{T_2/T_1}. \quad (3.22)$$

Wenn T_1 und T_2 ähnliche Werte haben, ist es mit der TrueFISP-Sequenz demnach möglich, mit einem Flipwinkel $\alpha = 70 - 90^\circ$ ein Steady-State-Signal zu erzeugen, das 50 % der thermischen Spin-Polarisation M_0 entspricht.

Ein großer Nachteil der TrueFISP-Sequenz ist die Anfälligkeit für Artefakte, die durch lokale Inhomogenitäten des Magnetfelds innerhalb des untersuchten Bereichs entstehen. Abhängig von der Größe der Frequenzoffsets an einem bestimmten Punkt im Raum akkumulieren dort ansässige Spinpakete eine charakteristische Phase innerhalb TR , die bedingt, dass sie durch die Gradienten nicht vollständig rephasiert werden können [Carr 1958]. Während das MR-Signal über einen weiten Offset-Bereich nur geringen Schwankungen unterliegt, erhält man an Stellen, wo Spinpakete Phasen $\pm\pi$ akkumuliert haben, eine vollständige Signalauslöschung, was an entsprechenden Stellen im Bild als BANDARTEFAKT bezeichnet wird. Da Inhomogenitäten des magnetischen Grundfeld in MR-Experimenten immer zu einem bestimmten Grad vorhanden sind, sind Bandartefakte in der TrueFISP-Bildgebung ein Problem.

3.5.2.4 Messung von Relaxationszeiten

Zur Bestimmung von T_1 -Relaxationszeiten kamen zwei verschiedene Techniken zum Einsatz:

1. **Saturation Recovery turboFLASH:** Bei dieser Technik wird ein Pulszug zur Sättigung des Signals von freien Wasserprotonen [Dietrich et al. 1976] vor eine schnelle FLASH-Bildgebung geschaltet [Bock et al. 2008], wobei die Zeit zwischen Sättigung und Beginn der Bildauslese in mehreren Schritten inkrementiert wird. Die Erholung des Wassersignals während dieser Zeit ist proportional zu T_1 , so dass die gemessene Signalintensität als Funktion der Erholungszeit (t_{rec}) dargestellt und T_1 mittels

$$S(t_{rec}) = S_0 + A(1 - e^{-t_{rec}/T_1}) \quad (3.23)$$

bestimmt werden kann. Typischerweise wurde das Signal für 27 verschiedene Erholungszeiten von 20 bis 5000 ms gemessen.

2. **Zwei-Flipwinkel-Methode:** Diese Methode zur Bestimmung von T_1 basiert auf der Akquisition von Bilddatensätzen mit einer FLASH-Sequenz und 2 unterschiedlichen Flipwinkeln [Wang et al. 1987], wobei folgende Überlegungen zu Grunde liegen: Für $TR \gg T_2^*$ sind die Einflüsse von T_2^* auf das Signal vernachlässigbar und man erhält aus der FLASH-Gleichung (Gl. (3.16)):

$$S(\alpha) = \frac{M_0 \sin \alpha (1 - e^{-TR/T_1})}{1 - \cos \alpha e^{-TR/T_1}} \quad (3.24)$$

Diese Gleichung lässt sich linearisieren zu

$$\frac{S(\alpha)}{\sin \alpha} = E_1 \frac{S(\alpha)}{\tan \alpha} + M_0(1 - E_1), \quad (3.25)$$

so dass T_1 durch lineare Regression der gemessenen Signalintensitäten bei Auftragen gg. α bestimmt werden kann. T_1 -Bestimmungen mit der Zwei-Flipwinkel-Methode wurden in

dieser Arbeit mit einer Spoiled-FLASH durchgeführt, da damit eine höhere Genauigkeit im Vergleich zur Messung mit konventioneller FLASH-Bildgebung erzielt werden kann [Preibisch and Deichmann 2009]. Die verwendeten Flipwinkel waren 5 bzw. 26°.

T_2 -Relaxationszeiten von Wasserprotonen wurden mit einer Spinecho-Bildgebungssequenz bestimmt. Dabei wurden Bilddatensätze mit 5 verschiedenen Echozeiten aufgenommen, das gemessene Signal als Funktion von TE dargestellt und der Signalverlauf mit folgender Funktion gefittet:

$$S(TE) = S_0 + A \cdot e^{-TE/T_2} \quad (3.26)$$

Die T_2 -Relaxationszeiten von weiteren gebundenen Protonen wurde in Modelllösungen mittels der PRESS-Technik und verschiedenen Echozeiten bestimmt. Die Fläche der Resonanzlinie der jeweiligen Protonen wurde durch Fitten einer Lorentzfunktion berechnet und gegen TE aufgetragen. TT konnte anschließend aus dem Fit des Signalverlaufs mit Gl. (3.26) extrahiert werden.

3.6 Auswertung von z-Spektren

Die Auswertung von Spektroskopie- und Bilddaten erfolgte mit Software, die zu diesem Zweck in MATLAB 7.1 (The Mathworks, Natick, MA, USA) programmiert wurde. Gemessene z-Spektren, die typischerweise mit Frequenzauflösungen von 0,2–0,5 ppm aufgenommen wurden, wurden linear auf Frequenzauflösungen von 0,1 ppm interpoliert und anschließend für B_0 -Inhomogenitäten korrigiert.

Die Korrektur erfolgte durch Bestimmung der minimalen Signalintensität im z-Spektrum mit einem in MATLAB integrierten Spline-Algorithmus. Der Algorithmus nimmt die Anpassung einer Spline-Funktion an die Messdaten mit variabler Genauigkeit in einer Weise vor, dass der Fit den Daten nur bei großen Abweichungen zwischen benachbarten Punkten folgt. Dadurch wurde gewährleistet, dass das globale Minimum im z-Spektrum vom Fit als solches erkannt und von anderen, lokalen Minima unterschieden wird. Die auf diese Weise gefitteten Minima wurden anschließend auf die Offset-Frequenz $\Delta\omega = 0$ verschoben, die der Resonanzfrequenz von freien Wasserprotonen entspricht. Anschließend wurden die z-Spektren linear auf die ursprüngliche Frequenzauflösung zurückinterpoliert. Unterschiede zwischen erwarteter und gemessener Minimumsposition wurden auf Inhomogenitäten im statischen Magnetfeld δ (Gl. (2.76)) zurückgeführt. Somit konnte MTR_{asym} (Gl. (2.73)) in korrigierten z-Spektren nur in einem Bereich $\pm(\Delta\omega_{max} - \delta\omega_B)$ ausgewertet werden.

3.6.1 Spektroskopiedaten

Das zeitabhängige ^1H -NMR-Signal aus FID-Experimenten wurde vor der FT zur Unterdrückung von Rauschen gefiltert (Gauß-Filter, $\sigma = 5$ Hz). Die Wasserlinie im Spektrum wurde dann mit

einer Lorentzfunktion gefittet, um die Resonanzfrequenz des Peaks genau zu bestimmen. Anschließend wurde die Fläche unter der Fitfunktion in einem Bereich von ± 5 ppm von der Resonanzfrequenz integriert, um das NMR-Signal von Protonen des freien Wassers zu erhalten.

Nach vorheriger Sättigung mit geringem Offset von der Wasserlinie war diese z.T. sehr stark verzerrt und konnte nicht mit einer Lorentzfunktion gefittet werden. In diesem Fall wurde die Resonanzfrequenz des Anregungspulses, die vor der Messung der Wasserresonanz entsprach, als Mitte des verzerrten Wasserpeaks angenommen. Die nach vorheriger Sättigung auf der Offset-Frequenz ($\Delta\omega$) gemessene Signalintensität der Resonanzlinie ($M_{Sat}(\Delta\omega)$) wurde dann gegen die Signalintensität ohne vorherige Sättigung (M_0) normiert. Die Größe $M_{Sat}(\Delta\omega)/M_0$, aufgenommen über einen Bereich $\pm\Delta\omega_{max}$, ergab dann das z-Spektrum der Messung.

3.6.2 Bilddaten

Für jeden Sättigungsoffset im Spektralbereich $\pm\Delta\omega_{max}$ wurde ein Datensatz mit identischen Bildgebungseinstellungen aufgenommen. Aus den Signalintensitäten in den aufgenommenen Bildern konnte so für jedes Pixel ein z-Spektrum extrahiert werden. Dies ist in Abb. 3.11 schematisch gezeigt. Mit der vorhandenen Auswertesoftware konnten Bilder für die weitere Auswertung manuell in Bereiche aufgeteilt werden. Für einen markierten Bereich (ROI für REGION OF INTEREST) erfolgte dann eine Zusammenfassung der darin enthaltenen z-Spektren und Asymmetriedaten durch Mittelwertbildung von allen markierten Pixeln.

3.7 Simulation von MT-Experimenten

Um die Auswirkungen von Pulsfolgen mit beliebigen Kombinationen von τ_P und τ_D auf zwei gekoppelte Pools zu untersuchen, wurden numerische Berechnungen von Lösungen der Bloch-McConnell-Gleichungen durchgeführt. Dabei wurde ein Formalismus genutzt, der die Bloch-McConnell-Gleichungen (Gl. (2.53) – (2.58)) für ein 2-Pool-Modell als Matrixgleichung darstellt [Woessner et al. 2005]. Das ursprünglich für CW-Sättigung beschriebene Modell wurde durch Diskretisierung des zeitlichen Verlaufs des HF-Felds der Sättigungspulse erweitert, um auch gepulste Sättigung simulieren zu können [Zaiß 2010].

Die Ergebnisse der Simulationen wurden für den Vergleich von experimentellen Resultaten und theoretischen Vorhersagen benutzt. Die charakteristischen Parameter der Pools, die in den Simulationen verwendet wurden, waren nach Möglichkeit an gemessene Werte (T_1 -, T_2 -Zeiten, Konzentrationen) oder an Literaturdaten (chemische Verschiebung der Pools, Austauschraten) angelehnt. Die Effektivität des Gradientenspoilings von MR-Signalen nach Sättigungspulsen wurde durch Reduktion der transversalen Magnetisierungskomponenten um einen Faktor f_{Spoil} mit Werten zwischen 0 und 1 beschrieben.

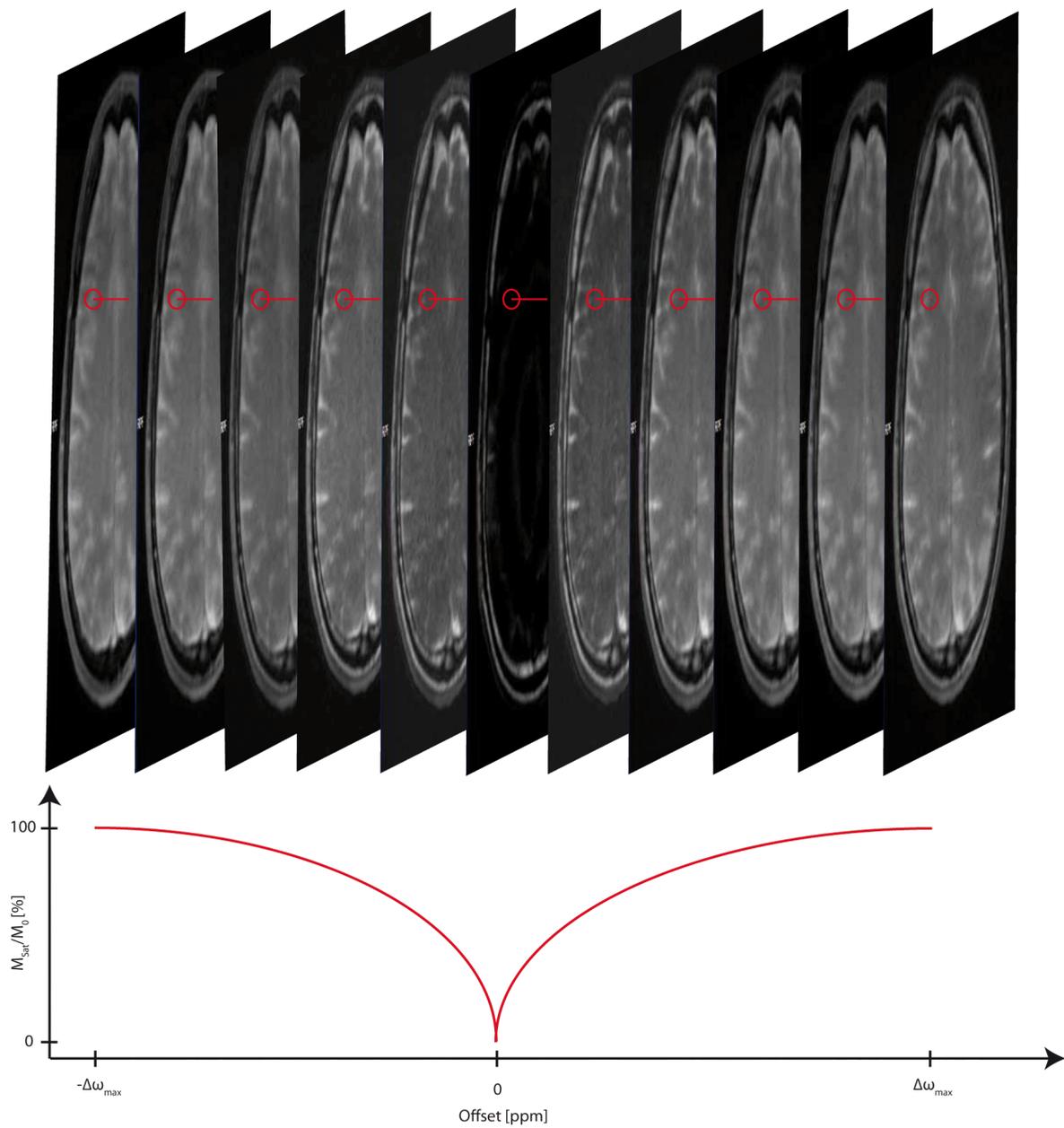


Abbildung 3.11: Schematische Darstellung der Analyse von CEST-Messungen auf Basis von Bilddaten. Durch Auftragen von Intensitätswerten aus Bildpixeln gegen den Offset der Sättigungspulse vor Aufnahme eines Bilddatensatzes ergibt sich für jedes Pixel ein z-Spektrum.

Kapitel 4

Ergebnisse der physikalischen Methodenentwicklung

Im Rahmen der Methodenentwicklung wurde zum Einen eine Möglichkeit erarbeitet, um CEST-Pools mit der verfügbaren Hardware selektiv und effizient sättigen zu können, und zum Anderen das präparierte Signal freier Wasserprotonen im Anschluss schnell auslesen zu können.

4.1 Gepulste Sättigung

4.1.1 Theoretische Betrachtung der Frequenzselektivität

Zunächst wurden die Anregungsspektren von Folgen verschiedener Pulsformen (Sinc-, Rechteck- und Gauß-Pulse) simuliert (FFT der Zeitdarstellung von Pulsfolgen). Speziellere HF-Pulsformen mit optimierter Frequenzselektivität (BURP [Geen and Freeman 2001], Shinnar-Le-Roux [Shinnar et al. 1989; Pauly et al. 1991]) wurden für die Entwicklung von Pulsfolgen für selektive Sättigung nicht beachtet, da sie komplizierte, wenig selektive Anregungsspektren liefern.

Die Simulationen ergaben, dass Folgen von Gauß-Pulsen im Frequenzraum ein günstiges Verhältnis von Amplitude zu Bandbreite besitzen. Die Amplitude eines Gauß-Pulses im rotierenden Koordinatensystem mit 99,7 % der Fläche, also 3σ innerhalb τ_P ($\Rightarrow \sigma = \tau_P/6$), ist gegeben durch:

$$B_1(t) = \frac{A}{\sqrt{2\pi} \cdot \sigma} \cdot e^{-\frac{(t-t_0)^2}{2\sigma^2}} \quad (4.1)$$

Werden diese Pulse mit der Periode $T = \tau_P + \tau_D$ wiederholt, erhält man die Koeffizienten c_k der Fourierreihe $f(t) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} c_k e^{ik\omega_P t}$ (Gl. (3.1)) für die Pulswiederholfrequenz $\omega_P = 2\pi/T$:

$$c_k = -\frac{A}{2T} \cdot e^{-it_0\omega_P k - \frac{1}{2}\sigma^2(\omega_P k)^2} \cdot \left[\operatorname{erf}\left(\frac{-T - 2t_0 + 2i\omega_P k \sigma^2}{\sqrt{8} \cdot \sigma}\right) - \operatorname{erf}\left(\frac{T - 2t_0 + 2i\omega_P k \sigma^2}{\sqrt{8} \cdot \sigma}\right) \right] \quad (4.2)$$

Die Fouriertransformation der Reihe ist gegeben in Gl. (3.2). Für den Fall $\tau_P = \tau_D$, also einem Duty-Cycle des HF-Verstärkers $\eta = 50\%$ vereinfacht sich Gl. (4.2), so dass die Einhüllende der Dirac-Funktionen in der Frequenzdomäne eine Gauß-Kurve ist, die der Fouriertransformierten von $B_1(t)$ mit einer durch T gewichteten Amplitude entspricht

$$B_1(\omega) = \frac{A}{T} \cdot e^{-\sigma^2 \omega^2}. \quad (4.3)$$

Somit werden 99,7 % der Leistung von $B_1(\omega)$ im Bereich $\pm 3/\sigma$ um die Trägerfrequenz des Pulses verteilt. Für $\tau_P \neq \tau_D$ nimmt die Einhüllende eine komplexere Form mit einer geringeren Frequenzselektivität an.

4.1.2 Experimentelle Evaluation der Frequenzselektivität

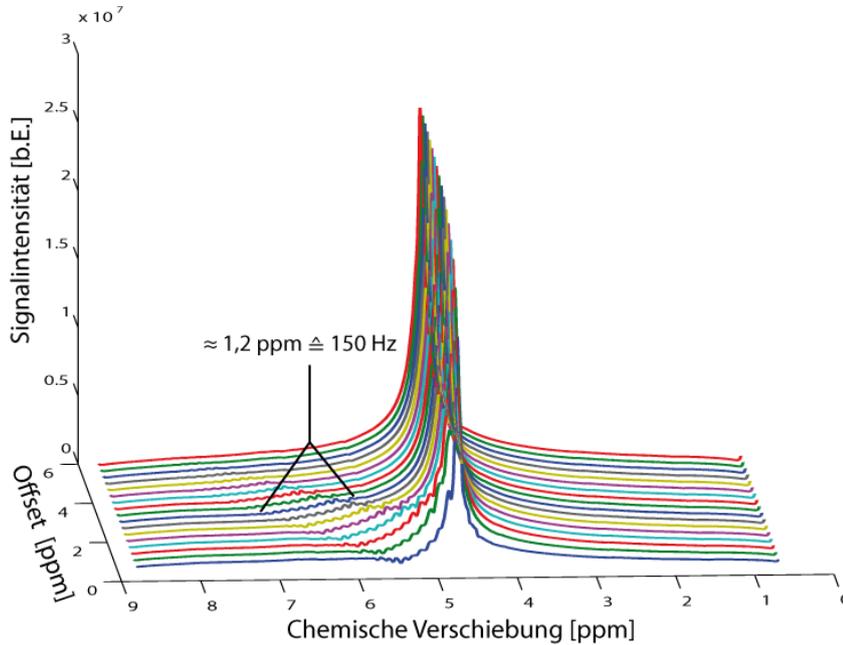


Abbildung 4.1: ^1H -NMR-Spektren von wässriger BSA-Lösung gemessen bei $B_0 = 3\text{ T}$ mit einer FID-Sequenz ($TR = 8\text{ s}$, $NEX = 2$, $BW = 1,2\text{ kHz}$) nach gepulster off-resonanter Sättigung. Die Sättigungspulsfolge bestand aus 20 gaußförmigen HF-Pulsen mit $\tau_P = \tau_D = 40\text{ ms}$ und $B_1 = 3\text{ }\mu\text{T}$. Die Signalauslöschungen im makromolekularen Untergrund haben eine Form, die der Verteilung der HF-Leistung im Frequenzraum entspricht. Sie sind verteilt über eine spektrale Breite von $\approx 150\text{ Hz}$, was der theoretischen Vorhersage für die Bandbreite des Pulszuges ($1/\sigma = 1/\tau_P = 150\text{ s}^{-1}$) entspricht.

^1H -NMR-Spektren von BSA-Lösung gemessen bei $B_0 = 3\text{ T}$ zeigten keine scharf abgrenzbaren Resonanzsignale. Stattdessen war ein diffuses, breites makromolekulares Signal verteilt um die Wasserresonanz zu finden, das den Charakter einer Anhebung des Nullniveaus besaß und somit den Erwartungen entspricht [Behar and Ogino 1993; Seeger et al. 2003]. Nach off-resonanter Sättigung von BSA-Lösung zeigten sich in dem makromolekularen Signal charakteristische Auslöschungen, deren Muster der spektralen Dichtefunktion der sättigenden Pulsfolgen im Frequenzraum entsprach. Die Auslöschungen waren verteilt um die Offsetfrequenz der Sättigungspulse und hatten eine Bandbreite von $\approx 6/\tau_P$ für Pulsfolgen mit $\eta = 50\%$ (Abb. 4.1).

Im Anschluss an die theoretischen Betrachtungen, die zeigten, dass Pulsfolgen mit ausgeglichenem Duty-Cycle und großer Pulsdauer die besten Voraussetzungen für eine hohe Selektivität der Sättigung besitzen, wurden Messungen an Kreatinlösung durchgeführt. Um die Sättigungseffizienz beurteilen zu können, wurde zunächst die volle Halbwertsbreite nacheinander gemessener z-Spektren untersucht, die durch Pulsfolgen mit $\eta = 50\%$ und unterschiedlicher Periode erzeugt wurden. Zur Signalauslese wurde dabei die FID-Sequenz benutzt. Direkte Sättigung der Wasserresonanz mit Bandbreiten, die die eigentliche Linienbreite überstiegen, führte zu einer Verzerrung der residualen Wasserlinie, die dementsprechende schwieriger zu quantifizieren war als im Falle einer diskreten Linienform. Diese Schwierigkeiten spiegeln sich in hohen Schwankungen der Messwerte für die Breite von z-Spektren wider, die durch Pulsfolgen mit hoher Sättigungsbandbreite erzeugt wurden.

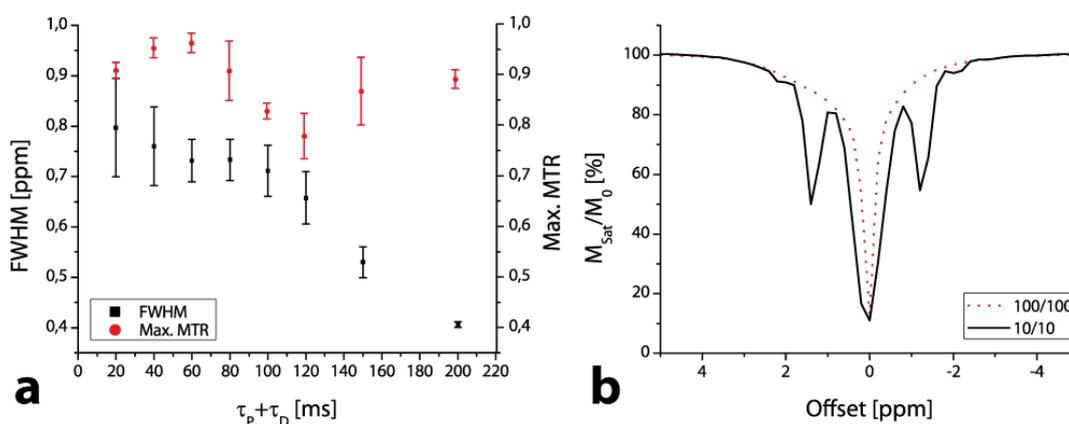


Abbildung 4.2: (a) Maximale Magnetisierungstransferrate (*MTR*) in z-Spektren und volle Halbwertsbreite (*FWHM*) der z-Spektren als Funktion der Periode $\tau_P + \tau_D$ der Pulsfolge. Die maximale *MTR* wird bei direkter Sättigung der Wasserresonanz (bei Offset = 0) erreicht und zeigt keine signifikante Abhängigkeit von der Periode. *FWHM* wird hingegen kleiner für längere Perioden. (b) Beispielhafte z-Spektren für die minimale und maximale Periode. Die Nebenminima, die bei der kurzen Periode (schwarze Kurve) auftauchen, sind bei der längsten Periode mit $\tau_P = \tau_D = 100\text{ ms}$ (rot-gepunktete Kurve) komplett verschwunden. Messungen wurden bei $B_0 = 3\text{ T}$ an Kreatinlösung (50 mmol/L) durchgeführt. Signalakquisition nach Sättigung mit Pulsfolgen von 2 s Dauer, $\eta = 50\%$ und $B_1 = 1\text{ }\mu\text{T}$ erfolgte mit einer FID-Sequenz ($TR = 8\text{ s}$).

Ein Anstieg der Periode T der Pulsfolge und somit eine Verringerung der Anregungsbandbreite führte zu einer besseren Quantifizierbarkeit von z-Spektren und es zeigte sich eine deutliche Abnahme der vollen Halbwertsbreite (*FWHM* für FULL WIDTH AT HALF MINIMUM) der z-Spektren hin zur maximal möglichen Periode $T = 200\text{ ms}$ (Abb. 4.2a). Die gleichzeitig be-

trachtete, maximale MTR der z -Spektren, die ein Maß für die direkte Sättigung der Resonanz von Wasserprotonen ist, blieb dabei nahezu unverändert. Für Pulsfolgen mit hohen Bandbreiten traten z.T. weitere deutliche Minima neben dem Minimum bei maximaler resonanter Sättigung der Wasserresonanz in z -Spektren auf (Abb. 4.2b). Für Pulsfolgen mit kleinen Bandbreiten sind diese Substrukturen vollständig verschwunden.

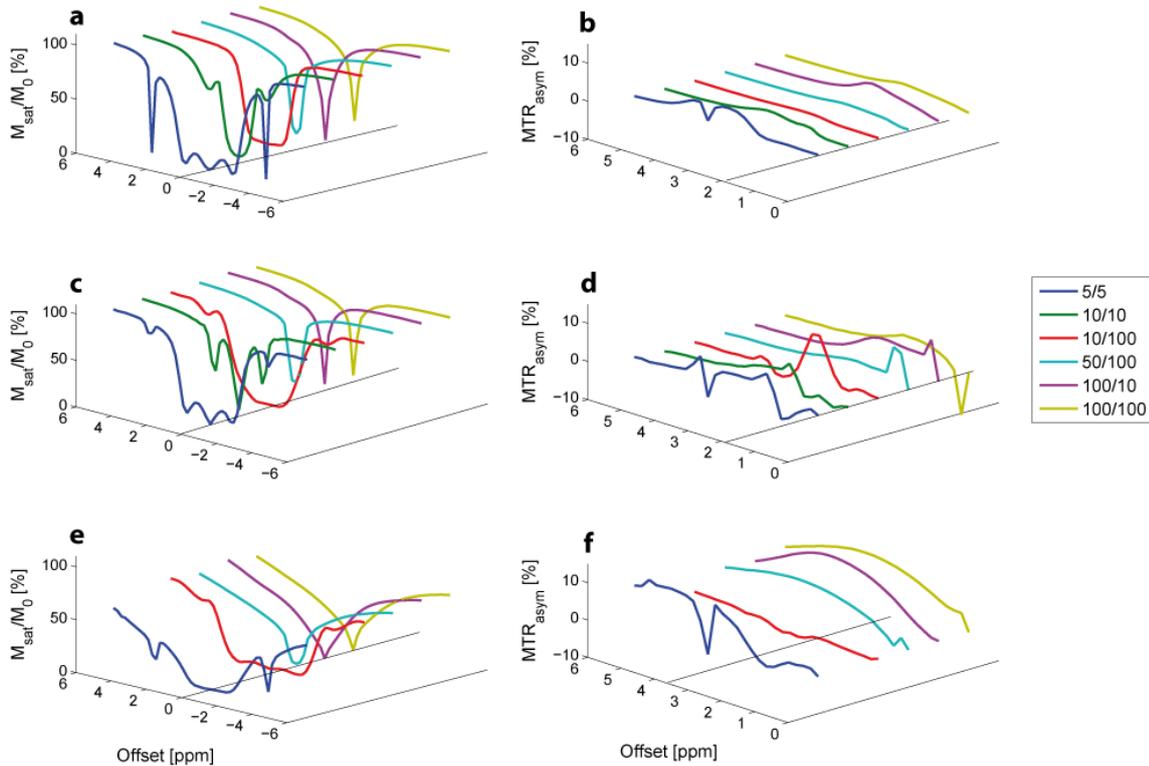


Abbildung 4.3: Experimentelle z -Spektren und Asymmetrieanalysen von Kreatinlösung (50 mmol/L, pH=7,4) für unterschiedliche Duty-Cycles der Sättigungspulsfolge (a,b). Mit den gleichen Sättigungsparametern für Kreatinlösung simulierte Kurven (c,d) und gemessene Daten von pasteurisierter Eiweißlösung (e,f). Die Legende zeigt die jeweilige, zur Sättigung benutzte Kombination von τ_P/τ_D (in ms). Die Grafiken zeigen, dass die FWHM für wachsende Pulsdauer abnimmt. In z -Spektren, die mit kurzen Sättigungspulsen erzeugt wurden, sind Substrukturen zu erkennen, wobei eine gute Übereinstimmung zwischen allen drei Datensätzen besteht. Die Auswertung der Asymmetrie ist aufgrund der guten Auflösung des Maximums bei Pulsfolgen mit $\tau_P = 100$ ms am besten möglich. Alle Messungen und Simulationen wurden bei $B_0 = 3$ T und mit $B_1 = 1$ μ T durchgeführt.

Mit weiteren Kombinationen von τ_P , τ_D und η wurden Messungen an Kreatin- (Abb. 4.3a,b) und Eiweißlösung (Abb. 4.3e,f) durchgeführt, um z -Spektren zu vergleichen. Dafür wurde eine konstante Sättigungsdauer t_{sat} von 2 s gewählt und dementsprechend die jeweilige Anzahl der Sättigungspulse pro Folge variiert. Zusätzlich wurden für Kreatinlösung nach Bestimmung der Relaxationszeiten der verschiedenen Pools Simulationen zur zeitlichen Entwicklung der Magnetisierung des Pools der freien Wasserprotonen durchgeführt (Abb. 4.3c,d) und mit den experimentellen Ergebnissen verglichen. Die gemessenen Relaxationszeiten und Simulationsparameter sind in Tab. 4.1 zusammengefasst.

Tabelle 4.1: Gemessene Relaxationszeiten sowie Parameter für die Simulation der Evolution der Magnetisierung auf Grundlage eines 2-Pool-Modells für Kreatinlösung (pH 7,4) mit Magnevist bei $B_0 = 3$ T. Für Kreatin wurden die Relaxationszeiten der CH_3 -Protonen bei $\Delta\omega = -1,7$ ppm bestimmt, da die Resonanz der Amidprotonen bei $\Delta\omega = 1,9$ ppm nicht direkt messbar ist. Werte für den relativen Protonenanteil im Verhältnis zu den Protonen des freien Wasser f und der Austauschrate k sind aus [Sun et al. 2007a] entnommen.

Pool	Messwerte		Parameter für Simulation				
	T_1 [ms]	T_2 [ms]	T_1 [ms]	T_2 [ms]	$\Delta\omega$ [ppm]	f	k [Hz]
Freies Wasser	474 ± 6	226 ± 21	450	220	0	1	0,25
Kreatin	357 ± 51	230 ± 105	1000	15	1,9	1:500	125

Es konnte eine qualitativ hohe Übereinstimmung zwischen simulierten und gemessenen Daten erzielt werden. Abb. 4.4 zeigt den Vergleich zwischen einem gemessenen und einem simulierten z -Spektrum mit einer großen Ähnlichkeit hinsichtlich der Ausprägung von Substrukturen. Die Untersuchungen ergaben weiterhin, dass die maximale MTR -Asymmetrie und die FWHM der z -Spektren für Werte von $\eta > 50$ % bei konstanten mittleren B_1 zunahmen. Für niedrigere Duty-Cycles verringerte sich die maximale Asymmetrie, aber die volle Halbwertsbreite nahm zu. Die kleinste FWHM wurde durch Pulszüge mit $\tau_P = \tau_D = 100$ ms erzielt; der gemessene Wert von $0,406 \pm 0,005$ ppm (Mittelwert \pm Standardabweichung) war signifikant kleiner ($P < 0,005$) als die bei anderen Duty-Cycles bestimmten Werte.

Trotz der guten Übereinstimmung zwischen gemessenen und simulierten z -Spektren wurden zwei wichtige Faktoren gefunden, die Abweichungen zwischen Simulation und Experiment potenziell beeinflussen: Der tatsächliche Grad des Spoilings nach jedem Sättigungspuls war im Experiment nur schwierig einzuschätzen. In den Pulsfolgen wurden nach jedem Sättigungspuls Spoilergradienten von 5 ms Dauer auf allen drei Raumachsen appliziert. Die Amplituden und Polaritäten der Gradienten wurden dabei nach jedem Puls für maximal 15 Pulse so variiert, dass die Wahrscheinlichkeit minimiert war, Echopfade durch die Abfolge der Gradienten zu refokussieren und so ein Signal zu erzeugen. Ab dem fünfzehnten Puls war keine weitere Variation implementiert und die Gradienten wurden wiederholt mit der maximal verfügbaren Amplitude und gleicher Polarität in x - y - und z -Richtung appliziert. Bei $t_{sat} = 2$ s wurden einige Pulsfolgen untersucht, die aus mehr als 15 Sättigungspulsen bestanden. Mit einem Spoiling-Parameter konnte die residuale Transversalmagnetisierung nach jedem Sättigungspuls auf 0 (vollständige Dephasierung) bis 100 % ihrer eigentlichen Intensität angepasst werden. Besonders für Pulsfolgen mit vielen Pulsen war die Wahl des Spoilingparameters schwieriger, um hohe Übereinstimmung zwischen Simulation und Experiment zu erhalten. Für Folgen mit ≤ 15 Pulsen wurden gute Übereinstimmungen für vollständige Dephasierung beobachtet.

Ein weiterer Faktor, der zu Abweichungen zwischen simulierten und gemessenen Daten führte, war das mittlere B_1 der Pulsfolge. Während in der Simulation angenommen wird, dass das eingestrahlte B_1 nicht verlustbehaftet ist, ist die B_1 -Verteilung im Tomographen räumlich nicht völlig homogen, was zu ortsabhängigen Signalvariationen führt. Bei unlokalisierter Spektroskopie wird das Signal aus einem Volumen akquiriert und dadurch werden sämtliche Inhomogenitäten des

HF-Feldes und des statischen Magnetfelds gemischt. B_1 machte sich beim Vergleich von gemessenen und simulierten z-Spektren vor allem in der Ausprägung von Substrukturen bemerkbar, wobei der Einfluss mit wachsender Pulsdauer in der Pulsfolge abnahm.

4.1.3 Experimentelle Evaluation der Sättigungseffizienz

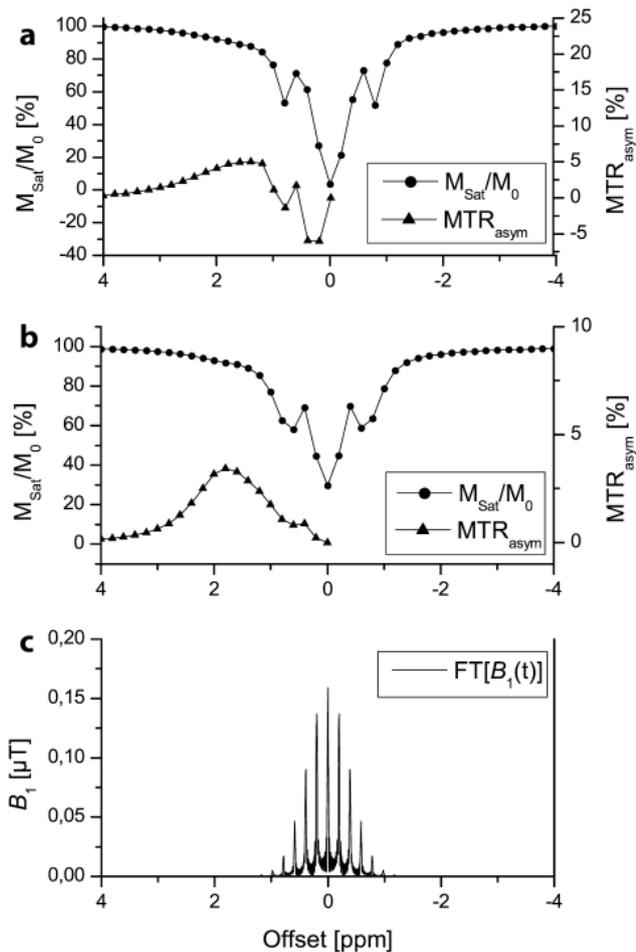


Abbildung 4.4: (a) Gemessene und (b) simulierte z-Spektren von wässriger Kreatinlösung (50 mmol/L, pH 7,4). Sättigung erfolgte mit einer Folge von 50 gaußförmigen Pulsen mit $B_1 = 1 \mu\text{T}$ und $\tau_P = \tau_D = 20 \text{ ms}$. Die spektrale Leistungsdichte dieses Pulszuges ist in (c) dargestellt. Die z-Spektren zeigen in Bezug auf Substrukturen und FWHM eine qualitativ hohe Übereinstimmung.

Spektren, die bei $B_0 = 3 \text{ T}$ gemessen wurden, zeigten sich z.T. starke Schwankungen der Asymmetrieanalyse im Offsetbereich $0 - 0,5 \text{ ppm}$, die wahrscheinlich durch Ungenauigkeiten bei der Quantifizierung des Wassersignals nach dessen direkter Sättigung entstanden (Abschnitt 3.6.1).

Neben der Untersuchung der Frequenzselektivität von Pulsfolgen zur Sättigung, wurde eine experimentelle Abschätzung von deren Effizienz durchgeführt. Dabei wurde betrachtet, wie gut mit Pulsfolgen und den entsprechenden Einstellungen messbare CEST-Effekte erzeugt werden konnten. Faktoren dieser Betrachtung sind die Zeit, die zur Präparation aufgewendet werden muss, und die Möglichkeit, CEST-Effekte durch Asymmetrieanalyse aus den z-Spektren zu extrahieren.

Wie in Abschnitt 2.4.5 bereits beschrieben, ist bekannt, dass für die Sättigung eines CEST-Pools ein optimales B_1 berechnet werden kann, wobei die Herleitung auf CW-Sättigung beruht. Auch wenn für gepulste Sättigung ein CW-Leistungsäquivalent angegeben wird, so ist eine tatsächliche Äquivalenz mit CW-Sättigung unwahrscheinlich, da z.B. Relaxationseffekte während τ_D vernachlässigt werden, und eine Abschätzung des optimalen B_1 *a priori* damit schwierig ist.

Nachdem theoretisch und experimentell gezeigt wurde, dass mit $\tau_P = \tau_D = 100 \text{ ms}$ selektiv angeregt werden kann, wurden mit dieser Puls/Pause-Kombination Messungen an Modelllösungen durchgeführt, um den Einfluss von verschiedenen Einstellungen von B_1 , B_0 und t_{sat} auf CEST-Effekte zu untersuchen. Bei der Asymmetrieanalyse von z-

Dieser spektrale Bereich wurde daher in den Asymmetrieauswertungen nicht berücksichtigt. Außerdem war bei $B_0 = 3$ T keine scharfe Abgrenzung zwischen direkter Wassersättigung und CEST-Effekten von Amidprotonen möglich, da der Peak bei 1,9 ppm nicht ausreichend auflösen war. Die Überlagerung von CEST-Effekten mit direkter Wassersättigung nahm mit steigender Sättigungsleistung erwartungsgemäß zu. Die maximale Asymmetrie der z-Spektren konnte durch Erhöhung der Sättigungsleistung bis $B_1 = 1$ T gesteigert werden, nahm aber für höhere Leistungen wieder ab (Abb. 4.5a,b).

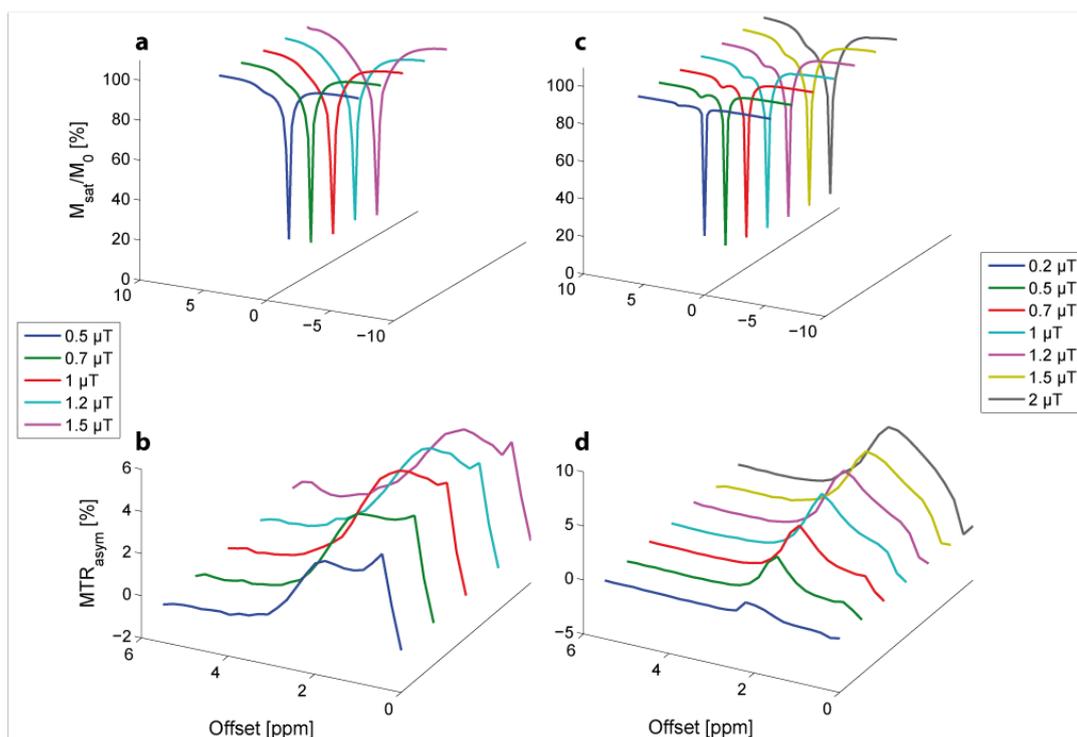


Abbildung 4.5: Experimentelle z-Spektren und MTR_{asym} -Kurven von Kreatinlösung (50 mmol/L, pH = 7,4) gemessen bei $B_0 = 3$ T (a,b) und 7 T (c,d). Die maximale MTR_{asym} ist bei 3 T geringer als bei 7 T und wird bei einem Offset erreicht, der geringer ist als der Offset der labilen Amidprotonen. Bei 7 T nimmt lediglich die Breite der Asymmetrieeffekte zu, während eine Verschiebung des Maximums in Richtung der Wasserresonanz vernachlässigbar ist. Sättigung erfolgte mit einer Zug von 10 Pulsen mit $\tau_P = \tau_D = 100$ ms und Signalauslese mit einer FID-Sequenz ($TR = 8$ s).

Bei $B_0 = 7$ T zeigte die Asymmetrieanalyse für $B_1 \leq 0,7$ T einen gut aufgelösten Peak bei $\Delta\omega = 1,85$ ppm, was der Resonanzfrequenz der Amidprotonen von Kreatin entspricht. Diese Abgrenzbarkeit nahm jedoch für höhere Sättigungsleistungen ab, da Effekte der direkten Sättigung stärker überlagerten. Dennoch wurde eine Zunahme der maximalen Asymmetrie mit steigendem B_1 beobachtet, wobei im Gegensatz zu den Messungen bei $B_0 = 3$ T kein Wendepunkt in der maximalen Asymmetrie bei den untersuchten Werten von B_1 erreicht wurde. Zwischen $B_1 = 1$ µT und dem maximal einstellbaren Wert von 2 µT war lediglich ein Abflachen der Asymmetriezunahme zu erkennen (Abb. 4.5c,d). Aufgrund von Hardware-Einschränkungen konnten am 3-T- und 7-T-Tomographen keine höhere Sättigungsleistungen als die hier gezeigten eingestrahlt werden. Trotzdem stimmt der gemessene Verlauf der maximalen Asymmetrie als Funktion von B_1 gut mit den Erwartungen überein [Sun et al. 2005].

Neben den Auswirkungen verschiedener B_1 auf Asymmetrie und Spillover gibt der Vergleich von Abb. 4.5b mit Abb. 4.5d Hinweise auf den Einfluss des statischen Magnetfeldes auf die maximalen CEST-Effekte. Messungen an Kreatinlösung bei drei verschiedenen Feldstärken zeigten deutlich, dass bei gleicher Sättigungsleistung mit zunehmendem B_0 größere Asymmetrien erzeugt werden können (Abb. 4.6). Die T_1 -Relaxationszeiten der Wasserresonanz nahmen von $T_1 = 403 \pm 52$ ms bei $B_0 = 1,5$ T über $T_1 = 474 \pm 6$ ms bei $B_0 = 3$ T bis $T_1 = 493 \pm 36$ ms bei $B_0 = 7$ T zu.

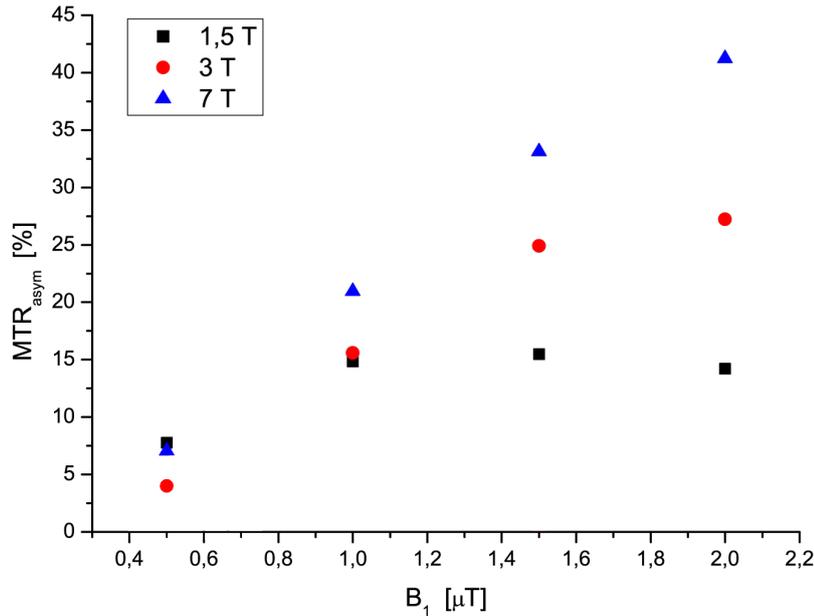


Abbildung 4.6: Einfluss des statischen Magnetfeldes auf die maximale Asymmetrie, die bei gleichen Sättigungsleistungen in Kreatinlösung (100 mmol/L, pH 7,4) erzeugt werden kann. Sättigung wurde induziert durch Pulsfolgen mit $n = 10$, $\tau_P = \tau_D = 100$ ms. Signalakquisition erfolgte mit einer FID-Sequenz und $TR = 20$ s, um zu gewährleisten, dass bei jeder Feldstärke vor Akquisition voll ausrelaxierte Spinsysteme (Bedingung $TR \geq 5 \cdot T_1$) vorhanden sind.

Die Zeit, die zur Sättigung aufgewendet werden muss, um detektierbare CEST-Effekte zu generieren, wurde an verschiedenen Modellsystemen getestet. Ein eindeutiger Schluss kann aus den Ergebnissen jedoch nicht gezogen werden, da die Wahl von t_{sat} nach zwei Kriterien erfolgen kann: (1) Möglichst maximaler Effekt oder (2) in möglichst kurzer Zeit ein lediglich messbarer Effekt. Bei Messungen an Kreatinlösung bei $B_0 = 3$ T zeigte sich, dass der maximale Effekt durch Erhöhung von $t_{sat} = 400$ ms bis $t_{sat} = 2000$ ms kontinuierlich gesteigert werden konnte, für größere Werte von t_{sat} jedoch keine Zunahme mehr zu erkennen war. In der Lösung wurde $T_1 = 474 \pm 6$ ms für die Resonanz der Wasserprotonen bestimmt.

Zu dieser Beobachtung kann folgende Überlegung angestellt werden: Nimmt man an, dass die Magnetisierung (M_{zG}) des Pools der labil gebundenen Protonen (Pool G) sofort nach Beginn der Sättigung zum Zeitpunkt t_0 einen Gleichgewichtszustand (GG) erreicht ($m_{zG}^{GG} = M_{zG}^{GG} - M_{0G}$), dann kann die zeitliche Entwicklung der Magnetisierung des Pools der Wasserprotonen (Pool W) beschrieben werden:

$$\frac{dm_{zW}}{dt} = -r_{1W}m_{zW} + k_{GW}m_{zG}^{GG}; \quad (4.4)$$

mit $m_{zW} = M_{zW} - M_{0W}$. Wenn nun $M_{zW}(t_0) = M_{0W}$, dann ist $m_{zW}(t_0) = 0$ und man erhält folgende Lösung von Gl. (4.4):

$$m_{zW}(t) = \frac{k_{GW}m_{zG}^{GG}}{r_{1W}} \left(1 - e^{-r_{1W}(t-t_0)}\right) \quad (4.5)$$

Pool W nähert sich also einem Gleichgewicht mit einer Ratenkonstante $r_{1W} = R_{1W} + k_{WS}$ an, die die Ursachen für Verlust von Sättigung – T_1 -Relaxation und Rückaustausch gesättigter Protonen – berücksichtigt. Da der Rückaustausch klein gg. T_1 ist, geschieht die Annäherung von m_{zW} an m_{zW}^{GG} unter HF-Einstrahlung in einer Zeit der Größenordnung von T_1 . Obwohl bei diesen Überlegungen CW-Sättigung angenommen wurde [Zhou and van Zijl 2006], ist es aufgrund der erzielten Ergebnisse wahrscheinlich, dass r_{1W} für gepulste Sättigung in der gleichen Größenordnung liegt.

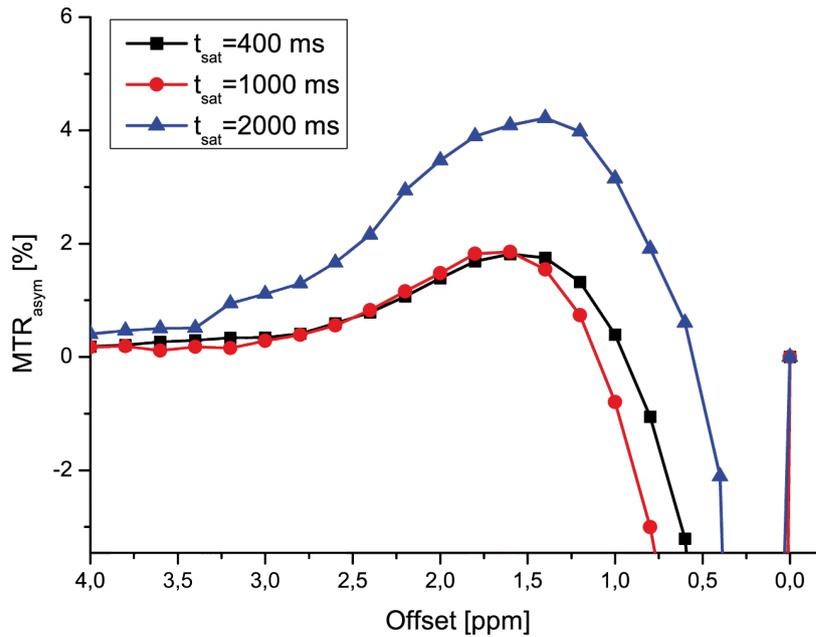


Abbildung 4.7: Asymmetriekurven von Kreatinlösung (50 mmol/L, pH 7,4) für drei verschiedene t_{sat} , gemessen bei $B_0 = 3$ T. Während die maximalen Asymmetrien (bei $\approx 1,7$ ppm Offset) für 200 und 1000 ms Sättigungsdauer annähernd gleich sind, ist die Asymmetrie für 2000 ms deutlich größer. Eine weitere Steigerung der Sättigungspulsdauer führte zu keiner zusätzlichen Veränderung. T_1 der Wasserprotonen dieser Lösung war 474 ± 6 ms. Eine FID-Sequenz mit NEX = 2 und $TR = 8$ s wurde zur Signalakquisition verwendet. Sättigungseinstellungen: $\tau_P = \tau_D = 100$ ms, $B_1 = 1$ μ T.

4.2 Signalakquisition

Im vorherigen Abschnitt wurden bereits Ergebnisse von CEST-Messungen gezeigt, in denen Signal nach vorheriger Sättigung mit einer FID-Sequenz ausgelesen wurde. Dabei wird der Anregungspuls ($\tau_P = 5 \mu\text{s}$) unmittelbar nach dem letzten Spoilergradienten des Sättigungszuges appliziert und nach $200 \mu\text{s}$ Verzögerung der FID aufgenommen. Sättigungsverluste bis zur Signalakquisition durch T_1 -Relaxation von Wasserprotonen sind bei dieser Aufnahmetechnik also vernachlässigbar. Da der Anregungspuls einen Flipwinkel von 90° besitzt, wird zudem die verfügbare Longitudinalmagnetisierung vollständig zur Signalgenerierung genutzt und dementsprechend keine Sättigungsinformation „verschenkt“.

Soll gesättigte Magnetisierung mit Bildgebungstechniken ausgelesen werden, muss die Dauer, die für die Auslese eines Bildes benötigt wird, im Hinblick auf Verlust von Sättigung während der Signalakquisition beachtet werden. Die Bildgebungstechnik, die dem FID-Experiment am Nächsten kommt, ist EPI, da nach einem 90° -Anregungspuls das gesamte Signal für eine Schicht ausgelesen wird. In dieser Arbeit erfolgten die ersten Aufnahmen von CEST-Bildern daher mit einer EPI-Sequenz. Wie bei den Spektroskopieexperimenten wurden Folgen von n gaußförmigen Pulsen mit anschließenden Spoilergradienten in allen drei Raumrichtungen zur selektiven Sättigung von Resonanzen vor die Akquisition des eigentlichen Signals geschaltet. Das ungesättigte Referenzbild, das für die Normierung verwendet wurde, wurde als erstes Bild aufgenommen, danach die restlichen Bilder der Serie mit vorheriger Sättigung bei unterschiedlichen Offsets im Bereich $\pm\Delta\omega_{max}$. Zur Überprüfung, ob damit CEST-Kontraste orts aufgelöst dargestellt werden können, wurde das Mehrkammerphantom verwendet (vgl. Tab. 3.1). In Experimenten konnten mit dem erarbeiteten Sättigungsschema in Verbindung mit EPI-Auslese CEST-Bildkontraste erzeugt werden, die eine Unterscheidung der Kreatinlösungen auf Basis von pH-Differenzen $\leq 0,2$ ermöglichten (Abb. 4.8). Der Kontrast beruhte auf pixelweiser Auswertung der MTR_{asym} -Werte bei einem Offset von 1,6 ppm. Dabei waren die Unterschiede zwischen den mittleren Werten in den verschiedenen Kompartimenten signifikant ($P < 0,01$).

Neben den Vorteilen von EPI, wie z.B. dem niedrigen SAR und den vernachlässigbaren Verlusten von Sättigung aufgrund der Akquisitionsgeschwindigkeit für eine Schicht, bestehen auch zwei wichtige Nachteile bei der Verwendung für CEST-Bildgebung, nämlich die geringe räumliche Auflösung und den Verlust von Sättigung bei sequenzieller Aufnahme von mehreren Schichten. Die niedrige Auflösung resultiert aus der hohen Akquisitionsgeschwindigkeit, die nötig ist, um Effekte von Inhomogenitäten von B_0 und Suszeptibilitäten zu minimieren. Dazu muss die Bandbreite pro Pixel sehr hoch gewählt werden. Um ausreichend SNR pro Pixel zu erzeugen, müssen die Bildgebungsvoxel also sehr groß gewählt werden, was einer niedrigen räumlichen Auflösung entspricht. Der zweite Punkt zeigte sich bei Aufnahme mehrerer Schichten nach einer Sättigungspräparation. In Abb. 4.9a ist die Pulssequenz für CEST-EPI schematisch dargestellt. Es ist offensichtlich, dass die Longitudinalmagnetisierung bei sequenzieller Auslese von mehreren Schichten nach einmaliger Sättigung (Abb. 4.9b) für jede später gemessene Schicht durch T_1 -Relaxation kontinuierlich zunimmt. Dies führt zu einer Reduktion der verfügbaren MTR_{asym} , was die Vergleichbarkeit von CEST-Effekten zwischen Schichten mindert (Abb. 4.10). Ein Lösungsansatz besteht darin, vor jeder Schicht zu sättigen und zwischen einzelnen Akquisitionen ausreichend lange zu warten,

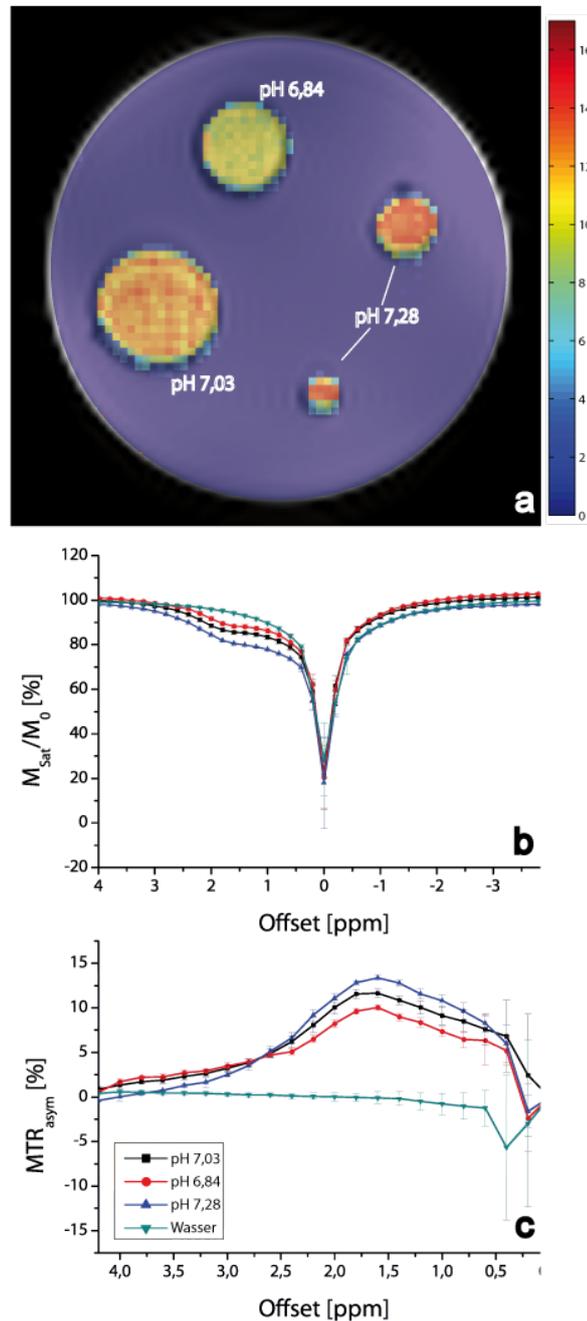


Abbildung 4.8: Untersuchung von CEST-Effekten in Kreatinlösung bei Signalakquisition in einer einzelnen Schicht mit EPI-Auslese bei $B_0 = 3$ T. (a) Grauwerte-Referenzbild überlagert mit farblich kodierten $MTR_{asym}(\Delta\omega = 1,6 \text{ ppm})$ -Werten der jeweiligen Pixel. (b) z-Spektren und (c) MTR_{asym} -Kurven von Kreatinlösung bei 3 verschiedenen pH-Werten und Phosphatpuffer. Für pH 7,28 ist nur eine Asymmetriekurve gezeigt, da die Kurvenverläufe in beiden Kammern mit diesem pH-Wert deckungsgleich waren. Die Asymmetriewerte der Kompartimente bei $\Delta\omega = 1,6 \text{ ppm}$ sind signifikant verschieden. In Kreatinlösung mit pH 7,28 ergibt sich eine maximale MTR_{asym} von 12,6 %. Die Pulsfolge zur Sättigung hatte die Parameter $n = 10$, $\tau_P = \tau_D = 100 \text{ ms}$ und $B_1 = 1 \mu\text{T}$. Die Bildauslese erfolgte mit einer EPI-Technik ($TR = 6 \text{ s}$, $TE = 21 \text{ ms}$, $NEX = 2$, Auflösung: $2,7 \times 2,7 \times 5 \text{ mm}^3$ und $BW = 2422 \text{ Hz/Px}$).

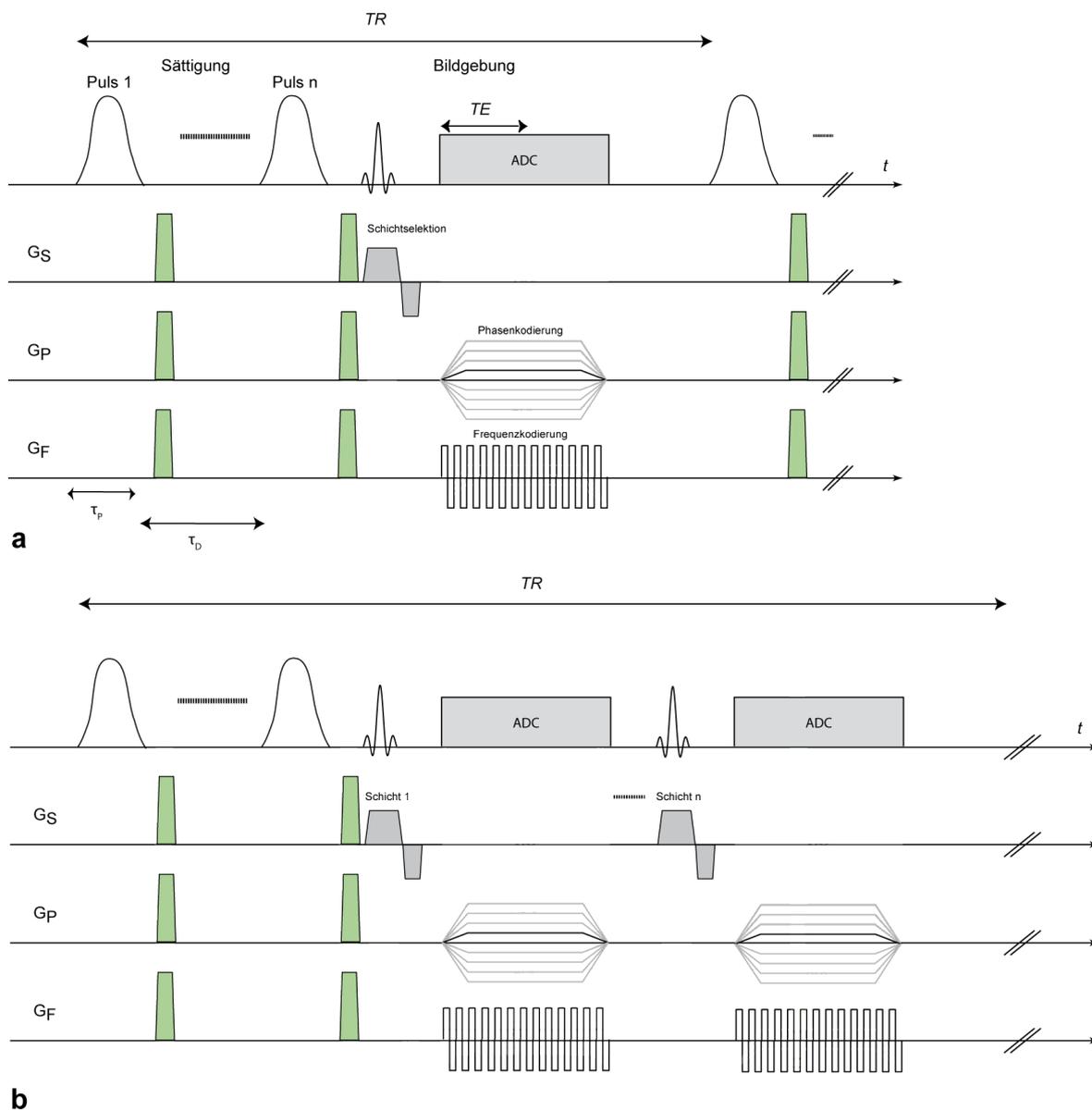


Abbildung 4.9: Schematische Darstellung der Pulssequenzen für eine CEST-Messung einer Schicht (a) und mehrerer Schichten (b) mit EPI. Werden mehrere Schichten nacheinander nach einmaliger Sättigung gemessen, bildet sich der Sättigungszustand mit jeder weiteren Schicht infolge T_1 -Relaxation zunehmend zurück.

um zu gewährleisten, dass die Longitudinalmagnetisierung der freien Wasserprotonen zu Beginn einer Sättigungsperiode stets den gleichen Wert angenommen hat. Die praktische Umsetzung ist jedoch schwierig, da dieses Vorgehen eine Verlängerung der Gesamtmessdauer bedingt, die für *In-vivo*-Experimente zu groß ist.

Nach den vielversprechenden Ergebnissen, die mit EPI in einzelnen Schichten erzielt wurden, war das nächste Ziel, eine Technik für eine Mehrschicht- oder volumetrische Methode zu entwi-

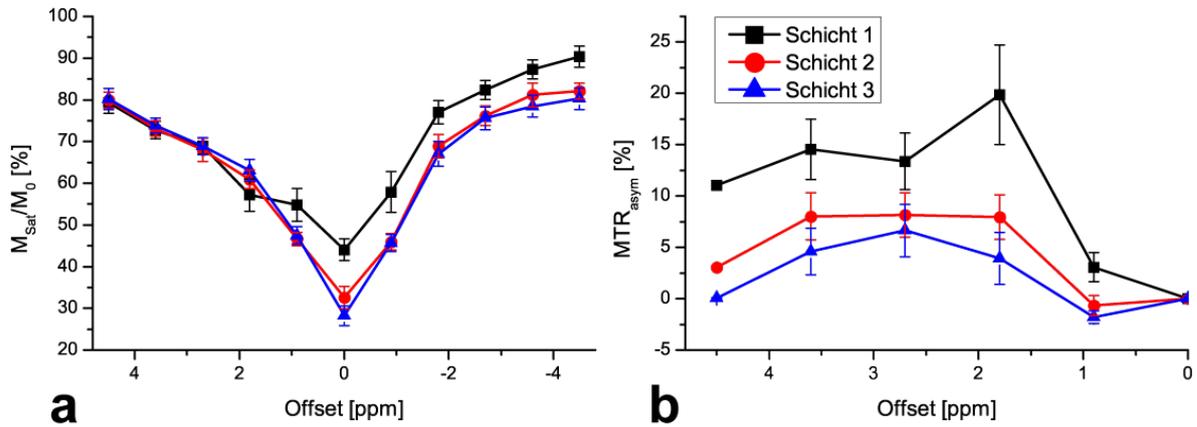


Abbildung 4.10: (a) z-Spektren und (b) MTR_{asym} von 3 sequenziell mit EPI aufgenommenen Schichten in nativem Eiweiß eines rohen Hühnereis. Der APT-Effekt im Offset-Bereich von 2,8–3,8 ppm nimmt mit steigendem Schichtindex infolge T_1 -Relaxation während der Aufnahme kontinuierlich ab. Sättigung: $n = 10$, $\tau_P = \tau_D = 100$ ms und $B_1 = 1,5$ μT . EPI: $TR = 6$ s, $TE = 21$ ms, NEX = 2, Auflösung: $1,9 \times 1,9 \times 5$ mm³ und BW = 1370 Hz/Px.

ckeln, um CEST-Effekte *in vivo* darstellen zu können. Die Entwicklung begann auf Basis einer Spoiled-FLASH-Methode mit dem Grundgedanken nicht nur das MR-Signal, sondern auch die Magnetisierungen von gesättigten Pools in Gleichgewichtszustände zu bringen und sie dort für die Aufnahmedauer eines Bilddatensatzes zu halten. Zur Aufrechterhaltung eines Sättigungsgleichgewichts wurde das Sättigungsschema zwischen die Segmente zur Bildaufnahme geschaltet.

Mittels FLASH wurden 3D-Datensätze mit Frequenzkodierung in x - und Phasenkodierung in y - und z -Richtung aufgenommen. Während der k -Raum in z -Richtung linear (von $-G_{S,max}$ bis $+G_{S,max}$) abgetastet wurde, wurde die Abtastung in y -Richtung mit der zentralen k -Raumzeile begonnen. Anschließend wurde der Index der angewählten Zeilen alternierend in positive und negative Richtung inkrementiert. Diese Art der k -Raumabtastung in einer Ebene wird als CENTRIC REORDERING bezeichnet und wurde ursprünglich entwickelt, um Bewegungs- und Flussartefakte in Bildern zu kompensieren [Luk Pat et al. 1997; Beck et al. 2001]. Kontrast und Qualität von MR-Bildern sind von Daten aus der Mitte des k -Raums (hohe Signalintensität der Echos) dominiert, während Daten aus den Randgebieten des k -Raums für Konturen im Bild kodieren. Es schien daher für CEST-Messungen sinnvoll, nach dem Einstrahlen von Sättigungspulsen vorrangig Daten aus der Zentralregion des k -Raums zu akquirieren. Um Bilder für einen Sättigungsoffset zu generieren, wurden im Anschluss an eine Sättigungspulsfolge alle k_x - und k_y -Daten für ein k_z akquiriert. Danach wurden die Sättigungspulse mit dem gleichen Offset erneut eingestrahlt und Daten für den nächsten Wert von k_z aufgenommen bis schließlich alle k -Werte für ein Volumen erfasst waren (Abb. 4.11). Die Bildgebungsparameter wurden so gewählt, dass die Aufnahmedauer für ein k_z -Segment möglichst kurz war, um den Einfluss von Sättigungsverlusten während der Signalakquisition zu minimieren. Eine Amplitudenmodulation des MR-Signals durch Wiederaufbau von Longitudinalmagnetisierung während der Bildauslese infolge T_1 -Relaxation würde ähnlich wie T_2^* -Zerfall bei EPI (Abschnitt 3.5.2.1) zu einer Verschmierung von Objekten im Bild führen. Um Einflüsse von Relaxationseffekten zusätzlich zu reduzieren, wurde ein Flipwinkel von

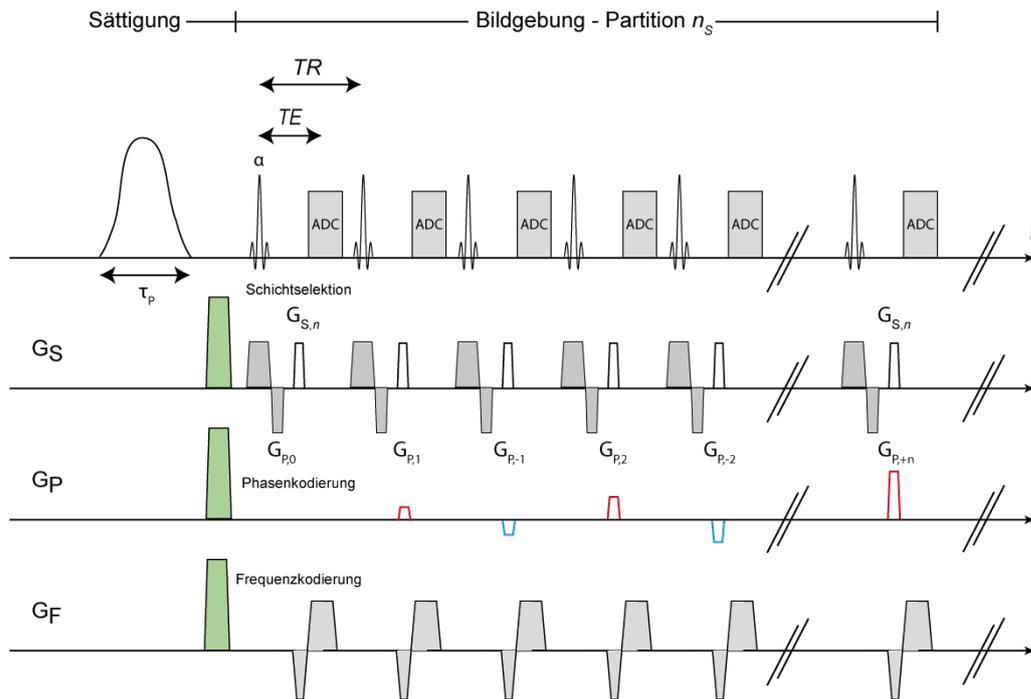


Abbildung 4.11: Schematische Darstellung der Pulssequenz für CEST-Messungen mit 3D-FLASH. Die Sättigungspulsfolge wird vor jeder Partition n_s einmal appliziert, danach werden alle k_x - und k_y -Werte mit zentrischer Sortierung in Phasenkodierichtung ausgelesen.

$\alpha = 10^\circ$ verwendet. Die relative Änderung des MR-Signals ist dadurch während der Akquisitionsperiode sehr gering, wodurch sich Signalmodulationen nur in geringem Maße bemerkbar machen können (Abb. 4.12).

Untersuchungen am Mehrkammerphantom mit dieser Technik lieferten gleichmäßige Asymmetriewerte im gesamten Volumen der jeweiligen Kammern; z.B. $(8,2 \pm 1,8) \%$ in Kreatin bei pH 7,28. Die mit FLASH gemessenen MTR_{asym} -Werte waren höher als die maximal mit EPI in einer vergleichbaren Schicht gemessenen Werte. Die räumlichen Auflösungen innerhalb einer Schicht unterschieden sich bei diesen Messungen nicht wesentlich (EPI: $1,3 \times 1,3 \text{ mm}^2$, FLASH: $1,4 \times 1,4 \text{ mm}^2$). Die Schichtdicken, die notwendig waren, um ähnliche SNR-Werte zu erzielen, unterschieden sich hingegen stark. Während bei EPI 5 mm notwendig waren, um $\text{SNR} \approx 15$ zu erzielen, lieferte das entsprechende FLASH-Bild bei 2,5 mm Schichtdicke $\text{SNR} \approx 22$. Signal wurde in beiden Bildern in ROIs mit gleicher Lokalisation und ähnlicher Größe gemessen.

Mit der FLASH-Technik wurden SNR-Werte erreicht, die vermuten ließen, dass stabile CEST-Bestimmungen auch bei höherer Auflösung in der Ebene als bei EPI durchführbar sind. Bei Messungen mit höherer Auflösung zeigte sich jedoch ein deutlicher Verlust von Asymmetrie, wenn eine Steigerung der Auflösung durch Erhöhung der Anzahl abgetasteter Zeilen bei gleichem FOV erfolgte. Die Werte blieben jedoch unverändert, wenn lediglich das FOV bei gleicher Zeilenanzahl reduziert wurde. Eine Erhöhung der Zeilenanzahl pro Partition führt zu einer Verlängerung der Auslesedauer, was den Zerfall von Sättigung durch T_1 -Relaxation begünstigt. Um diese Vermutung zu validieren, wurden verschiedene Verfahren getestet, die die Verkürzung der

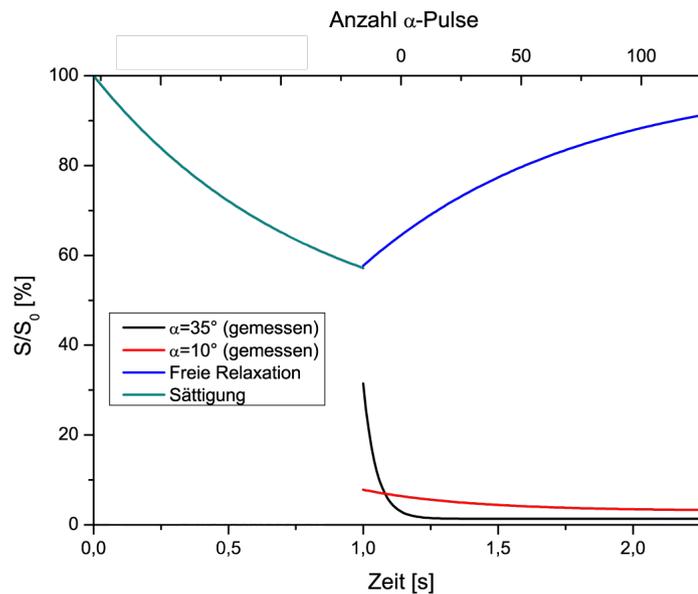


Abbildung 4.12: Schematischer Verlauf des verfügbaren bzw. gemessenen MR-Signals während Sättigung (türkis), anschließender FLASH-Bildgebung mit $\alpha = 10^\circ$ (rot) und $\alpha = 35^\circ$ (schwarz) sowie freier Relaxation (blau). Bei $\alpha = 10^\circ$ ist die relative Signaländerung während der Bildgebungsphase aufgrund der kleinen Amplitude nur gering, bei $\alpha = 35^\circ$ dagegen wesentlich größer. Dadurch tritt eine stärkere Gewichtung der durch Relaxation bedingten Sättigungsverluste im k -Raum auf, was zu Verzerrungen im späteren MR-Bild führt. Verwendete Simulationsparameter: $TR/T_1 = 0,01$, $TE/T_2^* = 0,24$, $t_{sat} = 1$ s, Auslese von 128 Zeilen.

Aufnahmezeit für eine Partition bei gleicher Auflösung ermöglichen. Zum Einen wurde ein paralleles Bildgebungsverfahren, nämlich GRAPPA [Griswold et al. 2002], und zum Anderen eine verkürzte Auslese von Echos eingesetzt [Haacke and Lee 1990]. Dabei zeigte sich, dass der Verlust von Asymmetrie kompensiert werden kann, wenn die Aufnahmedauer pro Partition auch bei Erhöhung der Zeilenanzahl konstant gehalten wird.

Die modifizierte FLASH-Sequenz wurde in CEST-Messungen bei verschiedenen medizinischen Fragestellungen getestet, was in Kapitel 5 näher beschrieben wird. Bei der Anwendung für CEST-Bildgebung im Knieknorpel bei $B_0 = 3$ T zeigte sich jedoch, dass es trotz einer hohen Auslesegeschwindigkeit nicht möglich war, stabile und gleichzeitig räumlich hochaufgelöste CEST-Kontraste zu erzeugen. Eine Auflösung $< 0,6 \times 0,6$ mm² ist jedoch notwendig, um Knorpelbeläge in Kniegelenken adäquat darstellen zu können. Da die minimale Größe des FOV in Phasenkodierrichtung durch die Objektgröße limitiert ist, kann eine Steigerung der Auflösung nur durch eine Erhöhung der Zeilenanzahl erreicht werden. Für die Akquisition von n Zeilen wird die Zeit $t_{Ak} = n \cdot TR$ benötigt. Bei asymmetrischer Auslese des Echos ($TE_{min} = 3,1$ ms) war das minimale $TR_{min} = 8,2$ ms. Für ein $FOV_{Phase} = 150$ mm, das mit 192 Zeilen entsprechend einer Auflösung in Phasenkodierrichtung von $0,78$ mm erfasst wird, ergibt sich $t_{Ak} = 1,57$ s. Dieser Wert liegt über T_1 von nativem Knorpelgewebe (Größenordnung von 1 s, [Trattning et al. 2007]) und man kann abschätzen, dass sich zum Ende der Bildakquisition ≈ 77 % der zu Beginn vorhandenen Sättigung zurückgebildet hat. Für eine Steigerung der Bildauflösung durch Aufnahme von 256 Zeilen würde sich der Zerfall gar auf ≈ 87 % erhöhen. Durch GRAPPA mit einem Beschleu-

nigungsfaktor $R = 2$ konnte die Anzahl der erforderlichen k -Raumzeilen auf $n/2 + n_{Ref}$ (n_{Ref} ist die Zahl der Referenzlinien für GRAPPA) reduziert werden. Mit $n_{Ref} = 24$ war $t_{Ak} < 1$ s. Da der k -Raum mit der modifizierten Sequenz zentrisch sortiert ausgelesen wird, machen sich Relaxationseffekte hauptsächlich in den äußeren k -Raumzeilen bemerkbar und führen somit vor allem zu Verschmierungen in Konturen, während die Signalintensität unbeeinflusst bleibt. Für die Knorpelbildung ist es jedoch von hauptsächlichem Interesse, die feinen Bildstrukturen gut darstellen zu können. Somit war es wichtig, abschätzen zu können, bis zu welcher maximalen Aufnahmedauer CEST-Effekte stabil gemessen werden können. Messungen ergaben, dass dies für $t_{Ak} \leq 1$ s noch der Fall war, während für längere Aufnahmezeiten keine reproduzierbaren Effekte mehr beobachtet wurden.

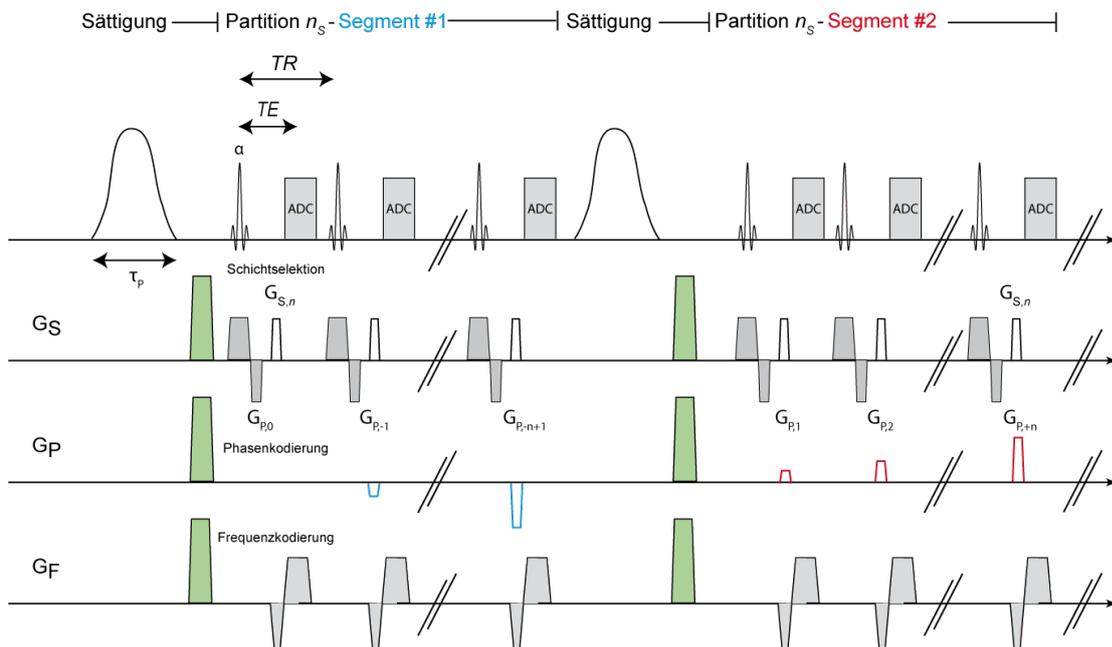


Abbildung 4.13: Schematische Darstellung der segmentierten Pulssequenz für CEST-Messungen mit 3D-FLASH. Jede Partition wird in eine beliebige Anzahl Segmente zerlegt (im Bildbeispiel 2 Segmente), die Sättigungspulsfolge wird vor jedem Segment wiederholt. Die Zeilen werden so aufgeteilt, dass in jedem Segment die gleiche Anzahl Zeilen zentrisch sortiert ausgelesen wird.

Um diese Einschränkung zu überwinden und die räumliche Auflösung weiter zu steigern, wurde die Auslese einer Partition in eine frei wählbare Anzahl an Abschnitten (Segmente) unterteilt, in denen die ausgelesenen Zeilen jeweils zentrisch sortiert waren. Zwischen Segmenten wurden Sättigungspulse appliziert. Da die Häufigkeit der Sättigung mit der Anzahl der Segmente ansteigt, wurde die Zahl der Pulse pro Sättigungsdurchlauf entsprechend reduziert. Durch die Segmentierung war es somit möglich, die Dauer der einzelnen Auslesezüge so anzupassen, dass Sättigungsverluste trotz hoher Auflösung vernachlässigbar wurden. Das Schema der Phasenkodierung für die segmentierte Auslese ist in Abb. 4.13 schematisch dargestellt.

Neben der FLASH-Technik wurde eine weitere Pulssequenz basierend auf TrueFISP erstellt. Der Gedanke dabei war, die hohe Signalintensität von bSSFP-Bildgebung auszunutzen, um CEST-

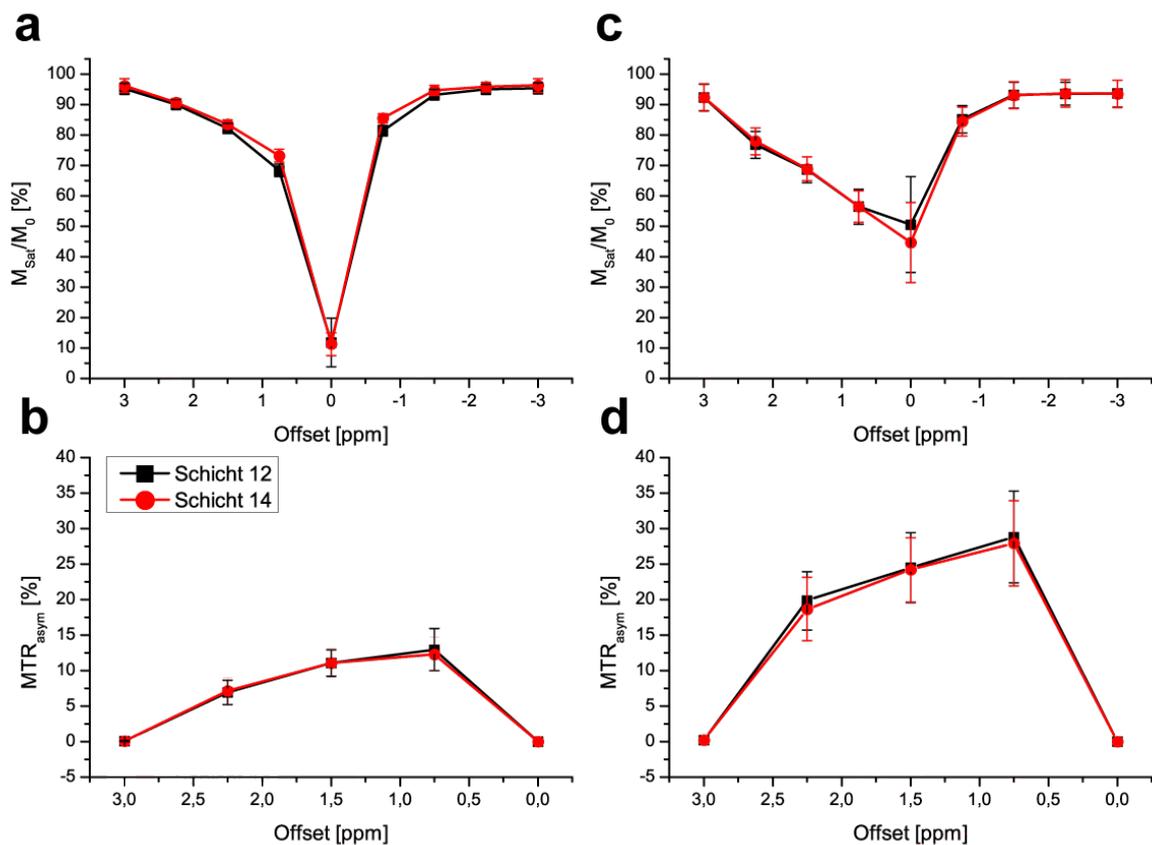


Abbildung 4.14: Vergleich von z-Spektren und Asymmetriekurven gemessen mit FLASH- (a,b) bzw. TrueFISP-Bildgebung (c,d) in Experimenten mit einer Enghalsflasche befüllt mit Kreatinlösung (50 mmol/L, pH 7,4) ohne Kontrastmittel. Kurven aus unterschiedlichen Schichten stimmen gut überein, was für eine homogene Signalerzeugung und -auslese spricht. Die Asymmetriewerte der TrueFISP-Sequenz (d) sind etwa um einen Faktor 3 größer als die mit FLASH gemessenen (b), obwohl der dynamische Bereich der z-Spektren bei TrueFISP geringer ist. Parameter der FLASH-Sequenz: $TR = 7,4$ ms, $TE = 2,08$ ms, $\alpha = 10^\circ$, Auflösung: $1,6 \times 1,6 \times 1,6$ mm³, BW = 180 Hz/Px und Sättigung: $n = 5$, $\tau_P = \tau_D = 100$ ms, $B_1 = 1$ μ T. TrueFISP: $TR = 4,7$ ms, $TE = 2,92$ ms, $\alpha = 20^\circ$, 19 Segmente, Auflösung: $1,1 \times 1,1 \times 1,1$ mm³, BW = 790 Hz/Px und Sättigung: $n = 2$, $\tau_P = 50$ ms, $\tau_D = 100$ ms, $B_1 = 1$ μ T.

Effekte in einem großen dynamischen Bereich detektieren zu können. Der dynamische Bereich ist die Differenz zwischen minimaler und maximaler Signalreduktion im z-Spektrum. Die minimale Signalreduktion wird bei $-\Delta\omega_{max}$ und die maximale bei on-resonanter ($\Delta\omega = 0$) Sättigung der Wasserresonanz gemessen, woraus der dynamische Bereich, in dem Signalreduktionen durch CEST-Effekte entstehen können, definiert wird als:

$$DB = \frac{M_{Sat}(-\Delta\omega_{max}) - M_{Sat}(\Delta\omega = 0)}{M_0} \quad (4.6)$$

Um CEST-Messungen mit bSSFP durchführen zu können, wurde zu einer vorhandenen segmen-

tierten 3D-TrueFISP-Pulssequenz die Option hinzugefügt, Sättigungspulse zwischen den Segmenten zu applizieren. Wie in Abschnitt 3.5.2.3 bereits beschrieben, eignet sich TrueFISP hervorragend zur Detektion von Informationen, die in longitudinaler Magnetisierung gespeichert sind. Gerade dieser Fall liegt bei CEST vor. Bei der vorhandenen Sequenz unterteilte die Segmentierung die lineare Abtastung der Partitionen in mehrere Segmente. Jedes Segment wurde dabei mit einem $\alpha/2$ -Puls begonnen und beendet, so dass am Ende jedes Segmentes lediglich eine longitudinale Magnetisierungskomponente vorhanden war. Durch die wiederholte Sättigung zwischen den Segmenten sollte gewährleistet werden, dass sich die Magnetisierung des gesättigten Pools während der gesamten Aufnahme eines 3D-Datensatzes im Gleichgewicht befindet.

Messungen mit der modifizierten TrueFISP-Sequenz an Kreatinlösung bei $B_0 = 3$ T zeigten eine

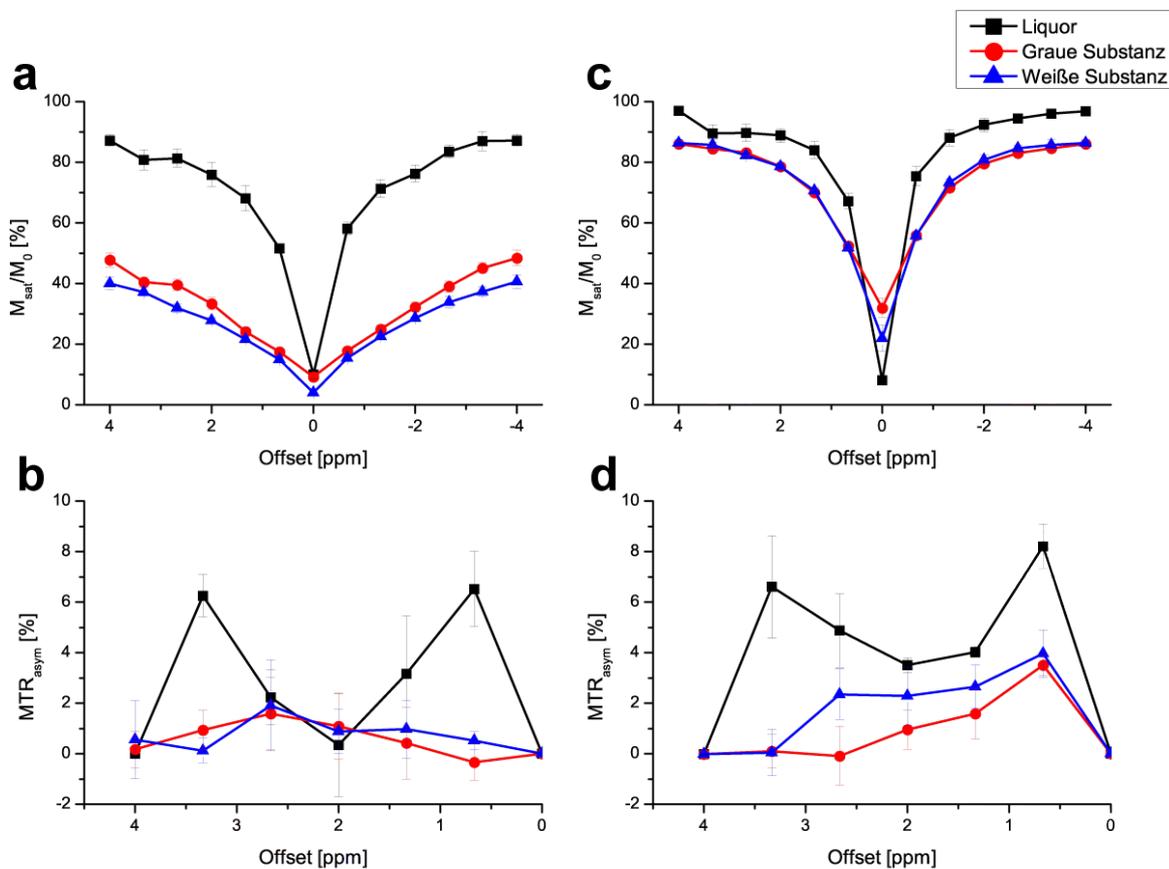


Abbildung 4.15: Vergleich von z-Spektren und MTR_{asym} -Werten gemessen mit FLASH- (a,b) bzw. TrueFISP-Bildgebung (c,d) im Gehirn eines gesunden Probanden. DB von z-Spektren ist bei TrueFISP größer. Die Asymmetriekurven von FLASH (b) zeigen unwesentlich niedrigere Werte, aber ähnliche Verläufe im Vergleich zu TrueFISP. Mit beiden Techniken sind deutliche Asymmetrie-Effekte im Liquor zu erkennen, aber keine deutlichen Unterschiede zwischen grauer und weißer Hirnsubstanz. Parameter der FLASH-Sequenz: $TR = 7,4$ ms, $TE = 2,91$ ms, $\alpha = 10^\circ$, Auflösung: $2 \times 2 \times 2$ mm³, BW = 180 Hz/Px, $R = 3$ und Sättigung: $n = 5$, $\tau_P = \tau_D = 100$ ms, $B_1 = 1,7$ μ T. TrueFISP: $TR = 2,9$ ms, $TE = 1,31$ ms, $\alpha = 61^\circ$, 24 Segmente, Auflösung: $2 \times 2 \times 2$ mm³, BW = 1160 Hz/Px, $R = 3$ und Sättigung: $n = 1$, $\tau_P = 83$ ms, $B_1 = 1,1$ μ T.

Asymmetrieverteilung, die in Bezug auf Homogenität im Volumen vergleichbar mit FLASH war

(Abb. 4.14a,c). Die maximalen Asymmetriewerte übertrafen die mit FLASH gemessenen Werte jedoch deutlich (Abb. 4.14b,d), obwohl der dynamische Bereich der z-Spektren von TrueFISP bei *In-vitro*-Messungen kleiner war als der von FLASH. Allerdings waren auch die SAR-Werte der Bildauslese aufgrund größerer Flipwinkel höher, was dazu führte, dass das maximal einstellbare B_1 für Sättigung bei gleicher Anzahl von Sättigungspulsen geringer gewählt oder die Anzahl der Pulse bei gleichem B_1 reduziert werden musste.

Beim Vergleich von TrueFISP und FLASH *in vivo* wiesen z-Spektren aus ROIs identischer Lokalisation im Gehirn von gesunden Probanden bei gleichem Sättigungs- B_1 Unterschiede auf (Abb. 4.15a,c): Der dynamische Bereich von z-Spektren war mit TrueFISP in allen untersuchten Hirnregionen (Liquor, graue und weiße Hirnsubstanz) größer als mit FLASH (Tab. 4.2). Wird angenommen, dass die Sättigungseffizienz bei beiden Bildauslesetechniken gleich ist, lässt dies erwarten, dass TrueFISP eher in der Lage ist, auch kleine CEST-Effekte im z-Spektrum abbilden zu können.

Im Gehirn von gesunden Probanden wurden mit TrueFISP tatsächlich höhere Asymmetriewerte als mit FLASH gemessen, obwohl die Verläufe der Asymmetriekurven mit beiden Aufnahmetechniken ähnlich waren (Abb. 4.15b,d). Mit der TrueFISP-Sequenz konnten auch geringere *TR*-Zeiten und dadurch kürzere Aufnahmedauern als mit FLASH erreicht werden, was für *In-vivo*-Untersuchungen sehr vorteilhaft ist.

Neben den Vorteilen der TrueFISP-Technik, die sich vor allem bei Schädeluntersuchungen positiv bemerkbar machten, zeigten sich auch Nachteile gegenüber der FLASH-Technik: Knieuntersuchungen waren mit TrueFISP in der eingesetzten Form nicht durchführbar, da Bildartefakte keine adäquate Darstellung von Knorpelbelägen zuließen. Darüber hinaus war TrueFISP aufgrund der hohen SAR-Werte

des Bildgebungsteils bei $B_0 = 7$ T nicht einsetzbar und bei $B_0 = 3$ T war die maximal nutzbare Sättigungsleistung z.T. durch SAR-Grenzen so stark limitiert, dass nicht ausreichend Sättigung induziert werden konnte. Durch Verringerung der Pulsanzahl pro Folge konnte zwar eine Erhöhung von B_1 auf vergleichbare Werte zu FLASH erreicht werden, aber es muss angenommen werden, dass diese Verkürzung von t_{sat} zu einer geringeren Sättigungseffizienz führt. Die genannten Nachteile überwogen die Vorteile gegenüber FLASH bei *In-vivo*-Messungen. Da der Anwendungsbereich von TrueFISP zusätzlich auf Schädeluntersuchungen begrenzt war, wurde die TrueFISP-Technik nur nachrangig für Probanden- bzw. Patientenuntersuchungen eingesetzt.

Tabelle 4.2: Messwerte für den dynamischen Bereich von z-Spektren aus ROIs identischer Lokalisierung im Gehirn eines gesunden Probanden gemessen mit FLASH bzw. TrueFISP.

Lokalisation	Dynamischer Bereich (DB)	
	FLASH	TrueFISP
Liquor	77,15 ± 2,71 %	88,88 ± 2,31 %
Graue Substanz	39,17 ± 1,56 %	64,40 ± 1,14 %
Weißer Substanz	36,57 ± 0,94 %	54,12 ± 0,97 %

Kapitel 5

Ergebnisse der Anwendung

Dieses Kapitel gibt einen Überblick über die experimentellen Ergebnisse, die durch Anwendung der verschiedenen, im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Pulssequenzen bei *In-vivo*- bzw. *In-vitro*-Messungen erzielt wurden. Die Darstellung beinhaltet allerdings lediglich interessante Einzelfälle, die charakteristische CEST-Effekte aufwiesen, nicht aber sämtliche gemessenen Patienten- bzw. Phantomdaten.

5.1 CEST in Modellösungen

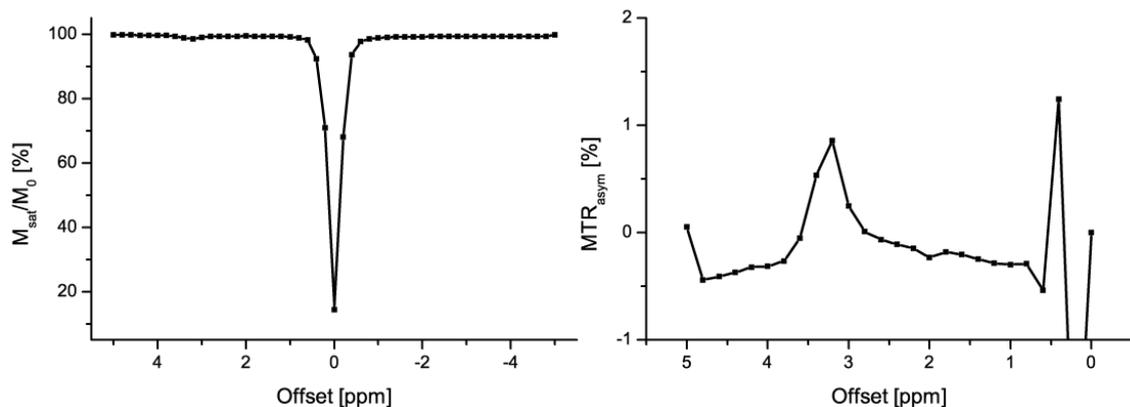


Abbildung 5.1: Bei $B_0 = 3$ T gemessenes z-Spektrum (links) und Asymmetrieanalyse (rechts) von Carnosinlösung (50 mmol/L, pH 7,5). Beide Kurven zeigen einen prägnanten CEST-Effekt bei $\Delta\omega = 3,3$ ppm. Da dieser Offset der Resonanzfrequenz der Amidprotonen von Carnosin entspricht, kann man schlüssig vermuten, dass hier APT vorliegt. Signalakquisition erfolgte mit einer FID-Sequenz ($TR = 10$ s, $NEX = 2$, $BW = 1,2$ kHz). Sättigung wurde mit einer Folge von 15 gaußförmigen Pulsen mit $B_1 = 0,3$ μ T und $\tau_P = \tau_D = 100$ ms erzeugt.

Während CEST-Effekte in Modellösungen von Kreatin, Glycogen, Proteoglykanen und Eiweiß in der Literatur beschrieben sind, konnten im Rahmen dieser Arbeit erstmals Sättigungstransfer-Effekte in Carnosin, das in 0,1 mol/L Phosphatpuffer mit einer Konzentration von 50 mmol/L und einem pH von 7,5 gelöst war, nachgewiesen werden. Die Spektroskopiedaten zeigten Signalre-

duktionen im z-Spektrum bei $\Delta\omega = 3,3$ ppm mit maximalen Asymmetrien in der Größenordnung von 1,5 %. Diese Effekte können auf Transfer von Sättigung durch Amidprotonen von Carnosin zurückzuführen sein, da deren Resonanzfrequenzen bei diesem Offset liegen [Schröder et al. 2004]. Weitere, systematische Messungen wurden mit Carnosin-Lösung allerdings nicht durchgeführt, da die Kosten für Carnosin im Verhältnis zur maximalen MTR_{asym} -Ausbeute sehr hoch waren. Für systematische Messungen wurde stattdessen Kreatin verwendet, das günstig ist und starke CEST-Effekte zeigt.

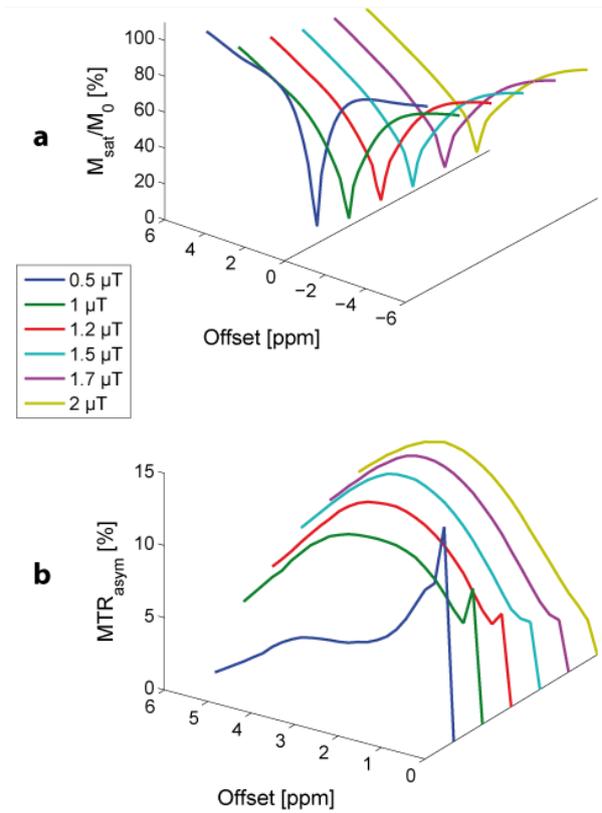


Abbildung 5.2: z-Spektren (a) und MTR_{asym} -Kurven (b) von pasteurisiertem Eiweiß gemessen bei $B_0 = 3$ T. Der dynamische Bereich der z-Spektren verringert sich mit zunehmender Sättigungsleistung. Dieser Effekt wird hauptsächlich konventionellem MT zugeschrieben. Dennoch kann ein asymmetrischer APT-Effekt bei $\Delta\omega = 3,5 \pm 0,5$ ppm deutlich beobachtet werden, dessen maximale Amplitude mit $B_1 = 2$ μ T erreicht wird. Signalakquisition erfolgte mit einer FID-Sequenz ($TR = 10$ s, $NEX = 2$, $BW = 1,2$ kHz). Sättigung wurde mit einer Folge von 10 gaußförmigen Pulsen mit $\tau_P = \tau_D = 100$ ms erzeugt.

teingehalt von 10 %, wobei anzunehmen ist, dass der Großteil der Proteine mobil ist und die Fraktion dieser mobilen Proteine in der Lösung größer ist als im Hirngewebe *in vivo* (Abschnitt 2.4.6).

Mit Messungen an pasteurisiertem Eiweiß bei $B_0 = 3$ T sollte untersucht werden, inwiefern es möglich ist, APT- bzw. CEST-Effekte von gleichzeitig auftretendem, konventionellem MT zu trennen. Anhand der berechneten Asymmetriekurven war eine gute Abgrenzbarkeit von APT-Effekten gegeben. Die Maxima der Kurven lagen $\Delta\omega = 3,5 \pm 0,5$ ppm, was der Resonanzfrequenz der Amidprotonen mobiler Proteine und Peptide entspricht (Abb. 5.2). Allerdings wurde auch deutlich, dass eine Steigerung der Sättigungsleistung den dynamischen Bereich der z-Spektren in höherem Maße reduzierte als das bei Untersuchungen von 2-Pool-Systemen (z.B. Kreatinlösung) der Fall war. Die im Vergleich zu einem 2-Pool-Modell bei Eiweiß zusätzlich auftretende Reduktion des dynamischen Bereichs könnte durch den Einfluss von konventionellem MT erklärt werden, da andere mit CEST konkurrierende Effekte, wie z.B. direkte Sättigung, in ähnlichem Maße auch bei 2 Pools zu finden sein müssten. Flüssiges, pasteurisiertes Eiweiß ist ein gutes Modell, um die *In-vivo*-Situation für APT-Bildgebung zu simulieren. Die verwendete Lösung hatte einen Pro-

5.2 APT-Kontrast bei Hirntumoren

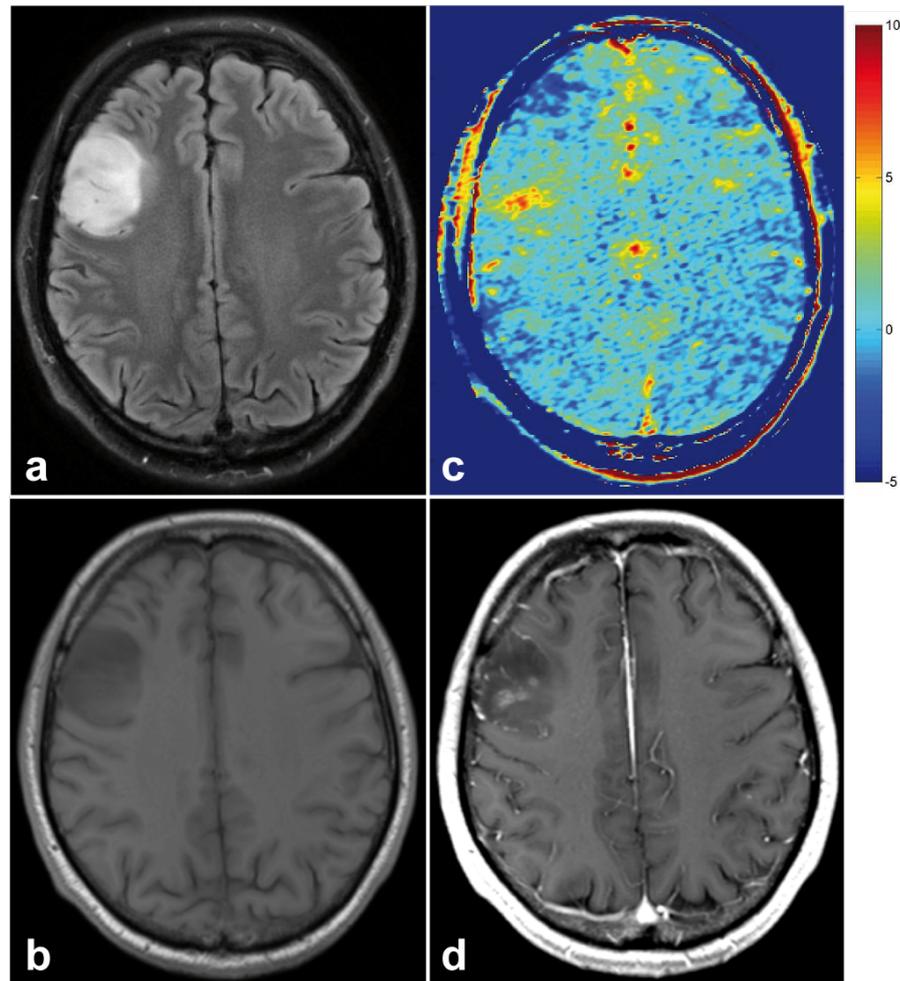


Abbildung 5.3: MR-Bilder eines Patienten mit Astrozytom WHO $\circ 3$ gemessen bei $B_0 = 3$ T. **a:** T_2 -gewichtetes Bild. **b:** Protonendichte(PD)-gewichtetes Bild. **c:** Karte der MTR_{asym} -Werte bei $\Delta\omega = 3,3$ ppm. **d:** T_1 -gewichtetes Bild nach Applikation von Kontrastmittel. Während das rechts temporal liegende Tumorareal auf den Bildern mit nativem Kontrast gut abgegrenzt werden kann, ist eine weitere Differenzierung der Tumoranteile nicht möglich. Sowohl das CEST-Bild als auch das kontrastverstärkte Bild zeigen eine höhere Differenzierung des Tumorareals mit räumlich gut übereinstimmenden Hyperintensitäten, die als höhergradige Tumoranteile interpretiert werden können. Die morphologischen Bild-datensätze wurden mit klinischen Standardprotokollen akquiriert. Die CEST-Messung erfolgte mit der modifizierten FLASH-Sequenz ohne Segmentierung und den Parametern: $TR = 7,8$ ms, $TE = 3,08$ ms, $\alpha = 10^\circ$, $R = 2$. Auflösung: $1,2 \times 1,2 \times 2$ mm³, BW = 180 Hz/Px. Sättigung: $n = 5$, $\tau_P = \tau_D = 100$ ms, $B_1 = 1$ μ T.

Sowohl bei $B_0 = 3$ T (Abb. 5.3 und 5.4) als auch bei 7 T (Abb. 5.5 und 5.6) wurden CEST-Untersuchungen an Patienten mit Gliomen durchgeführt. Dabei wurde die Differenzierbarkeit von Tumorgewebe mittels CEST und die Auswirkung der Feldstärken auf die Detektierbarkeit von CEST-Effekten untersucht.

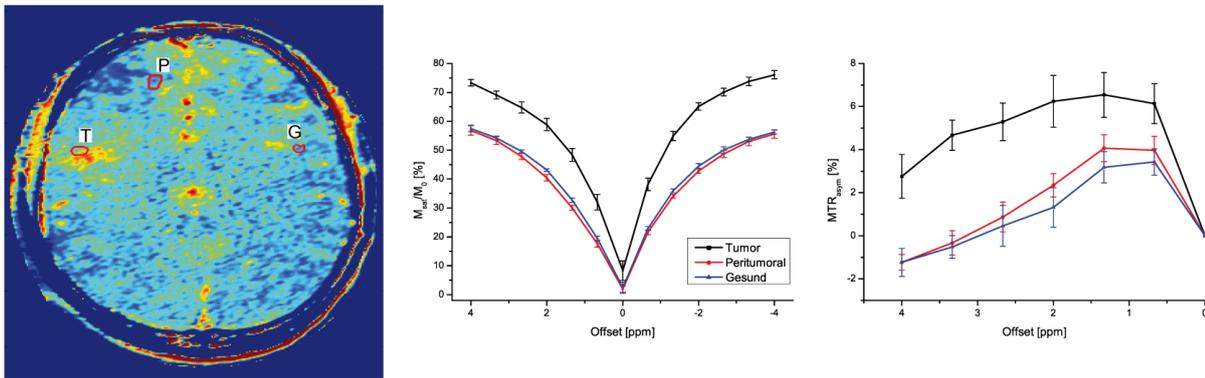


Abbildung 5.4: Links: MTR_{asym} -Karte aus Abb. 5.3 mit ROIs in Tumor- (T), peritumoralem (P) und gesundem (G) Gewebe sowie die dazugehörigen z-Spektren (**Mitte**) und Asymmetriekurven (**Rechts**). Tumorgewebe zeigt eine deutlich höhere Asymmetrie im Vergleich zu den übrigen untersuchten Hirnregionen. Das Maximum des Unterschiedes zur Asymmetrie des Normalgewebes liegt bei $\Delta\omega = 3,3$ ppm.

Im Vergleich zu morphologischer Bildgebung zeigten APT-gewichtete Bilder Signalhebungen an Stellen, die räumlich gut mit Tumorgebieten übereinstimmten, in denen auch post-Kontrast- T_1 -Bilder Signalhebungen aufwiesen. Da CEST-Untersuchungen immer vor Applikation von Kontrastmittel durchgeführt wurden, kann ein direkter Einfluss von Kontrastmittelanreicherung im Gewebe auf APT-Effekte ausgeschlossen werden. Dies lässt darauf schließen, dass in den untersuchten Patienten in hochgradig malignen Tumorearealen erhöhte intrazelluläre pH-Werte zu finden waren, was gut mit früheren Ergebnissen der ^{31}P -MRS von Tumoren übereinstimmt. Bei 3 T war so eine gute Abgrenzbarkeit von hochmalignem Tumoreal zum übrigen Tumor und zum Normalgewebe gegeben (Abb. 5.3). Bei 7 T zeigte sich überdies innerhalb des Tumors ein höheres Differenzierungsmuster, das auf morphologischen Bildern nicht zu erkennen war (Abb. 5.5). Dies könnte darauf hinweisen, dass pH-gewichtete APT-Bildgebung zelluläre Veränderungen in Richtung höherer Malignität früher erkennen kann. Allerdings erfolgte bei der untersuchten Patientin aufgrund der Größe des Tumors und eines asymptomatischen klinischen Bildes kein operativer Eingriff, der eine histologische Untersuchung des Tumors ermöglicht hätte.

Die bei 3 T in gesundem Gewebe gemessenen z-Spektren wiesen einen dynamischen Bereich von 50 ± 6 % auf (Abb. 5.4). Die maximale APTR, die durch den Vergleich der Asymmetrien von gesundem- und Tumorgewebe bei $\Delta\omega = 3,3$ ppm berechnet wurde, war $4,3 \pm 0,8$ %. Bei 7 T hatten z-Spektren aus gesundem Gewebe einen dynamischen Bereich von 67 ± 4 % (Abb. 5.6) sowie eine geringere Halbwertsbreite im Vergleich zu 3-T-Spektren. Für die APTR von hochmalignen Tumoranteilen wurde ein Wert von $10,2 \pm 1,9$ % bei $\Delta\omega = 3,3$ ppm bestimmt.

Eine ausführlichere statistische Betrachtung von APT-Messungen bei Patienten ist nicht möglich, da die Anzahl der untersuchten Patienten zu gering ist. Allerdings bestätigten auch Probandenmessungen die Ergebnisse und die Vorteile des höheren magnetischen Feldes für die Detektion von APT-Effekten.

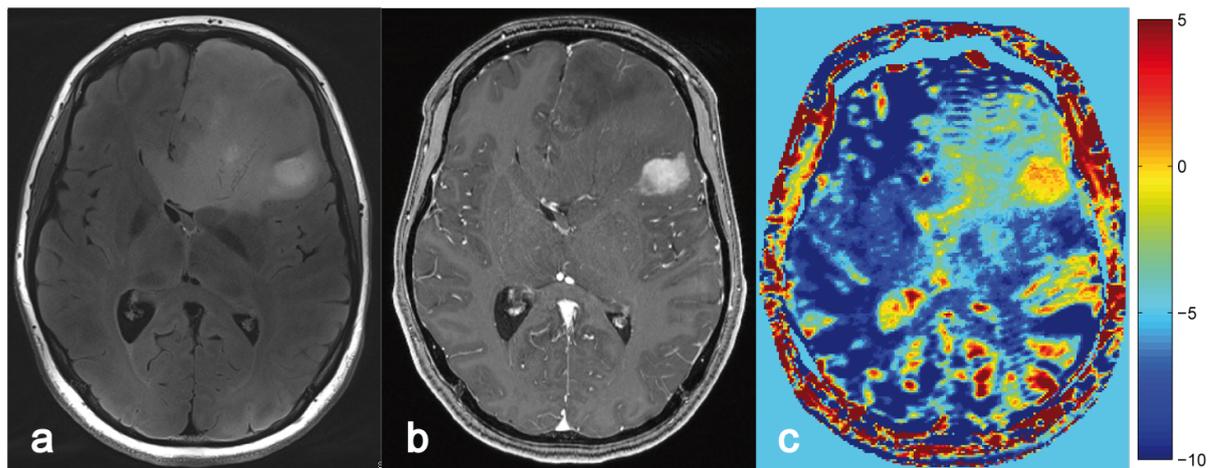


Abbildung 5.5: Bei $B_0 = 7$ T gemessene MR-Bilder einer Patientin mit einem großflächigen Astrozytom, dessen gesamte Ausdehnung auf dem FLAIR-Bild (a) gut abgrenzbar ist. Auf dem T_1 -gewichteten Bild (b) zeigt sich nach Kontrastmittelgabe eine Hyperintensität innerhalb des Tumors, die in übereinstimmender Lokalisation auch auf dem APT-gewichteten Bild (c) zu sehen ist. Im Vergleich zu b zeigt c allgemein eine höhere Differenzierung. Bildgebungsparameter (FLASH-CEST): $TR = 12$ ms, $TE = 2,88$ ms, $\alpha = 10^\circ$, $R = 2$. Auflösung: $1,8 \times 1,8 \times 2$ mm³, BW = 320 Hz/Px. Sättigung: $n = 5$, $\tau_P = \tau_D = 100$ ms, $B_1 = 0,8$ μ T.

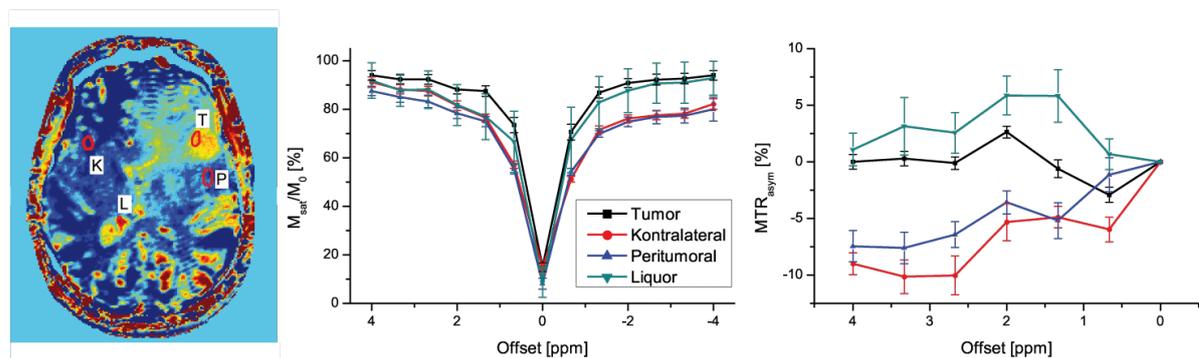


Abbildung 5.6: Links: APT-gewichtetes Bild aus Abb. 5.5 mit ROIs in Tumor- (T), kontralateralem gesundem (K) und peritumoralem (P) Gewebe sowie in Liquor (L). Mitte: z-Spektren aus ROI-Analyse und dazugehörige Asymmetriekurven (Rechts). Im Vergleich zu z-Spektren gemessen bei $B_0 = 3$ T (Abb. 5.4) besitzen die z-Spektren bei 7 T einen größeren dynamischen Bereich und eine geringere Halbwertsbreite. Im Bereich der APT-Resonanz zeigt der Tumor deutlich höhere Asymmetrie im Vergleich zu kontralateralem und gesundem Gewebe, die annähernd gleiche Werte aufweisen.

5.3 APT-Kontrast bei Radioneurose

Bei einer 60-jährigen Patientin wurde an einer inoperablen cerebralen ARTERIOVENÖSEN MALFORMATION (AVM) eine Bestrahlung durchgeführt, um den Ursprung der AVM zu zerstören und damit das Risiko einer intrazerebralen Blutung zu verringern. Allerdings wurde durch die Therapie eine progrediente Radioneurose ausgelöst. Diese zeigte sich erstmals in einer Nachsorgeuntersuchung bei 3 T und 7 T 6 Monate nach Strahlentherapie. Bei 7 T wurde zusätzlich zu

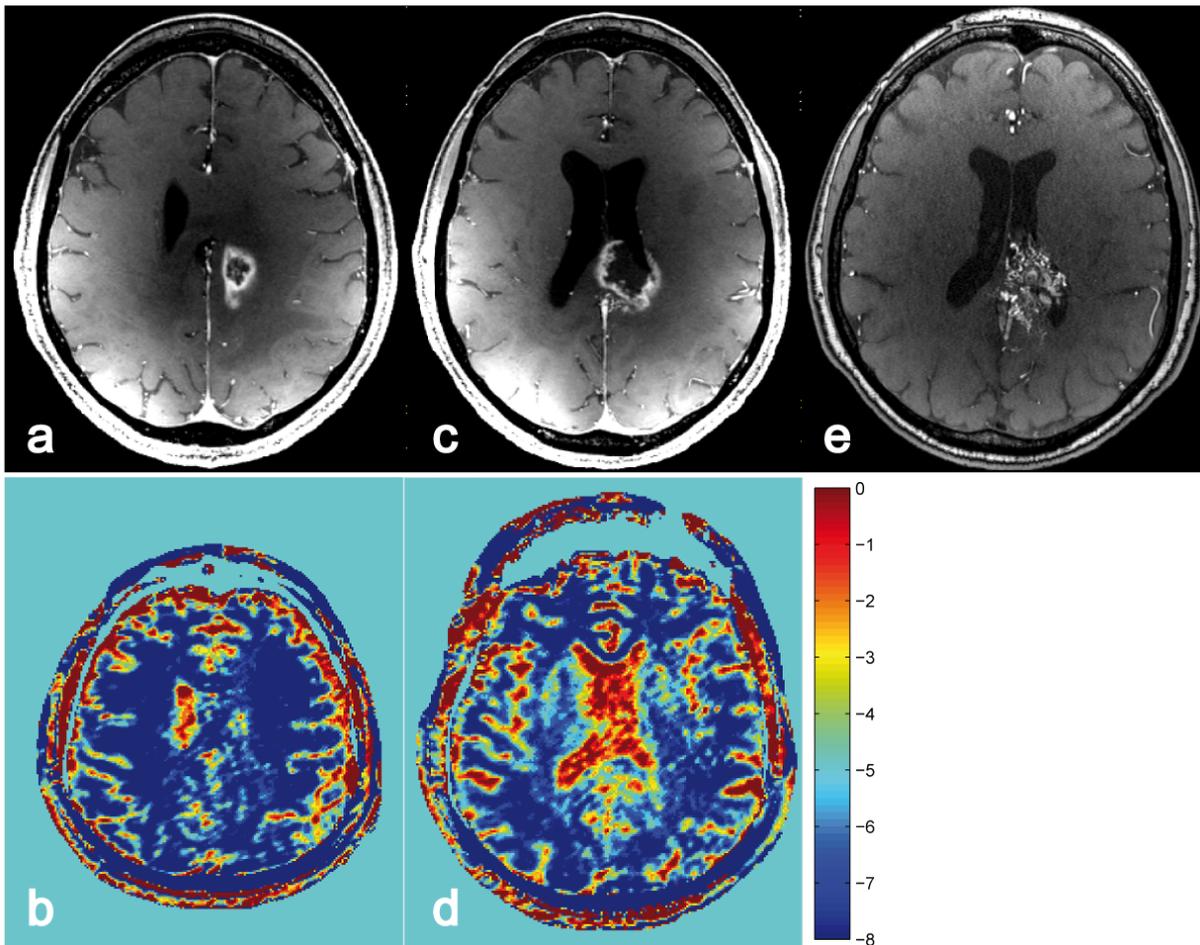


Abbildung 5.7: MR-Bilder einer Patientin (60 Jahre) mit Radionekrose 6 Monate nach Bestrahlung einer arteriovenösen Malformation (AVM) im Gehirn, aufgenommen bei $B_0 = 7$ T. Auf den T_1 -gewichteten MR-Bildern (a,c) zeigt sich der Rand der Nekrose nach Applikation von Kontrastmittel mit hyperintensem Signal. In den entsprechenden APT-gewichteten Bildern (b,d) sind diese Stellen iso- bzw. hypointens zum umliegenden Gewebe, was auf einen niedrigeren intrazellulären pH-Wert innerhalb der nekrotischen Bereiche schließen lässt. Das MR-Angiographie-Bild (e) aus der gleichen Bildebene wie in c und d zeigt die Gefäßstrukturen in der AVM. Die Parameter der FLASH-Sequenz zur CEST-Messung waren: $TR = 12$ ms, $TE = 2,88$ ms, $\alpha = 10^\circ$, $R = 2$. Auflösung: $1,8 \times 1,8 \times 2$ mm³, BW = 320 Hz/Px. Sättigung: $n = 5$, $\tau_P = \tau_D = 100$ ms, $B_1 = 0,8$ μ T.

klinischen MR-Sequenzen eine CEST-Messung durchgeführt. In T_1 -gewichteten Bildern konnte nach Applikation von Kontrastmittel ein Anstieg der Signalintensitäten in den Randbereichen der Radionekrose beobachtet werden (Abb. 5.7a,c), was für eine Zerstörung der Blut-Hirn-Schranke an den jeweiligen Stellen spricht. In CEST-Bildern wurden an entsprechenden Stellen deutlich verringerte APT-Effekte im Vergleich zu kontralateralem Normalgewebe gemessen (Abb. 5.8). Dies lässt auf reduzierte pH-Werte in den kontrastanreichernden Arealen schließen, da der APT-Effekt pH-abhängig ist und eine Reduktion des intrazellulären pH-Wertes die APT negativ beeinflusst. Die Abgrenzung der Radionekrose vom Normalgewebe ist in APT-gewichteten Bildern allerdings nicht durchgehend möglich, was womöglich darauf zurückzuführen ist, dass die

pH-Unterschiede zu gesundem Gewebe z.T. zu gering sind (Abb. 5.7a,b). Da die Nekrose aber größtenteils von ödematösen Veränderungen umgeben war, war die Übereinstimmung mit kontrastmittelverstärkter Bildgebung bzgl. der Lokalisation jedoch gut. Diese Wassereinlagerungen zeigten ähnlich wie Liquor eine Zunahme der Asymmetrie gegenüber dem Normalgewebe und konnten so von nekrotischen Gebieten abgegrenzt werden.

Die Ergebnisse legen nahe, dass eine Unterscheidung zwischen hochgradigen Gliomen und Radionekrosen analog [Zhou et al. 2010] aufgrund von CEST-Messungen auch im Menschen möglich ist. Eine Validierung dieser Hypothese steht allerdings noch aus.

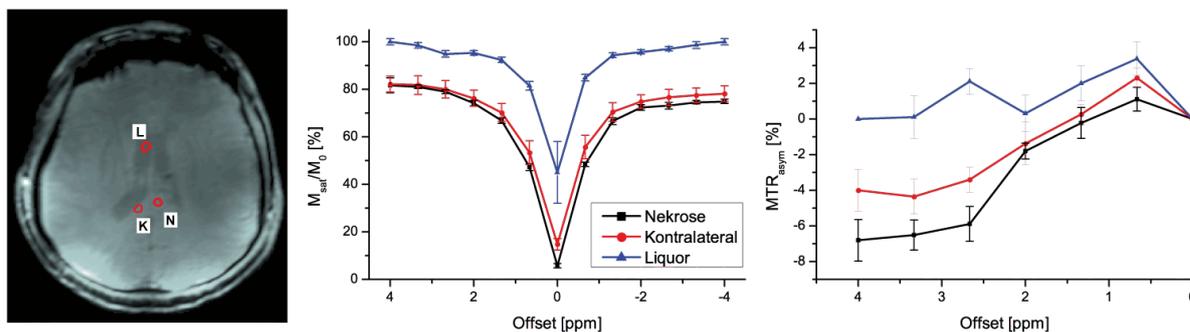


Abbildung 5.8: Links: PD-gewichtetes Bild aus dem Gehirn der Patientin mit Radionekrose (gleiche Ebene wie Abb. 5.7b) mit ROIs in nekrotischem (N) und kontralateralem gesundem (K) Gewebe sowie in Liquor (L). **Mitte:** z-Spektren und Asymmetriekurven (**Rechts**) der ROIs. Die nekrotischen Bereiche zeigen im Bereich des APT-Offsets deutlich niedrigere Asymmetrien als gesundes Gewebe, was für einen verringerten intrazellulären pH in dieser Region spricht.

5.4 gagCEST-Kontrast im Knieknorpel

Für Untersuchungen der Knorpelbeläge im Kniegelenk mittels gagCEST bestanden im Vergleich zu Schädeluntersuchungen anders geartete Bedingungen Voraussetzungen:

1. Da sich im Knie verschiedene Gewebe, wie z.B. Muskel, Knochen, Fett und Knorpel, auf engem Raum befinden und diese sich in Bezug auf ihre magnetische Suszeptibilität stark voneinander unterscheiden, treten im Knie größere Verzerrungen des statischen Magnetfeldes im Vergleich zu Schädelmessungen auf, die auch durch sorgfältiges Shimmen nicht auf das gleiche Maß wie im Gehirn reduziert werden können.
2. Das Gehirn hat aufgrund seiner Lagerung innerhalb der Schädelkalotte nur minimale Bewegungsmöglichkeiten. Mit einer guten Fixierung des Kopfes selbst kann erreicht werden, dass sich das Gehirn innerhalb des Messvolumens während einer Untersuchung nur in vernachlässigbarem Ausmaß bewegt. Im Kniegelenk dagegen kann bereits ein ungewolltes Muskelzucken zu einer Verschiebung des Gelenks im Messbereich führen. Darüber hinaus ist die Fixierung von Beinen schwieriger zu bewerkstelligen als die von Köpfen. Bewegungen des Kniegelenks während einer Messung führen dazu, dass die aufgenommenen Bilddatensätze räumlich zu einander verschoben sind. Sobald die Verschiebung grö-

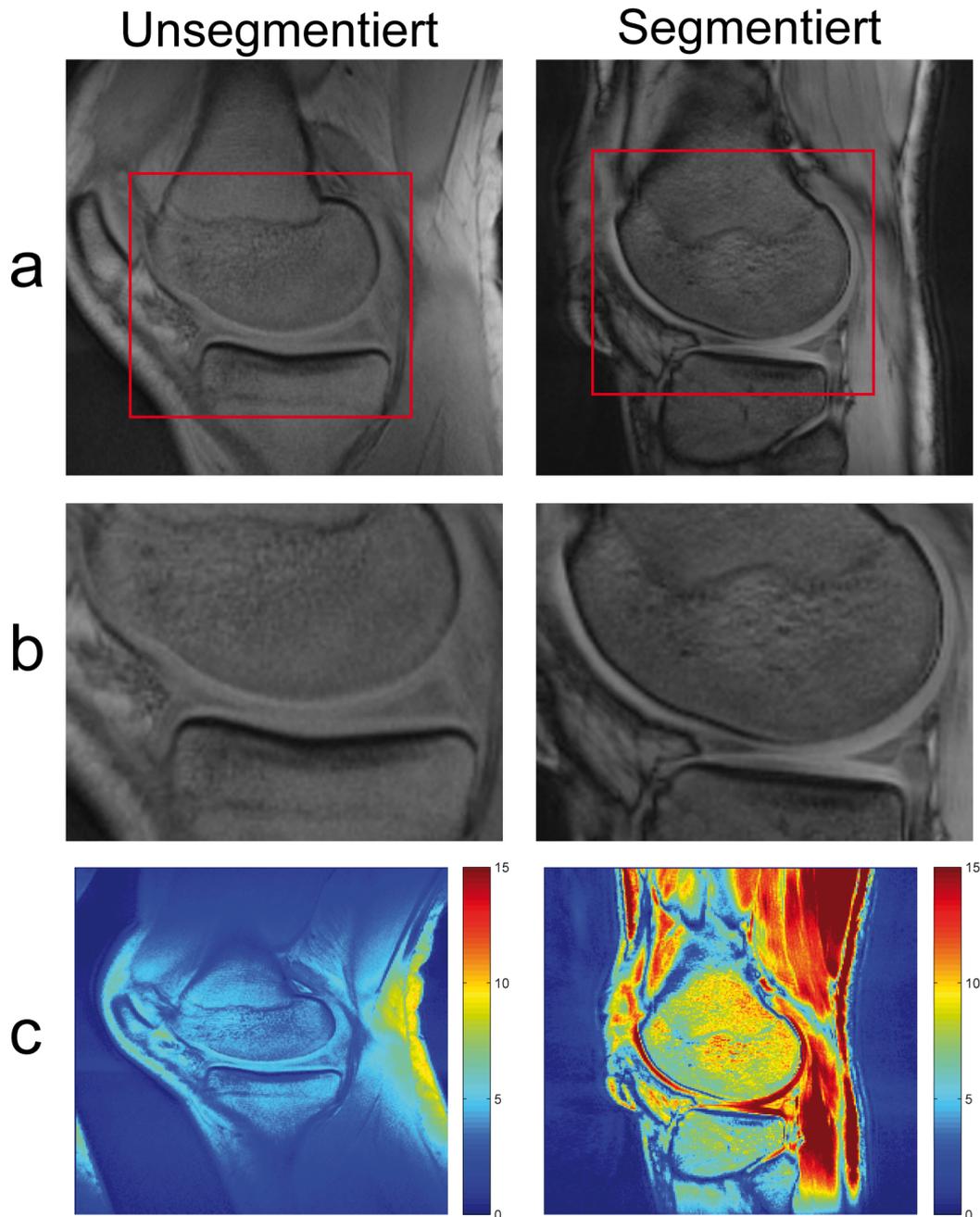


Abbildung 5.9: Vergleich der Bildqualität von CEST-Untersuchungen des Kniegelenks bei unsegmentierter (linke Bildserie) und segmentierter Signalakquisition (rechte Bildserie). **a:** Sagittale M_0 -Bilder der Kniegelenke von zwei unterschiedlichen Probanden. **b:** Vergrößerung des markierten Ausschnitts aus **a**. Das segmentiert akquirierte Bild zeigt eine deutlich bessere Darstellung der feinen Strukturen und ermöglicht eine gute Unterscheidung zwischen Knorpel und Knochen. **c:** SNR-Karten der beiden Kniegelenke. Besonders im Knorpel zeigt sich, dass die segmentierte Sequenz ein deutlich höheres SNR bei gleicher räumlicher Auflösung liefert. Die Parameter der unsegmentierten FLASH-Sequenz waren: $TR = 8,1$ ms, $TE = 3,1$ ms, $\alpha = 10^\circ$, $R = 2$. Auflösung: $0,6 \times 0,6 \times 4$ mm³, $BW = 200$ Hz/Px. Die segmentierte Variante hatte folgende Parameter: $TR = 9,4$ ms, $TE = 3,6$ ms, $\alpha = 10^\circ$, $R = 2$. Auflösung: $0,6 \times 0,6 \times 3,3$ mm³, $BW = 180$ Hz/Px, 2 Segmente pro Partition.

ßer als die Dimension eines Bildvoxels ist, verfälscht dies die eindeutige Zuordnung eines z -Spektrums zu einer bestimmten Lokalisation. Bei Knieuntersuchungen ist eine solche Dislokation häufig der Fall, da die räumliche Auflösung normalerweise hoch und die Voxel-dimensionen dementsprechend klein sind. Eine retrospektive Korrektur von Bewegungsartefakten in den Bilddaten war somit unabdingbar. Die Registrierung der Datensätze erfolgte mit einem nicht-rigiden Ansatz [Chefd'Hotel et al. 2002; Hermosillo et al. 2002], der in der Software fMRLung (Siemens Corporate Research, Princeton, NJ, USA) implementiert war. Das Verfahren registriert die 3D-Daten in 4 Schritten zueinander, wobei vom ersten bis zum vierten Schritt 2048, 2048, 1024 und 1024 Iterationen für die Anpassung verwendet wurden. Der dimensionslose Parameter σ der Filterfunktion wurde bei jedem Registrierungsvorgang abhängig von der maximalen räumlichen Abweichung zwischen Bildern angepasst, da aufgrund der hohen Varianz der Bewegungsamplituden zwischen Messungen kein Optimum für diesen Parameter gefunden werden konnte. Die verwendeten Werte für σ lagen im Bereich zwischen 19,0 (große Ortsabweichung zwischen zwei Messungen) und 30,0 (kaum erkennbare Ortsabweichung).

3. Für eine adäquate radiologische Auswertbarkeit von Knorpelstrukturen ist eine hohe räumliche Auflösung notwendig, die die Aufnahme von 192 oder gar 256 Zeilen pro Partition erfordert. Bei Akquisition der entsprechenden Bilddaten war der Signalzerfall bei 3 T und unsegmentierter Auslese der Partitionen so groß, dass Knorpelstrukturen nicht mit ausreichend hohem SNR dargestellt werden konnten (Abb. 5.9). Daher wurde bei 3 T eine segmentierte Auslese des k -Raums (vgl. Abschnitt 4.2) bevorzugt, während das SNR im Knieknorpel bei 7 T und hoher räumlicher auch bei unsegmentierter Signalauslese ausreichend hoch war.
4. Im Vergleich zu den Amidprotonen mobiler Proteine und Peptide ($k_{SW} = (28,6 \pm 7,4) \text{ s}^{-1}$, Abschnitt 2.4.6), sind die Austauschraten der Hydroxylprotonen von Proteoglykanen deutlich größer (Größenordnung: 10^3 s^{-1} [Hills et al. 1991]). Dies führt zu breiteren Resonanzlinien und somit erschwerten Bedingungen für selektive Sättigung. Die CEST-Effekte, die durch $-OH$ -Protonen von GAG übertragen werden, sind dadurch im Spektrum schlechter auflösbar, was zu einer „Verschmierung“ der durch sie hervorgerufenen Asymmetrien über mehrere Offsets führt. So sind die Werte von MTR_{asym} pro Offset z.T. so niedrig, dass Schwankungen, die auf Konzentrationsunterschiede von GAG zurückzuführen sind, nicht mehr aufgelöst werden können. In Untersuchungen an Probanden konnten in gesundem Knorpel sowohl bei $B_0 = 3 \text{ T}$ als auch bei 7 T zwischen $\Delta\omega = 0$ und $\Delta\omega = 2 \text{ ppm}$ positive Asymmetrien gemessen werden, was dem Bereich entspricht, in dem die $-OH$ -Gruppen von GAG ihre Resonanzfrequenzen haben. Die in diesem Spektralbereich gemessenen Asymmetriewerte wurden summiert, um den Verlust an Asymmetrie pro Offset zu kompensieren. Bei $B_0 = 3 \text{ T}$ wurden alle MTR_{asym} -Werte im Offset-Bereich 0,8 bis 2,2 ppm summiert, bei 7 T dagegen alle Werte zwischen 0,4 und 1,8 ppm, wobei $\Delta\omega_{max}$ bei beiden Feldstärken bei 2,6 ppm lag. Die unterschiedlichen Intervalle sind durch die maximalen B_0 -Inhomogenitäten ($\delta\omega_B$) im Messbereich begründet. Da bei 7 T häufig $\delta\omega_B > 0,4 \text{ ppm}$ gemessen wurde, wurde die Intervallgrenze dementsprechend in einem größeren Abstand zu $\Delta\omega_{max}$ gewählt.

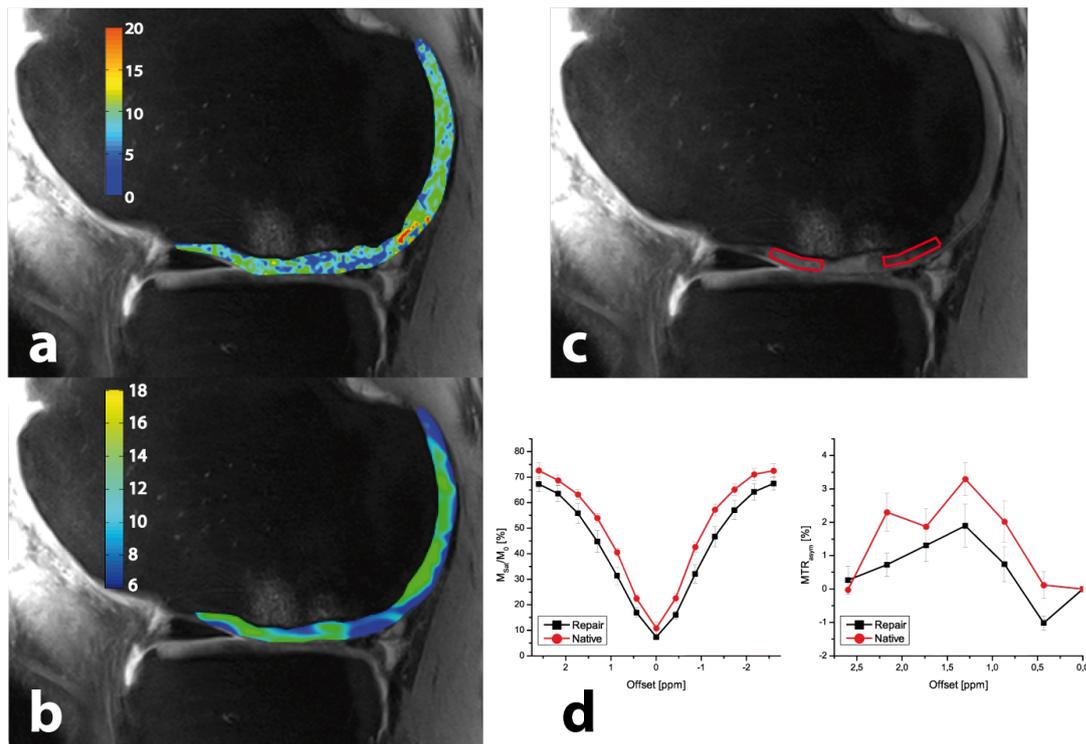


Abbildung 5.10: gagCEST (a) und ^{23}Na -Bilder (b) des Kniegelenks eines Patienten nach Knorpelersatztherapie in der medialen Femurkondyle. c: Morphologisches PD-gewichtetes Bild mit ROIs in gesundem (links) und im Ersatzgewebe (rechts). d: Repräsentative z-Spektren (links) sowie Asymmetrieanalysen (rechts), berechnet durch Mittelung der Pixel innerhalb der in c gekennzeichneten ROIs. Die Parameter der FLASH-Sequenz (unsegmentiert) waren: $TR = 7,3$ ms, $TE = 3,2$ ms, $\alpha = 5^\circ$, $R = 2$. Auflösung: $0,7 \times 0,7 \times 3$ mm³, BW = 250 Hz/Px. Sättigung: $n = 5$, $\tau_P = \tau_D = 100$ ms, $B_1 = 0,7$ μT .

Bei $B_0 = 7$ T wurde eine Studie zur Beurteilung der Möglichkeit, mittels gagCEST die Qualität von Knorpel zu evaluieren, durchgeführt. In diesem Rahmen wurden 12 Patienten untersucht, die sich einer Knorpelersatztherapie unterzogen hatten. Die gagCEST-Ergebnisse wurden mit Natrium-Bildgebung verglichen, da diese Technik eine Referenzmethode für die Bestimmung des GAG-Gehalts im Knorpel ist [Reddy et al. 1997].

Die Patienten wurden mit der unsegmentierten FLASH-Sequenz untersucht. Trotz einer hohen räumlichen Auflösung von $0,7 \times 0,7 \times 3$ mm³ konnten damit stabile CEST-Effekte gemessen werden (Abb. 5.10). In gesundem Knieknorpel lag der Median von MTR_{asym} bei 7,99 % mit einem Interquantilbereich (IQR) von 6,33 – 8,79 %. Die Werte in Knorpelersatzgewebe hatten dagegen einen niedrigeren Median von 5,13 % (IQR: 2,64 – 6,34 %). Für den Vergleich mit ^{23}Na -Bildgebung wurden nicht die absoluten MTR_{asym} -Werte bzw. Signalintensitäten verwendet, sondern die Verhältnisse der Messwerte aus gesundem Knorpel und Ersatzgewebe. Dabei zeigte sich eine hohe Korrelation ($r = 0,701$) zwischen dem Median des Verhältnisses aus Natrium-Bildgebung (1,26 %, IQR: 1,21 – 1,48 %) und dem mit gagCEST ermittelten Wert (1,28 %, IQR: 1,20 – 1,58 %). Die in gesundem Knorpel gemessenen z-Spektren besaßen bei allen Patienten einen $DB \geq 65$ %.

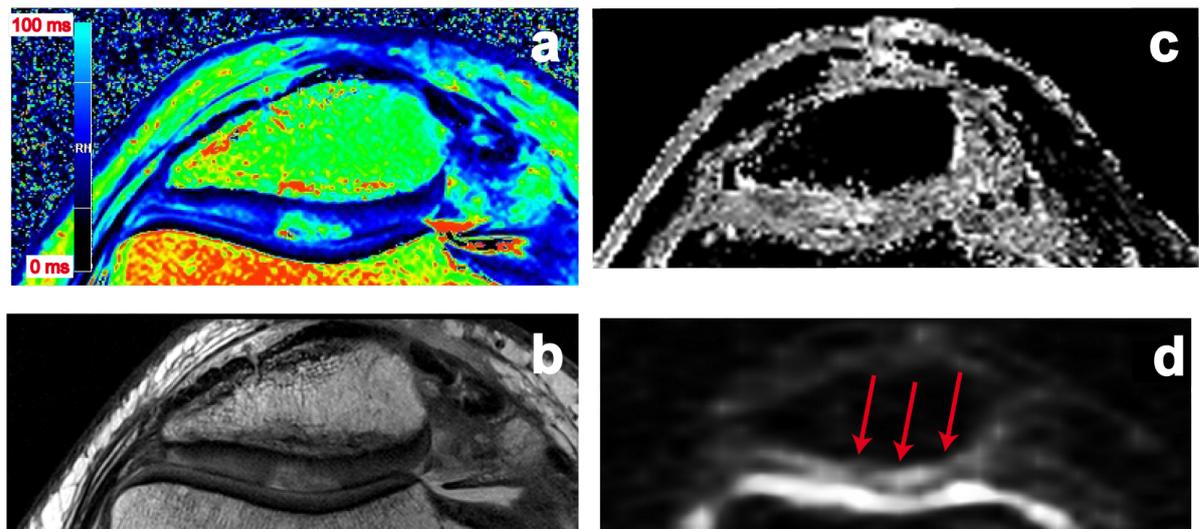


Abbildung 5.11: MR-Bilder eines Patienten mit fokaler Läsion im retropatellaren Knorpel gemessen mit der segmentierten FLASH-Technik bei $B_0 = 3$ T. **a:** Die Karte der T_2 -Relaxationszeiten zeigt längeres T_2 in der primären Läsion. **b:** Das morphologische PD-gewichtete Bild zeigt die Läsion als Hyperintensität mit ansonsten unauffälligen Knorpelbelägen. **c:** Im CEST-Bild stellt sich die primäre Läsion ebenfalls hyperintens dar, allerdings treten an den Flanken Hypointensitäten auf. **d:** ^{23}Na -Bild mit Markierungen der primären Läsion (mittlerer Pfeil) sowie flankierenden Hypointensitäten, die hinsichtlich der Lokalisation gut mit CEST korrelieren. CEST wurde gemessen mit der segmentierten FLASH-Sequenz: $TR = 8,8$ ms, $TE = 3,5$ ms, $\alpha = 11^\circ$, $R = 2$. Auflösung: $0,6 \times 0,6 \times 3$ mm³, BW = 180 Hz/Px, 2 Segmente pro Partition. Sättigung: $n = 3$, $\tau_P = 100$ ms, $\tau_D = 10$ ms, $B_1 = 2,5$ μT . Natrium-Bildgebung: $TR = 10$ ms, $TE = 3,77$ ms, $\alpha = 56^\circ$. Auflösung: $1,6 \times 3,2 \times 3$ mm³, BW = 170 Hz/Px.

Bisher wurden erste Pilotversuche zum Testen der segmentierten Sequenzvariante bei 3 T durchgeführt. Dazu wurde u.a. ein Patient mit einer fokalen Läsion im retropatellaren Knorpel untersucht und die CEST-Ergebnisse mit morphologischer Bildgebung, ^{23}Na -Bildgebung und einer T_2 -Karte verglichen (Abb. 5.11). Dabei war die Läsion in allen Bildgebungsmodalitäten gut erkennbar. Sie zeigte in PD-gewichteten- und CEST-Bildern Signalanstiege. In der T_2 -Karte war die Läsion aufgrund einer Erhöhung der Relaxationszeiten darstellbar. Das Natriumbild zeigte ein reduziertes Signal im Vergleich zum ungeschädigten Knorpelanteil des Femurs. In direkter Nachbarschaft konnten zu beiden Seiten der primären Verletzung sowohl im CEST- als auch im Natriumbild korrelierende Signalabfälle beobachtet werden, die durch einen Verlust von GAG erklärt werden können. Die Asymmetriekurven (Abb. 5.12) von ROIs an diesen Stellen sind jedoch nur bedingt von denen nicht direkt geschädigter Knorpelareale unterscheidbar. Durch Summation der Asymmetriewerte im Offset-Bereich von 0,8 bis 2,2 ppm konnte die Abgrenzbarkeit jedoch gesteigert werden (Abb. 5.12d, 5.12e), da die ortsabhängigen Signalunterschiede bei summierter MTR_{asym} wesentlich größer sind als bei Vergleich der Werte an einem Offset. Die Analyse der z-Spektren (Abb. 5.12b) zeigte in der primären Läsion eine unwesentlich geringere Halbwertsbreite als in den übrigen Lokalisationen. Die dazugehörigen Asymmetriewerte überragten sämtliche anderen.

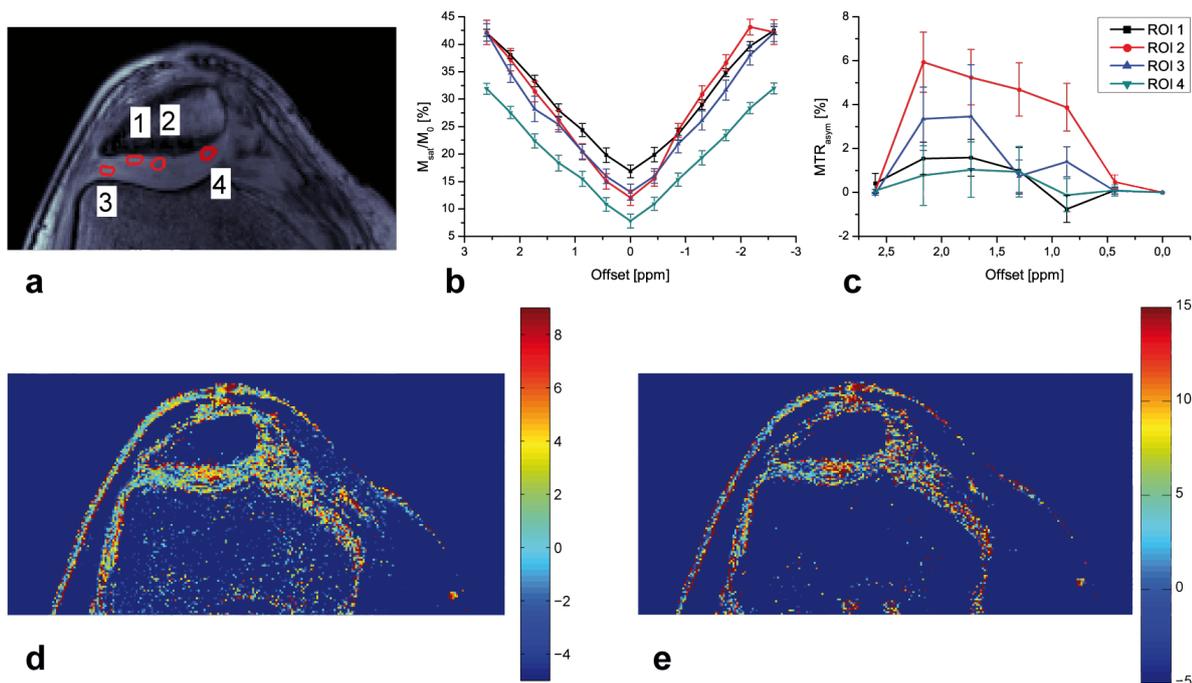


Abbildung 5.12: a: PD-gewichtetes Bild eines Kniegelenks mit Läsion im retropatellaren Knorpel mit ROIs in der primären Läsion (2), morphologisch unauffälligen Knorpel (3) sowie zwei Stellen, die in der Natrium-Bildgebung Signalreduktionen zeigten (1,4). b: z-Spektren und c: Asymmetriekurven der ROIs. d: Karte der Asymmetriewerte bei $\Delta\omega = 1,4$ ppm sowie e: der Werte summiert von 0,8 bis 2,2 ppm mit höherer Differenzierung des Knorpels.

5.5 CEST-Kontrast in der Mamma

Im Rahmen eines Pilotversuchs wurden drei Patientinnen mit Mamma-Karzinom mit CEST-Bildgebung bei 3 T untersucht und die Ergebnisse mit dynamischer kontrastverstärkter MRT verglichen (Abb. 5.13). Dabei zeigten z-Spektren aus Voxeln mit hoher Fettkonzentration Minima bei einer Offsetfrequenz $\Delta\omega = -3,3$ ppm. Dieser Offset entspricht der Resonanzfrequenz der Methylengruppen von freien Fettsäuren. Die z-Spektren aus Muskel-, Drüsen- und Tumorgebilde zeigten ebenfalls Sättigungseffekte bei $\Delta\omega = -3,3$ ppm, aber das niedrigste Signal jeweils bei der Resonanzfrequenz der Protonen des freien Wassers. Auf diese Weise konnte Gewebe mit überwiegenderem Fettanteil von anderen Geweben unterschieden werden. Die Asymmetriekurven aus den anderen Gewebearten zeigten vom Offset der Wasserresonanz aus einen ansteigenden Verlauf bis 1,3 ppm mit anschließendem Abfall der Asymmetrie bei höheren Offsets, der durch zunehmenden Einfluss direkter Fettsättigung erklärt wird. Um diesen Einfluss auf die Asymmetrieanalyse zu vermeiden, können z-Spektren nur sinnvoll in einem Offset-Bereich < 2 ppm analysiert werden.

In den untersuchten Patientinnen waren die gemessenen Asymmetrien bei 1,3 ppm im Tumor signifikant höher als in Muskel- bzw. Fettgewebe ($p < 0,001$). Bei einer Patientin, nicht aber bei den beiden anderen wurde ein signifikanter Unterschied zwischen Tumor und Muskel gefunden. Bei letzteren zeigte Muskelgewebe bis auf einen höheren Fettanteil ähnliche Asymmetrieverläufe

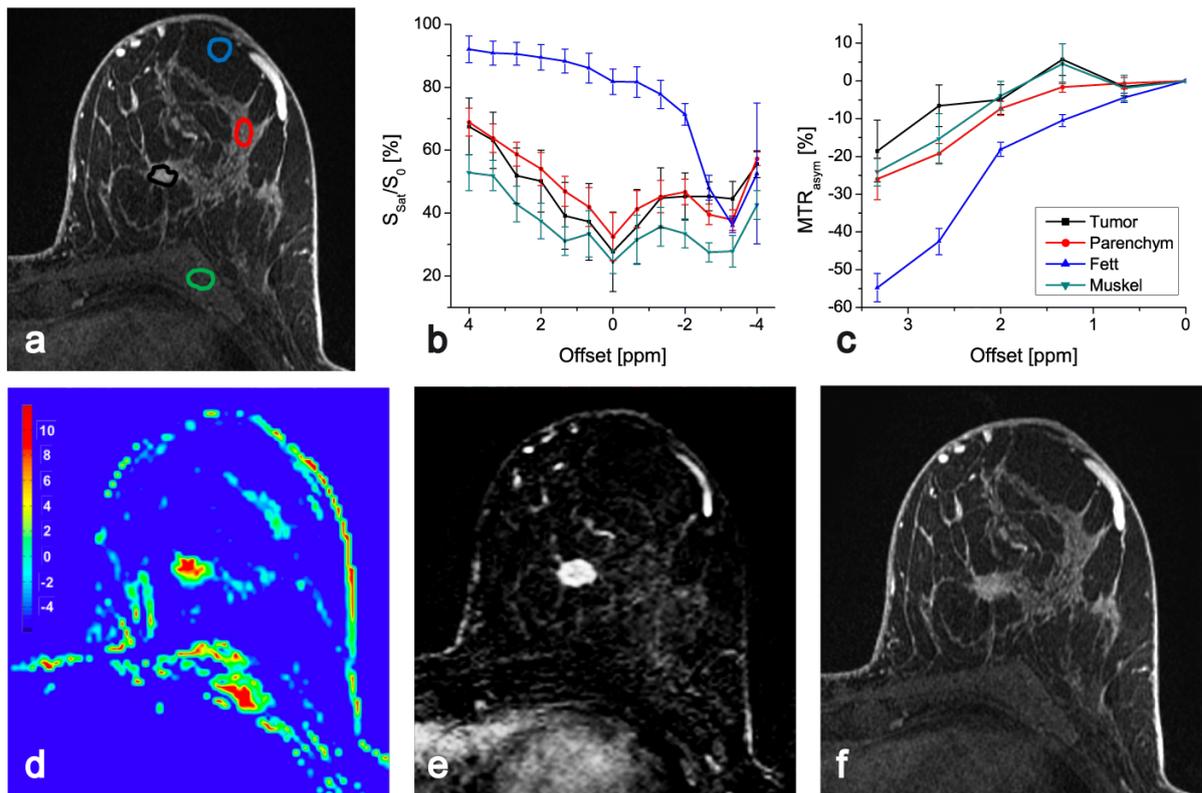


Abbildung 5.13: CEST-Daten und MR-Bilder einer Patientin mit invasivem duktalem Karzinom in der rechten Brust, gemessen bei $B_0 = 3$ T. **a:** Morphologisches T_1 -gewichtetes Bild mit ROIs, deren Farbe den dazugehörigen z-Spektren (**b**) und Asymmetriekurven (**c**) entspricht. **d:** Karte mit MTR_{asym} -Werten bei $\Delta\omega = 1,3$ ppm. **e** Differenzbild von T_1 -gewichteten Aufnahmen vor und nach Applikation von Kontrastmittel mit hyperintensem Tumorareal. **f:** Post-Kontrast T_1 -gewichtetes Bild mit geringem Kontrastunterschied des Tumors zum umliegenden Parenchym. Die Asymmetriekarte ermöglicht eine gute Abgrenzbarkeit des Tumors zum umliegenden Gewebe. Zur Bildakquisition wurde die FLASH-Methode mit folgenden Parametern verwendet: $TR = 6,9$ ms, $TE = 2,7$ ms, $\alpha = 10^\circ$, $R = 2$. Auflösung: $1,6 \times 1,6 \times 3$ mm³, BW = 200 Hz/Px. Sättigung: $n = 5$, $\tau_P = \tau_D = 100$ ms, $B_1 = 1,5$ μ T.

wie Tumorgewebe. Eine sichere Unterscheidung zwischen Tumor und Muskel war also auf Grundlage der Asymmetriebilder nicht möglich. Darüber hinaus waren die absoluten MTR_{asym} -Werte zwischen Patientinnen nicht vergleichbar, was auf unterschiedlich große Wasser- und Fett pools zurückgeführt wird. Die maximal induzierbaren CEST-Effekte sind jedoch von diesen Poolgrößen abhängig.

Kapitel 6

Diskussion

In dieser Arbeit wurden verschiedene experimentelle Möglichkeiten untersucht, wie CEST-Effekte erzeugt und wie sie aufgenommen werden können. Die entwickelten Methoden wurden an verschiedenen CEST-Kontrasten *in vitro* bzw. *in vivo* untersucht.

6.1 Gepulste Sättigung

Da es allgemein mit klinischen MR-Tomographen nicht möglich ist, Spinsysteme mittels CW-Einstrahlung zu sättigen, wurde ein Konzept erarbeitet, um Sättigung durch wiederholte Applikation von kurzen (≤ 100 ms) HF-Pulsen zu induzieren. Durch Evaluation der spektralen Leistungsdichte wurde eine Pulsfolge entwickelt, mit der an klinischen Tomographen CEST-Effekte in Modellsystemen und *in vivo* erzeugt werden konnten. Dabei wurde die Pulsfolge dahingehend optimiert, dass auch bei „klinischen Feldstärken“ ($B_0 \leq 3$ T) und dementsprechend geringer Dispersion der chemischen Verschiebung eine selektive Sättigung von CEST-Pools möglich war. Eine wichtige Frage war außerdem, ob es bei Einhaltung der Grenzwerte für die spezifische Absorptionsrate bei Untersuchungen am Menschen möglich ist, in ausreichendem Maße Sättigung auf Pools von labil gebundenen Protonen zu übertragen.

Vergleiche mit numerischen Berechnungen von Lösungen der Bloch-McConnell-Gleichungen für ein 2-Pool-System mit gepulster Sättigung zeigten für Kreatinlösung gute Übereinstimmungen mit experimentellen Daten. Quantitative Abweichungen können damit begründet werden, dass die Effektivität des Spoilings, die Relaxationszeiten und die Austauschraten des CEST-Pools der Literatur entnommen bzw. geschätzt werden mussten, da sie nicht direkt gemessen werden konnten. Darüber hinaus wurde die Signalauslese bei den Vergleichsmessungen mit der unlokalisierten FID-Technik durchgeführt. Hier muss beachtet werden, dass bei Messungen an klinischen Tomographen die räumlichen Verteilungen von B_0 und B_1 nicht als völlig homogen über die bei Phantommessungen untersuchten Volumina (z.B. 250-mL-PE-Flasche) angenommen werden können. In der Simulation wurde jedoch von genau diesen Voraussetzungen ausgegangen, während die Messung sämtliche im Probenvolumen auftretenden Inhomogenitäten erfasst.

Eine grundsätzliche Frage stellt sich jedoch nach der korrekten Beschreibung und Vorhersage von Sättigungseffekten, wenn nicht berücksichtigt wird, ob sie durch eine Folge von HF-Pulsen oder CW-Einstrahlung induziert werden. Im quantenmechanischen Bild werden durch resonante

Einstrahlung in ein Spinsystem Übergänge zwischen Energieniveaus angeregt, wodurch die thermische Polarisierung mit der Zeit verschwindet. Vollständige Sättigung kommt einer Annullierung des Besetzungszahlunterschiedes gleich, da bei nachfolgender HF-Anregung kein NMR-Signal mehr detektiert werden kann. Im Bild der Bloch-Gleichungen entspricht dies der Situation, dass nach einer HF-Anregung keine detektierbare Transversalmagnetisierung vorhanden ist. Dieses Verhalten kann basierend auf stationären Lösungen der Bloch-Gleichungen für wachsendes B_1 auch nachvollzogen werden. Dabei muss jedoch bemerkt werden, dass diese Lösung annimmt, dass die Antwort des Spinsystems linear von B_1 abhängt, was jedoch nur für kleine B_1 und kurze (wenige ms) Pulse zulässig ist [Abragam 1961; Bernstein et al. 2004]. Dies trifft ebenso auf die Vorhersagen von spektralen Eigenschaften von HF-Pulsen zu, bei denen eine lineare Antwort von Spinsystemen angenommen wird [Ernst et al. 1997]. In der MR-Literatur wird häufig verallgemeinernd gesagt, dass ein lineares Verhalten für kleine Flipwinkel ($1 - 90^\circ$), also das Produkt aus Amplitude und Zeit, von HF-Pulsen vorausgesetzt werden kann. Speziell in der Beschreibung von gepulster Sättigung für konventionellen MT wurde die lineare Antwort von „bestrahlten“ Spinsystemen angenommen, um die spektralen Effekte von Pulsfolgen zu berechnen [Graham and Henkelman 1997; Sled and Pike 2000]. Hier wurde gute Übereinstimmung mit Experimenten erzielt. Ebenso konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass Pulsfolgen Sättigungseffekte bewirken, die im Einklang mit der theoretischen Berechnung ihrer Anregungsspektren stehen. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Halbwertsbreite von z-Spektren bei gleichbleibender maximaler Sättigung abnimmt, wenn die Periode eines Pulszuges durch Erhöhung des Abstandes zwischen den Pulsen verlängert wird, was für eine Verbesserung der Selektivität der Pulsfolge spricht. Von den Bloch-Gleichungen würde man hier eine Zunahme Einflusses von Relaxation erwarten, die zu einer Abnahme von Sättigung führt. Dennoch war auch zu beobachten, dass eine Verkürzung der Zeit zwischen aufeinander folgenden Pulsen, also eine Annäherung an CW-Einstrahlung, Asymmetrieffekte vergrößerte. Im Hinblick auf die Erzeugung von starken Asymmetrie-Effekten erscheint es daher sinnvoll, für Sättigungspulsfolgen $\tau_P > \tau_D$ zu wählen. Allerdings führt diese Erhöhung des Duty-Cycles zu einer Verringerung der spektralen Selektivität. Die Möglichkeit, den Duty-Cycle von HF-Verstärkern auf Werte $> 50\%$ einzustellen, war bei den Messungen zu dieser Arbeit jedoch überhaupt nur beim Senden mit lokalen Sende-/Empfangsspulen gegeben, nicht aber beim Senden mit der Ganzkörper-Spule (Abschnitt 3.1). Besonders bei der klinisch verwendeten Magnetfeldstärke von 3 T führt eine Reduktion der spektralen Selektivität zu einer verringerten Detektierbarkeit bzw. Abgrenzbarkeit von CEST-Effekten. Des Weiteren skaliert die mittlere SAR mit dem Duty-Cycle η gemäß

$$\overline{\text{SAR}} = \frac{(Q_{\text{leer}}/Q_{\text{beladen}} - 1)}{m_{\text{Patient}}} \cdot k \cdot B_1 \cdot \eta, \quad (6.1)$$

wobei Q die Güte der Spule ist, m die Körpermasse des Patienten, die vom B_1 -Feld erfasst wird, und k ein Sensitivitätsfaktor der Spule, der die eingespeiste Leistung mit dem abgegebenen B_1 in Relation setzt.

Das primäre Kriterium für die Entwicklung der Sättigungspulsfolge war es, eine hohe Frequenzselektivität zu erreichen. Für die entwickelte Pulsfolge konnte dies hinreichend demonstriert werden. Sekundäres Ziel war, effektive Sättigung im Rahmen der gegebenen Hardware-Limitationen und SAR-Grenzwerte zu erreichen. Auch dies konnte hinreichend realisiert werden, obwohl ein

Vergleich der in dieser Arbeit mit gepulster Sättigung erzielten Ergebnisse mit CW-Sättigung interessant gewesen wäre. Allerdings war diese Art der Sättigung mit der vorhandenen Hardware technisch nicht realisierbar.

6.2 Akquisition von CEST-Signalen

Nachdem die Kernspinresonanzen eines Pools von labilen Protonen durch Einstrahlung von HF-Leistung gesättigt wurden, kann der chemische Transfer von gesättigten Spins durch Auswertung des Resonanzsignals eines gekoppelten Pools sichtbar gemacht werden. Bei CEST-Experimenten ist der koppelnde Pool im Normalfall das Ensemble von Protonen frei beweglicher Wassermoleküle (Pool W). Übertragene Sättigung nimmt in diesem Pool mit einer Rate ab, die eine Summe aus Rückaustausch mit sämtlichen koppelnden Pools und T_1 -Relaxation ist. Das Signal von Pool W muss daher nach Sättigung schnell erfasst werden, um quantitative Aussagen über CEST-Effekte treffen zu können. Zu Beginn dieser Arbeit war CEST-Bildgebung im Menschen auf die Aufnahme einer einzelnen Schicht pro Untersuchung beschränkt. Bei der damals verwendeten Aufnahmetechnik wurde der einfachste Ansatz verwendet, nämlich nach Sättigung das gesamte Bildsignal in möglichst kurzer Zeit zu erfassen und dann eine ausreichende Zeit vor der nächsten Sättigung abzuwarten, so dass zu Beginn jeder Periode vollständig ausrelaxierte Spinsysteme vorliegen. Die Signalakquisition erfolgte dabei mit einer schnellen Spinecho-Technik [Jones et al. 2006]. Das Verfahren war aber nur von bedingtem Nutzen, da die Messzeit zur Generierung eines CEST-Datensatzes für eine Schicht sehr hoch und die Einsetzbarkeit bei Feldstärken $> 3 T$ aufgrund der HF-intensiven Signalauslese nicht gegeben war.

Die Absicht bei der Verwendung der EPI-Technik war es, nach einer Sättigungsperiode das Signal statt von einer gleich von mehreren Schichten in kurzer Zeit zu erfassen, so dass ohne nennenswerte Verkürzung der Untersuchungsdauer ein CEST-Datensatz von mehreren Schichten aufgenommen werden kann. Auch wenn mit dieser Technik gegenüber der Spinecho-Technik deutlich HF-Leistung gespart und gleichzeitig die Akquisitionsdauer für ein Bild reduziert werden konnte, traten diverse neue Komplikationen auf. Durch Aufnahme von mehreren Schichten waren zu Beginn der Auslese jeder neuen Schicht zunehmend weniger Sättigung vorhanden, was eine Vergleichbarkeit der CEST-Effekte zwischen den Schichten unmöglich machte. Dieses hauptsächlich durch Relaxation verursachte Problem, versuchten Sun *et al.* durch mathematische Korrektur der Messdaten auf Grundlage der Bestimmung von Relaxationszeiten einer Probe zu lösen [Sun et al. 2008]. Neben der für die Messung der Relaxationszeiten zusätzlich notwendige Messzeit besitzt dieses Verfahren jedoch nur begrenzte Anwendbarkeit für *In-vivo*-Untersuchungen, da die Korrekturen auf Lösungen der Bloch-Gleichungen beruhen, welche die für CEST *in vivo* relevanten Prozesse nur unzureichend modellieren. Darüber hinaus war die Anwendbarkeit der EPI-Technik durch die niedrige Auflösung der Bilder sowie ihre Anfälligkeit für Artefakte eingeschränkt.

Der folgerichtige Ansatz war, wiederholt Sättigungspulse zwischen den Akquisitionen von einzelnen Schichten zu applizieren, anstatt nach einer Sättigung mehrere Schichten aufzunehmen. Dieses Verfahren führte aber zu Verzerrungen der EPI-Bilder und zeigte weiterhin Abweichungen der CEST-Effekte zwischen verschiedenen Schichten. Wiederum Sun *et al.* stellten kürzlich eine Methode vor, bei der dieses Problem durch verschieden intensive Sättigung zwischen den

Schichten überwunden werden soll [Sun et al. 2010]. Obwohl dadurch eine Angleichung der CEST-Effekte zwischen Schichten erreicht werden kann, bleiben die Nachteile der EPI-Technik weiterhin bestehen.

Um diese Nachteile zu überwinden, wurde die Sättigungspulsfolge mit einer FLASH- und einer TrueFISP-Technik kombiniert. Die TrueFISP-Technik zeigte dabei erwartungsgemäß ein höheres SNR als FLASH und kürzere Aufnahmezeiten. Darüber hinaus wiesen die z-Spektren bei Schädeluntersuchungen einen höheren dynamischen Bereich auf. Allerdings mussten aufgrund der HF-intensiven TrueFISP-Auslese geringere Sättigungsleistungen und weniger Sättigungspulse pro Partition verwendet werden, wofür angenommen werden muss, dass keine optimale Sättigung von austauschenden Pools erreicht werden konnte. Dieser Schwachpunkt sowie die Anfälligkeit von TrueFISP für Inhomogenitäten von B_0 machten eine Anwendung der Technik bei 7 T unmöglich, weswegen die folgenden Bemühungen auf die Weiterentwicklung der FLASH-Technik ausgerichtet waren.

Die Vergleichbarkeit der Sättigungszustände zwischen Partitionen sollte durch Applikation von Sättigungspulsen vor Beginn jeder Aufnahme einer Partition erreicht werden. Beim Vergleich der Asymmetriewerte von mehreren Schichten eines Volumens in homogener Modelllösung konnte gezeigt werden, dass sich die Werte zwischen den Schichten innerhalb ihrer Fehlergrenzen nicht unterscheiden, was gleiche Sättigungszustände der Pools in jeder Partition vermuten lässt. Obwohl die Pulszüge vor jeder Partition nur aus 5 bzw. 3 Pulsen bei der unsegmentierten Variante bestanden, wurden im Vergleich zu Sättigung mit 10 Pulsen und anschließender Auslese mit EPI keine signifikant geringeren Asymmetriewerte gemessen. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die wiederholte Applikation der Sättigungspulsfolge vor jeder Partition die Einstellung eines Gleichgewichts in der Magnetisierung des zu sättigenden Pools bewirkte, das sich nicht wesentlich von der Gleichgewichtssättigung nach einer Folge mit einer größeren Anzahl von Pulsen unterschied. Hier kann vermutet werden, dass sich bei den äußeren und damit zu Beginn angeregten Partitionen abhängig vom T_1 der Protonen des freien Wassers ggf. noch kein Gleichgewicht eingestellt hatte. Dies war jedoch unerheblich, da die beiden äußeren Schichten des 3D-Datensatzes aufgrund mangelndem SNRs ohnehin nicht ausgewertet wurden.

Der Zerfall von Sättigung während der Erfassung einer Partition und der damit einhergehende Kontrastverlust konnten vermieden werden, indem die k -Raumdaten einer Partition zentrisch sortiert aufgenommen wurden und die Dauer, die zur Messung einer Partition benötigt wurde, kleiner als T_1 von Wasser gewählt wurde. Die Einhaltung des letzten Kriteriums ist jedoch trotz Aufnahmebeschleunigung durch parallele Bildgebung und asymmetrischer Erfassung des Gradientenechos durch die räumliche Auflösung in einer Partition begrenzt. Um Bildauflösungen von $0,6 \times 0,6 \text{ mm}^2$ in einer Schicht zu erreichen, wurde die Aufnahme einer Partition segmentiert und die Zeilen so auf die Segmente aufgeteilt, dass die Signalaufnahme zentrisch sortiert erfolgte. Damit konnten auch Untersuchungen zur Qualität des Knieknorpels erfolgreich durchgeführt werden.

Schwachstellen der Technik sind die verhältnismäßig langen Aufnahmezeiten für komplette z-Spektren ($\gtrsim 10 \text{ min}$). Für Patientenuntersuchungen sind solche Zeiten nur bedingt realisierbar, weswegen verschiedene Schritte unternommen wurden, um die Bildakquisition weiter zu steigern: Für GRAPPA wurden Beschleunigungsfaktoren > 2 gewählt. Neben der unvollständigen Aufnahme des Gradientenechos wurde auch unvollständiges Sampling von Zeilen eingesetzt. Mit beiden Maßnahmen konnte zwar die Messzeit reduziert werden, aber keine konsistenten CEST-Effekte

mehr über ein Volumen detektiert werden. Zudem wiesen die Rohdatenbilder z.T. starke Bildartefakte auf. Da die mathematischen Formalismen, die zur Korrektur des Undersamplings verwendet werden, von einer symmetrischen Verteilung des Signals um das k -Raumzentrum ausgehen, wird der Verlauf des Signals auf eine Weise korrigiert, die nicht dem tatsächlichen Signalverlauf entspricht, das durch Relaxation mit wachsender Entfernung vom k -Raumzentrum zunehmend asymmetrisch wird. Es müssten also Anpassungen für diesen Sättigungsverlust in den Algorithmen vorgenommen werden, die zum Auffüllen der k -Raumdaten nach Undersampling verwendet werden, um diese Verfahren für CEST-Messungen einsetzen zu können. Eine weitere Maßnahme, mit der eine Beschleunigung der Bildaufnahme erreicht wurde, war die Erhöhung der Aufnahmebandbreite des Empfängers auf Werte > 200 Hz/Px. Durch die schnellere Abtastung des Signals reduzierte sich jedoch das SNR der Rohdatenbilder so drastisch, dass eine sinnvolle Auswertung der z -Spektren nicht mehr möglich war.

Kürzlich wurden vier neue CEST-Bildgebungsmethoden vorgeschlagen:

- Bei der 2D-Methode von Dixon *et al.* wird vor jeder schichtselektiven Kleinwinkel Anregung ein Sättigungspuls appliziert [Dixon et al. 2010]. Dabei erfolgt zunächst die Erfassung von einer Zeile für mehrere Schichten vor der Aufnahme der nächsten Zeile für wiederum mehrere Schichten. So soll erreicht werden, dass in jeder Schicht vergleichbare Sättigungszustände vorliegen. Dieses Verfahren ist allerdings sehr HF-intensiv und präpariert kein sauberes Sättigungsgleichgewicht.
- Eine weitere Methode nutzt eine Gradienten-Spinecho-Technik zur Signalakquisition, wobei die Akquisition eines 3D-Datensatzes in 8 Abschnitte unterteilt wird, vor denen jeweils Sättigungspulse eingestrahlt werden [Zhu et al. 2010]. Mit dieser Technik ist es innerhalb einer Aufnahmedauer von 8,7 min möglich, 25 Punkte eines z -Spektrums für einen 3D-Datensatz zu erfassen. Die Bildgebungstechnik ist jedoch sehr anfällig für B_0 -Inhomogenitäten und lässt nur grobe räumliche Auflösungen $\geq 2 \times 2$ mm² in einer Schicht zu.
- Shah *et al.* stellten eine Methode vor, die der in dieser Arbeit entwickelten TrueFISP-Technik weitgehend entspricht, wobei Experimente lediglich an einem 7-T-Tierscanner durchgeführt wurden [Shah et al. 2010]. Eine Übertragbarkeit auf klinische MR-Systeme erscheint aufgrund der SAR-Beschränkungen für Patientenuntersuchungen jedoch unwahrscheinlich und wurde bis zum Zeitpunkt der Abgabe dieser Arbeit nicht beschrieben.
- Zu nennen ist auch noch eine kürzlich vorgestellte Methode, die auf EPI- bzw. schneller Spinecho-Auslese von mehreren Schichten beruht und bei 7 T getestet wurde [Mougin et al. 2010].

Alle beschriebenen Verfahren beruhen auf der Akquisition mehrerer Punkte eines z -Spektrums, um CEST-Effekte zu messen, obwohl es theoretisch möglich ist, CEST durch Messung von zwei Punkten zu bestimmen. Dazu müsste ein Datensatz nach Sättigung auf der Resonanzfrequenz eines CEST-Pools akquiriert werden und anschließend eine Referenzmessung nach Sättigung am gleichen Offset mit umgekehrtem Vorzeichen durchgeführt werden. Dieses Experiment ist jedoch bei realen Messbedingungen aufgrund von B_0 -Inhomogenitäten nicht durchführbar.

6.3 Fehlerquellen

Durch Bewegung des zu untersuchenden Objekts innerhalb des Messvolumens während einer Untersuchung können Verschiebungen zwischen den nacheinander erfassten Datensätzen bei CEST-Messungen auftreten. Dies würde ohne Korrektur dazu führen, dass den Punkten des z-Spektrum aus einem Bildpixel Signale aus verschiedenen anatomischen Orten zugewiesen werden. Bei Schädeluntersuchungen waren solche Bewegungen im Gehirn zumeist vernachlässigbar. Bei Knieuntersuchungen treten jedoch in jeder Messungen Bewegungen auf, die für die korrekte Zuweisung von z-Spektren korrigiert werden müssen. In dieser Arbeit wurde daher erstmals eine Bildregistrierung vor der Analyse von CEST-Daten durchgeführt. Allerdings zeigten auch Untersuchungen von anderen Körperregionen, z.B. Mamma oder Prostata, die Notwendigkeit einer Bildregistrierung auf. Die Wahl eines angemessenen Registrierungsalgorithmus ist dabei abhängig vom untersuchten Objekt. Für Untersuchungen des Kniegelenks sowie der Mamma konnte erfolgreich ein nicht-rigider Ansatz verwendet werden. Für die Prostata werden derzeit noch geeignete Registrierungsverfahren evaluiert.

Nach erfolgreicher Messung und Zuordnung von z-Spektren zu Bildpixeln erfolgt eine Korrektur der erfassten Daten für Inhomogenitäten von B_0 . Mit dem verwendeten Spline-Algorithmus wurden z-Spektren ausschließlich basierend auf den vorhandenen Daten und ohne Vorkenntnisse oder Annahmen über die tatsächliche Situation korrigiert. Ein Vergleich der nach Korrektur berechneten B_0 -Karten mit Daten einer direkten Messung der räumlichen Verteilung des statischen Magnetfeldes zeigte gute Übereinstimmungen. Es wurden jedoch keine Vergleiche mit anderen beschriebenen Verfahren vorgenommen, die wie z.B. WASSR [Kim et al. 2009] auf zusätzlich gemessenen Daten beruhen oder eine direkte Anpassung der gemessenen z-Spektren an eine Modellfunktion vornehmen [Zaiß 2010]. Allerdings bewirken diese Korrekturverfahren eine Verlängerung der Messzeit bzw. eine deutliche Steigerung der Auswertzeit. Der Nachteil des nicht-parametrischen Spline-Fits ist jedoch, dass eine Verschiebung zwischen tatsächlichem Minimum und gemessenem Minimum in z-Spektren, die durch starke Asymmetrie-Effekte nahe der Wasserresonanz hervorgerufen werden kann, nicht erkannt und daher nicht kompensiert werden kann.

Im Anschluss an die Korrektur der Messdaten hinsichtlich der räumlichen Verteilung von B_0 wurden CEST-Effekte durch Analyse der Asymmetrie in z-Spektren bestimmt. Dieses Verfahren ist zwar etabliert, besitzt jedoch Nachteile, die zu einer Unterschätzung von CEST-Effekten führen können:

In Bezug auf die Wasserresonanz zeigt konventioneller MT bei *In-vivo*-Untersuchungen wie in Abschnitt 2.4.4 beschrieben eine asymmetrische Verteilung mit einem Maximum im aliphatischen, also negativen Offset-Bereich. Diese Effekte reduzieren die durch CEST-Effekte im positiven Offset-Bereich hervorgerufenen Asymmetrien. Ebenso bewirkt direkte Sättigung von Fettsignalen in einem Voxel mit hohem Fettgehalt eine Asymmetrie im Bereich der Offset-Frequenz der Protonen von freien Lipiden und verhindert damit die Asymmetrie-Auswertung bei diesem Offset mit umgekehrtem Vorzeichen. Weitere maskierende Effekte können intramolekulare NOE-Effekte sein, die Asymmetrien im negativen Offset-Bereich verursachen und besonders bei langkettigen gefalteten bzw. zyklischen Verbindungen wie Polysacchariden wirksam werden können [Ling et al.

2008b].

Ein anderes Problem tritt auf, wenn die Auflösbarkeit der Resonanzlinie eines CEST-Pools zu gering ist. Gründe können schneller chemischer Austausch, kurze T_2^* -Zeiten oder eine zu geringe Dispersion der chemischen Verschiebungen verschiedener Pools sein, die zu einer Überlappung ihrer Resonanzlinien führt. Dies ist z.B. bei gagCEST-Messungen der Fall, wo die Resonanzen der Hydroxylprotonen von GAG im Offset-Bereich < 2 ppm bei 3 T, aber auch bei 7 T nicht aufgelöst detektiert werden können. Das Problem wurde in dieser Arbeit behoben, indem die Asymmetrie-Effekte der Hydroxylprotonen über den gesamten Offset-Bereich, in dem sie Resonanzsignale produzierten, summiert wurden. Durch die Kumulierung der Asymmetrien können auch geringe Differenzen in der Konzentration von GAG potenziert und somit sichtbar gemacht werden. Vergleichbare Ansätze zur Auswertung von CEST-Effekten wurden vor Kurzem auch von anderen Arbeitsgruppen beschrieben [Shah et al. 2010; Kim et al. 2010].

Eine interessante Entwicklung, die innerhalb der Breite der Resonanzlinie eines CEST-Pools insensitiv für B_0 -Inhomogenitäten ist und Sättigungstransfer-Effekte nicht durch Asymmetrieanalyse evaluiert, wurde kürzlich vorgestellt (SAFARI für SATURATION WITH FREQUENCY ALTERNATING RF IRRADIATION, [Scheidegger et al. 2010]). Bei der SAFARI-Methode werden in einer Sättigungspulsfolge HF-Pulse mit festem Offset aber alternierendem Vorzeichen eingestrahlt. Dadurch beinhaltet das anschließend akquirierte Signal freier Wasserprotonen im übertragenen Sinne schon eine Asymmetrie-Analyse, in der sich sämtliche, symmetrisch zur Wasserresonanz auftretenden Signale egalieren.

Natürlich vermögen auch Methoden, die, wie im vorherigen Absatz beschrieben, Modellfunktionen an z-Spektren anpassen, eine Filterung der Effekte, die CEST-bedingte Signalreduktionen reduzieren, und damit eine bessere Quantifizierbarkeit von z-Spektren. Diese Fits benötigen jedoch z-Spektren mit vielen Punkten und hoher Präzision, um akkurate Ergebnisse zu liefern. Dadurch muss die Aufnahmezeit verlängert werden, was bei *In-vivo*-Untersuchungen natürlich nur eingeschränkt möglich ist.

Da alle Methoden für die CEST-Bildgebung, wenn auch verschieden stark, während der Bildauslese durch den Verlust von Sättigung durch Relaxation betroffen sind, ist diese eine wichtige, wenn auch nur schwer korrigierbare Fehlerquelle. In dieser Arbeit wurde versucht, die Auswirkungen von Relaxation bereits durch Beschleunigung der Signalakquisition zu minimieren. Von retrospektiver Korrektur der Daten wurde jedoch abgesehen, da eine Modellierung des tatsächlichen Signalverlaufs *in vivo*, der gleichzeitig durch Bildgebung und Sättigungsverlust beeinflusst ist, nur bedingt möglich ist.

6.4 Anwendbarkeit von CEST-Bildgebung

In dieser Arbeit konnte aufgezeigt werden, dass es möglich ist, CEST-Informationen aus einem Messvolumen innerhalb von klinisch machbaren Messzeiten zu erfassen. Die entwickelten Techniken wurden erfolgreich für APT-Bildgebung im Gehirn, gagCEST-Bildgebung im Knieknorpel und einen neuen CEST-Kontrast in der Mamma eingesetzt. Aufgrund der geringen Zahl von untersuchten Hirntumorpatienten konnten jedoch nur die bereits aus der Literatur [Zhou et al.

2008; Wen et al. 2010] bekannten Aussagen über den Nutzen von CEST-Bildgebung bei zerebralen Geschwulsten reproduziert, aber keine neuen Erkenntnisse gewonnen werden. Danach ist es aufgrund einer Erhöhung des intrazellulären pH-Werts bei Hirntumoren möglich, proliferative hochmaligne Anteile von anderen Tumorearealen und gesundem Gewebe abzugrenzen.

Bei APT-Bildgebung einer intrazerebralen Radionekrose konnten ebenfalls Signalveränderungen gemessen werden, die jedoch auf eine Verringerung des intrazellulären pH-Werts im Bereich der Nekrose schließen ließen. Das Verfahren könnte demnach eine neue Technik für die Differentialdiagnostik von Tumorrezidiv und Radionekrose darstellen, da in der Tumorneubildung höhere pH-Werte als in der Radionekrose erwartet werden.

Die Ergebnisse der Patientenstudie zu gagCEST-Bildgebung im Kniegelenk bei $B_0 = 7$ T zeigen, dass gagCEST-MRT eine hohe Korrelation mit den Befunden der Natrium-Bildgebung zeigt. Da ^{23}Na -Bildgebung eine Referenzmethode für die Evaluation der Proteoglykankonzentration in Knorpelgewebe ist, kann der Schluss gezogen werden, dass auch das Signal der gagCEST-MRT mit dem GAG-Gehalt im Knorpel korreliert. Eine Validierung dieses Schlusses, z.B. durch histologische Untersuchung von Knorpelbiopsien, steht allerdings noch aus. In der Studie konnte mit ^{23}Na -Bildgebung trotz längerer Messzeit nur eine geringere räumliche Bildauflösung als mit gagCEST-MRT erreicht werden, was durch die geringere Sensitivität des ^{23}Na -Kerns im Vergleich zum Proton begründet ist. Die höhere räumliche Auflösung von gagCEST-Bildern ist natürlich von Vorteil für die Detektion von kleinen Läsionen. Bei 3 T ist ^{23}Na -Bildgebung mit derzeit verfügbaren Methoden aufgrund der geringen Sensitivität des Kerns für Untersuchungen des Knieknorpels nicht sinnvoll anwendbar, während mit gagCEST auch bei dieser Feldstärke noch zuverlässige Ergebnisse erzielt werden können.

Bei Untersuchungen von Patientinnen mit Mamma-Karzinomen wurde eine neuer, vorher noch nicht beschriebener CEST-Kontrast gefunden, der die Unterscheidung von intraduktalen Karzinomen von gesundem Brustgewebe ermöglichte. Die bei 1, 3 ppm Offset von der Wasserresonanz entstehende tumorspezifische Asymmetrie wurde in einer ersten Annahme den Hydroxylgruppen von Cholinverbindungen zugeschrieben, da diese aufgrund des erhöhten Membranumsatzes in proliferierenden Zellen in erhöhter Konzentration vorliegen. Bisher durchgeführte Versuche an Modelllösungen konnten die Hypothese allerdings nicht unzweifelhaft belegen. Alternativ könnten auch Hydroxylprotonen von Metaboliten des Energiestoffwechsels, z.B. Glukose oder Polysaccharide, für den beobachteten CEST-Kontrast verantwortlich sein, da auch sie aufgrund des erhöhten Energiebedarfs von Tumoren in größerer Menge benötigt werden. Argument für diese Hypothese wären ähnliche Asymmetriewerte im Muskelgewebe bei dem genannten Offset, da dort bekanntermaßen CEST-Effekte von Glykogen beobachtet werden können [van Zijl et al. 2007].

Bei allen Messungen, egal ob *in vivo* oder *in vitro*, zeigten sich deutlich positive Auswirkungen eines höheren B_0 auf die gemessenen CEST-Effekte. Bei $B_0 = 7$ T bewirkte im Vergleich zu $B_0 = 3$ T

- das größere MR-Signal ein höheres SNR der Bilddaten,
- die größere Dispersion der chemischen Verschiebung eine höhere Selektivität der Sättigung und somit eine Reduktion der direkten Wassersättigung,

- die Verlängerung der T_1 -Relaxationszeit größere Asymmetrieeffekte aufgrund der verlängerten Lebensdauer von gesättigten Spinzuständen.

Dabei ist die Verlängerung der T_1 -Relaxationszeit der wichtigste Aspekt, der für eine Verwendung von höheren Magnetfeldern für CEST-Bildgebung spricht, da die stärkere Akkumulation von gesättigten Spins den größten Beitrag zur Messbarkeit des Effekts liefert. Allerdings treten bei der Verwendung von höheren Feldern auch verschiedene Nachteile, wie eine verringerte Homogenität der B_1 - und B_0 -Verteilung, sowie eine erhöhte Leistungsdeposition im Gewebe auf. Hier macht sich vor allem die größere Inhomogenität von B_0 bemerkbar, die dazu führen kann, dass aufgenommene Punkte eines z-Spektrums nicht ausgewertet werden können, weil die Verschiebung der Offset-Frequenzen während der Messung zu groß war.

Kapitel 7

Zusammenfassung und Ausblick

Was wir wissen, ist ein Tropfen;
was wir nicht wissen, ein
Ozean.

(Isaac Newton)

Das Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Möglichkeit, pH-gewichtete MR-Bildgebung mittels APT an klinischen Ganzkörper-MR-Tomographen durchzuführen. Die Ergebnisse haben klar gezeigt, dass dies möglich ist und die Methode vielversprechend für die Diagnostik von Hirntumoren ist. Da CEST-Messungen ohne Gabe von Kontrastmittel eine Abgrenzung von hochgradigen Hirntumoren ermöglichen, bietet sich das Verfahren insbesondere für Patienten mit bekannten Unverträglichkeiten für Kontrastmittel an. Kontrastmittelbasierte Verfahren lassen hauptsächlich auf Kapillardichte, Kapillarpermeabilität oder den Zustand der Blut-Hirn-Schranke schließen. Deswegen könnte pH-gewichtete APT-Bildgebung bei Fragestellungen besonderen Nutzen bieten, bei denen die vorher genannten Eigenschaften keine Unterscheidungskriterien sind. Das wäre z.B. bei der Differentialdiagnostik von Radionekrosen oder Pseudoprogessionen der Fall. Darüber hinaus zeigten Studien zur Progression von Gliomen unter anti-angiogener Therapie eine Reduktion der Durchblutung, die mit einer geringeren Aufnahme von Kontrastmittel verbunden war, aber nicht notwendigerweise mit einer verminderten Malignität oder Wachstumsrate des Tumors [Fellah et al. 2010; Lupo et al. 2010; Zhang et al. 2010]. Auch dort könnte CEST, weil unbeeinflusst von Perfusionsparametern, ggf. einen besseren Einblick in die Progression des Tumors unter Therapie geben. Da intrazelluläre pH-Veränderungen auch für hypoxische Areale eines Schlaganfalls beschrieben wurden, könnte APT-Bildgebung zudem in der Schlaganfalldiagnostik eingesetzt werden [Sun et al. 2007b].

Darüber hinaus wurden Methoden zur Messung von verschiedenen CEST-Effekten mit klinischen Ganzkörper-MR-Tomographen entwickelt. Alle Verfahren beruhen auf der Aufnahme von z-Spektren, aus denen CEST-Effekte nach Korrektur verschiedener Fehler und Artefakte durch Analyse der Asymmetrie extrahiert werden können. Dieses Vorgehen ist verhältnismäßig zeitaufwändig, ermöglicht aber eine retrospektive Korrektur von B_0 -Inhomogenitäten, die für eine korrekte Analyse der Asymmetrie unerlässlich ist. Die Daten eines z-Spektrums könnten ebenso mit Modellfunktionen, die eine direkte Bestimmung der Protonentransferraten einzelner Pools ermöglichen, gefittet werden. Da Messzeit-Begrenzungen bei *In-vivo*-Untersuchungen normalerweise

se die Akquisition von vielen Punkten für ein z -Spektrum verhindern, liefern derzeit existierende Verfahren nur eine geringe Präzision bei der Anpassung von Modellfunktionen an z -Spektren. Dies kann verbessert werden, indem die Datenaufnahme bei gleicher Sättigungseffizienz beschleunigt wird, was eine Erhöhung der Punktzahl in z -Spektren pro Zeiteinheit ermöglichen würde. Allerdings ist bei den in dieser Arbeit entwickelten Methoden die absehbare Steigerung der Akquisitionsgeschwindigkeit nur geringfügig. Wahrscheinlich könnte dies im Wesentlichen durch schnelleres Schalten der Hardware des Tomographen bewerkstelligt werden.

In z -Spektren sind immer sämtliche Parameter zusammengefasst, die bei der Messung von austauschenden Spinsystemen relevant sind. Viele von ihnen, wie z.B. die Relaxationszeiten der Protonen des freien Wassers oder die Verteilung von B_0 - bzw. B_1 -Feldern, können mit unterschiedlichen Genauigkeiten durch separate Messungen bestimmt werden und so die Aussagekraft von z -Spektren erhöhen. Allerdings führen diese zusätzlichen Messungen zu Verlängerungen der Messzeit und sind daher nur von sehr begrenztem Nutzen für CEST-Messungen. Eine andere Möglichkeit, die Genauigkeit von CEST-Messungen zu steigern, wäre ein Verfahren, das nicht auf Auswertung von z -Spektren beruht, sondern CEST-Effekte direkt misst, wie z.B. die SAFARI-Methode (Abschnitt 6.3). Möglichkeiten zur Optimierung von Sättigungstechniken für Untersuchungen an klinischen Tomographen sind derzeit kaum absehbar, da aufgrund der Hardware- und SAR-Begrenzungen nur geringer Spielraum besteht.

Mit den entwickelten Methoden konnten erfolgreich *In-vivo*-Untersuchungen durchgeführt und dabei diagnostisch relevante Ergebnisse erzielt werden. Besonders die Anwendbarkeit von gagCEST zur Evaluation von Knorpelqualität konnte bei 7 T aufgezeigt werden. Erste Hinweise konnten auch schon für die Nutzbarkeit der segmentierten Technik bei 3 T gefunden werden, wobei weitere Untersuchungen mit Patienten nötig sind, um die Stabilität der Methode zu belegen. Ein eindeutiger Beweis, dass Signalintensitäten von gagCEST *in vivo* mit der Konzentration von Proteoglykanen im Knorpelgewebe korrelieren, muss ebenfalls noch erbracht werden und darüber hinaus eine Korrelation mit T_2 -Karten, wie sie bei $T_{1\rho}$ -Karten auftritt, ausgeschlossen werden. Sind diese Belege eindeutig gefunden, besitzt gagCEST ein großes Potenzial, ein wichtiges Hilfsmittel für die orthopädische Diagnostik zu werden, wenn die Technik bei klinisch verwendeten Feldstärken stabil eingesetzt werden kann.

Die Technik könnte auch für die Brustkrebsdiagnostik mittels MR bedeutsam, worauf die ersten Ergebnisse hindeuten. Dabei könnte das Verfahren aufgrund seiner Nicht-Invasivität auch für Screening-Untersuchungen oder Nachsorge-Untersuchungen eingesetzt werden, die eine hohe Wiederholrate von Untersuchungen mit sich bringen. Dazu müssen im Vorfeld jedoch noch die Metaboliten identifiziert werden, die zu der charakteristischen Erhöhung der CEST-Signale im Tumor führen. Dies könnte z.B. durch hochaufgelöste MR-Spektroskopie von Gewebeproben aus Tumoren erfolgen. Im Anschluss daran müssten Sensitivität und Spezifität des untersuchten Verfahrens evaluiert werden.

Schließlich gibt es Hinweise, dass CEST durch APT-Bildgebung auch zur Diagnostik bzw. Detektion von Prostata-Karzinomen eingesetzt werden kann [Jia et al. 2009]. Die Ergebnisse konnten jedoch in Messungen zu dieser Arbeit nicht reproduziert werden, da Asymmetrieeffekte von Amidprotonen durch Effekte direkter Sättigung von Lipidsignal sehr stark gestört werden. Allerdings sollten erhöhte Konzentrationen von Cholinverbindungen in Prostatakarzinomen, ähnlich wie bei

Mamma-Karzinomen, CEST-Effekte generieren, die eine Unterscheidung zu gesundem Gewebe zulassen. Diese Hypothese ist jedoch noch nicht näher untersucht worden und es muss beachtet werden, dass bei Untersuchungen der Prostata Bewegungsartefakte in noch stärkerem Maße als bei den anderen genannten Organen korrigiert werden müssen, um eine sinnvolle Auswertung von z-Spektren vornehmen zu können.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte ein tieferes physikalisches Verständnis für CEST-Effekte gewonnen und das Potenzial von CEST für die MR-Bildgebung *in vivo* aufgezeigt werden. Es wurden Pulssequenzen entwickelt, die CEST erstmals für die klinische Anwendung verfügbar machten, und damit neue Möglichkeiten für die radiologische Diagnostik enthüllt. Die wichtigsten Eigenschaften der Technik sind, dass nicht-invasiv Informationen über den pH-Wert im Gewebe (APT) gewonnen oder z.B. durch gagCEST direkt molekülspezifische Kontraste erzeugt werden können, wodurch ein großer Vorteil gegenüber etablierten bildgebenden Verfahren besteht. Diese benötigen für die Darstellung der gleichen Parameter, sofern sie sie überhaupt darstellen können, im Normalfall invasive Hilfsmittel, wie z.B. Kontrastmittel, die wiederum für die Anwendung im Patienten/Probanden kontraindiziert sein können.

Veröffentlichungen

Teile dieser Arbeit wurden in Zeitschriftenartikeln und Konferenzbeiträgen veröffentlicht:

Zeitschriftenartikel:

- Schmitt, B., Zbyn, S., Stelzeneder, D., Jellus, V., Paul, D., Lauer, L., Bachert, P. and Tratt-nig, S.: Cartilage quality assessment using gagCEST and sodium MRI at 7T. *Radiology*, Accepted for Publication
- Schmitt, B., Zaiß, M., Zhou, J. and Bachert, P.: Optimization of pulse train pre-saturation for CEST imaging in clinical scanners. *Magn. Reson. Med.*, Epub ahead of Print: DOI: 10.1002/mrm.22750

Konferenzbeiträge:

- Schmitt, B., Stelzeneder, D., Jellus, V., Bachert, P. and Tratt-nig, S.: Cartilage quality assessment using gagCEST and ^{23}Na MRI at 7 Tesla. In: *RSNA 96th Scientific Assembly and Annual Meeting*. RSNA, Chicago, 2010, 96, 9006696
- Schmitt, B., Zaiß, M. and Bachert, P.: Optimization of pulsed saturation for CEST imaging in standard clinical MR scanners. In: *Proceedings 18th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Stockholm, 2010, 18, 2990
- Schmitt, B., Bock, M., Stieltjes, B. and Bachert, P.: A new, 3D GRE based CEST imaging method for clinical application, and verification with gagCEST in articular cartilage. In: *Proceedings 18th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Stockholm, 2010, 18, 5137
- Schmitt, B., Bock, M. and Bachert, P.: A new, GRE based volumetric CEST imaging method as an alternative to contrast enhanced MR imaging in brain and knee. In: *European Congress of Radiology*. ESR, Vienna, 2010, DOI: 10.1594/ecr2010/C-2942

Literaturverzeichnis

- Abragam, A.: *Principles of Nuclear Magnetism*. Oxford University Press, New York, 1961. Zitiert auf Seiten 5 und 94.
- Baguet, E. and Roby, C.: Off-Resonance Irradiation Effect in steady-state NMR saturation transfer. *J. Magn. Res.*, 128(2): 149–160, 1997. Zitiert auf Seite 28.
- Beck, G., Li, D., Haccke, E. M., Noll, T. G. and Schad, L. R.: Reducing Oblique Flow Effects in Interleaved EPI With a Centric Reordering Technique. *Magn. Reson. Med.*, 45: 623–629, 2001. Zitiert auf Seite 71.
- Behar, K. L. and Ogino, T.: Characterization of Macromolecule Resonance in the H-1-NMR Spectrum of Rat-Brain. *Magn. Reson. Med.*, 30(1): 38–44, 1993. Zitiert auf Seite 61.
- Bell, R. P.: *The Tunnel Effect in Chemistry*. Chapman & Hall, London, 1980. Zitiert auf Seite 18.
- Bernstein, M. A., King, K. F. and Zhou, X. J.: *Handbook of MRI Pulse Sequences*. Elsevier Academic Press, 2004. Zitiert auf Seiten 26, 47 und 94.
- Bloch, F.: Nuclear Induction. *Phys. Rev.*, 70(7-8): 460, 1946. Zitiert auf Seite 9.
- Bloch, F., Hansen, W. W. and Packard, M.: Nuclear Induction. *Phys. Rev.*, 69(3-4): 127, 1946. Zitiert auf Seite 1.
- Bloembergen, N., Purcell, E. M. and Pound, R. V.: Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption. *Physiol. Rev.*, 73: 679–712, 1948. Zitiert auf Seite 25.
- Bock, M., Schulz, J., Ueltzhoeffer, S., Giesel, F., Voth, M. and Essig, M.: Intravascular Contrast Agent T1 Shortening: Fast T1 Relaxometry in a Carotid Volunteer Study. *MAGMA*, 21(5): 363–368, 2008. Zitiert auf Seite 54.
- Bottomley, P. A.: *Selective Volume Method for Performing Localized NMR Spectroscopy and NMR Chemical Shift Imaging*. US Patent 4,480,228. 1984. Zitiert auf Seite 46.
- Carr, H. Y.: Steady-State Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance. *Phys. Rev.*, 112: 1693–1701, 1958. Zitiert auf Seite 54.
- Chefd'Hotel, C., Hermosillo, G. and Faugeras, O.: Flows of Diffeomorphisms for Multimodal Image Registration. In: *Proceedings of the IEEE International Symposium in Biomedical Ima-*

- ging*. IEEE, Washington D.C., 2002, 753–756. Zitiert auf Seite 87.
- Cooley, J. W. and Tukey, J. W.: An algorithm for the machine calculation of complex fourier series. *Mathematics of Computation*, 19: 297–301, 1965. Zitiert auf Seite 49.
- Crawley, A. P., Wood, M. L. and Henkelman, R. M.: Elimination of Transverse Coherences in FLASH MRI. *Magn. Reson. Med.*, 8: 248–260, 1988. Zitiert auf Seite 51.
- Denisov, V. P. and Halle, B.: Hydrogen Exchange and Protein Hydration: The Deuteron Spin Relaxation Dispersions of BPTI and Ubiquitin. *J. Mol. Biol.*, 245: 698–709, 1995a. Zitiert auf Seite 16.
- Denisov, V. P. and Halle, B.: Protein Hydration Dynamics in Aqueous Solution: A Comparison of Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor and Ubiquitin by Oxygen-17 Spin Relaxation Dispersion. *J. Mol. Biol.*, 245: 682–697, 1995b. Zitiert auf Seite 16.
- Dietrich, W., Bergmann, G. and Gerhards, R.: Neues Verfahren zur Bestimmung der longitudinalen Relaxationszeit in der Kernresonanzspektroskopie. *Z. Anal. Chem.*, 279: 177–181, 1976. Zitiert auf Seite 54.
- Dixon, W. T., Hancu, I., Ratnakar, S.J., Sherry, A. D., Lenkinski, R. E. and Alsop, D. C.: A Multislice Gradient Echo Pulse Sequence for CEST imaging. *Magn. Reson. Med.*, 63(1): 253–256, 2010. Zitiert auf Seite 97.
- Dudhia, J.: Aggrecan, Aging and Assembly in Articular Cartilage. *Cell. Mol. Life Sci.*, 62(19-20): 2241–2256, 2005. Zitiert auf Seite 33.
- Edzes, H. T. and Samulski, E. T.: Cross Relaxation and Spin Diffusion in Proton NMR of Hydrated Collagen. *Nature*, 265: 521–523, 1977. Zitiert auf Seite 18.
- Eigen, M.: Protonenübertragung, Säure-Base-Katalyse und Enzymatische Hydrolyse. Teil I: Elementarvorgänge. *Angew. Chem.*, 12: 489–588, 1963. Zitiert auf Seite 17.
- Eigen, M.: Proton Transfer Acid-Base Catalysis + Enzymatic Hydrolysis. I. Elementary Processes. *Angew. Chem. Intl. Ed.*, 3(1), 1964. Zitiert auf Seite 16.
- Englander, S. W., Downer, N. W. and Teitelbaum, H.: Hydrogen Exchange. *Ann. Rev. Biochem.*, 41: 903–924, 1972. Zitiert auf Seiten 17 und 18.
- Ernst, R. R., Bodenhausen, G. and Wokaun, A.: *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*. Oxford University Press, New York, 1997. Zitiert auf Seite 94.
- Fellah, S., Lefur, Y., Soulier, E., Boucard, C., Confort-Gouny, S., Chinot, O., Cozzzone, P. J., Ranjeva, J.-P. and Callot, V.: Pseudo-Tumoral Response of Glioblastoma to Anti-Angiogenic Treatment Prematurely Revealed by Using Arterial Spin-Labeling (ASL) Perfusion MRI and Susceptibility Weighted Imaging (SWI). In: *Proceedings 18th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Stockholm, 2010, 18, 2167. Zitiert auf Seite 103.

- Forsen, S. and Hoffman, R. A.: Study of Moderately Rapid Chemical Exchange Reactions by Means of Nuclear Magnetic Double Resonance. *J. Chem. Phys.*, 39(11): 2892, 1963. Zitiert auf Seite 23.
- Frahm, J., Merboldt, K. D. and Hänicke, W.: Localized Proton Spectroscopy Using Stimulated Echoes. *J. Magn. Reson.*, 72: 502–508, 1987. Zitiert auf Seite 46.
- Freeman, R. and Hill, H. D. W.: Phase and Intensity Anomalities in Fourier Transform NMR. *J. Magn. Reson.*, 4: 366–383, 1971. Zitiert auf Seite 53.
- Geen, H. and Freeman, R.: Band-Selective Radiofrequency Pulses. *J. Magn. Reson.*, 93: 93–141, 2001. Zitiert auf Seite 59.
- Glasstone, S., Laidler, K. J. and Eyring, H.: *The Theory of Rate Processes*. McGraw-Hill, New York, 1941. Zitiert auf Seite 18.
- Goffeney, N., Bulte, J. W. M., Duyn, J., Bryant, L. H. and van Zijl, P. C. M.: Sensitive NMR Detection of Cationic-Polymer-Based Gene Delivery Systems Using Saturation Transfer via Proton Exchange. *J. Am. Chem. Soc.*, 123: 8628–8629, 2001. Zitiert auf Seiten 27 und 28.
- Govindaraju, V., Young, K. and Maudsley, A. A.: Proton NMR Chemical Shifts and Coupling Constants for Brain Metabolites. *NMR. Biomed.*, 13(3): 129–153, 2000. Zitiert auf Seite 36.
- Grad, J. and Bryant, R. G.: Nuclear Magnetic Cross-Relaxation Spectroscopy. *J. Magn. Reson.*, 90(1): 1–8, 1990. Zitiert auf Seite 24.
- Graham, S. J. and Henkelman, R. M.: Understanding Pulsed Magnetization Transfer. *J. Magn. Reson. Imaging*, 7(5): 903–912, 1997. Zitiert auf Seiten 26 und 94.
- Griswold, M. A., Jakob, P. M., Heidemann, R. M., Nittka, M., Jellus, V., Wang, J., Kiefer, B. and Haase, A.: Generalized Autocalibrating Partially Parallel Acquisitions (GRAPPA). *Magn. Reson. Med.*, 47: 1202–1210, 2002. Zitiert auf Seite 73.
- Guivel-Scharen, V., Sinnwell, T., Wolff, S. D. and Balaban, R. S.: Detection of Proton Chemical Exchange between Metabolites and Water in Biological Tissues. *J. Magn. Reson.*, 133: 36–45, 1998. Zitiert auf Seiten 26, 27 und 28.
- Haacke, E. M., Brown, R. W., Thompson, M. R. and Venkatesan, R.: *Magnetic Resonance Imaging: Physical Principles and Sequence Design*. J. Wiley & Sons, New York, 1999. Zitiert auf Seite 47.
- Haacke, E. M. and Lee, J. Mitchell D.: Improved Contrast at 1.5 tesla Using Half-Fourier Imaging: Application to Spin-Echo and Angiographic Imaging. *Magn. Reson. Imag.*, 8(1): 79–90, 1990. Zitiert auf Seite 73.
- Hahn, E. L.: Spin Echoes. *Phys. Rev.*, 80(4): 580–594, 1950. Zitiert auf Seite 44.
- Helms, G. and Piringer, A.: Quantitative Magnetization Transfer by Trains of Radio Frequen-

- cy Pulses in Human Brain: Extension of a Free Evolution Model to Continuous-Wave-Like Conditions. *Magn. Reson. Imaging*, 23(6): 723–731, 2005. Zitiert auf Seite 26.
- Henkelman, R. M., Huang, X. M., Xiang, Q. S., Stanisz, G. J., Swanson, S. D. and Bronskill, M. J.: Quantitative Interpretation of Magnetization Transfer. *Magn. Reson. Med.*, 29(6): 759–766, 1993. Zitiert auf Seiten 26 und 28.
- Henkelman, R. M., Stanisz, G. J. and Graham, S. J.: Magnetization Transfer in MRI: A Review. *NMR Biomed.*, 14: 57–64, 2001. Zitiert auf Seite 18.
- Hermosillo, G., Chefd’Hotel, C. and Faugeras, O.: Variational Methods for Multimodal Image Matching. *Int. J. Comp. Vision*, 50: 329–343, 2002. Zitiert auf Seite 87.
- Hills, B. P., Cano, C. and Belton, P. S.: Proton NMR Relaxation Studies of Aqueous Polysaccharide Systems. *Macromolecules*, 24(10): 2944–2950, 1991. Zitiert auf Seite 87.
- Huppert, D., Tolbert, L. M. and Linares-Samaniego, S.: Ultrafast Excited-State Proton Transfer from Cyano-Substituted 2-Naphthols. *J. Phys. Chem. A*, 101(25): 4602–4605, 1997. Zitiert auf Seite 16.
- Iino, M.: Dynamic Properties of Bound Water Studied through Macroscopic Water Relaxations in Concentrated Protein Solutions. *Biochem. Biophys. Acta*, 1208: 81–88, 1994. Zitiert auf Seite 16.
- Jia, G., Zhou, J., Choi, S., Wei, W., Sammet, S., Liang, J., Zhang, J., Shah, Z. K., Patel, M., Abaza, R., Dangle, P., Martin, D. and Knopp, M. V.: Feasibility of Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) MRI for Prostate Cancer Detection at 3T. In: *Proceedings 17th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Honolulu, 2009, 17, 2253. Zitiert auf Seite 104.
- Jones, C. K., Schlosser, M. J., van Zijl, P. C. M., Pomper, M. G., Golay, X. and Zhou, J.: Amide Proton Transfer Imaging of Human Brain Tumors at 3T. *Magn. Reson. Med.*, 56(3): 585–592, 2006. Zitiert auf Seiten 32 und 95.
- Kakalis, L. T. and Baianu, I. C.: Oxygen-17 and Deuterium Nuclear Magnetic Relaxation Studies of Lysozyme Hydration in Solution: Field Dispersion, Concentration, pH/pD, and Protein Activity Dependencies. *Arch. Biochem. Biophys.*, 287: 829–841, 1988. Zitiert auf Seite 15.
- Kim, M., Chan, Q., Anthony, M.-P., Cheung, K. M., Samatzis, D. and Khong, P.-L.: Assessment of Glycosaminoglycan Distribution in Human Lumbar Intervertebral Discs using Chemical Exchange Saturation Transfer. In: *Proceedings 18th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Stockholm, 2010, 18, 539. Zitiert auf Seite 99.
- Kim, M., Gillen, J., Landman, B. A., Zhou, J. and van Zijl, P. C. M.: Water Saturation Shift Referencing (WASSR) for Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) Experiments. *Magn. Reson. Med.*, 61(6): 1441–1450, 2009. Zitiert auf Seite 98.
- Koenig, S. H. and Brown III, R. D.: A Molecular Theory of Relaxation and Magnetization Transfer: Application to Cross-Linked BSA, a Model for Tissue. *Magn. Reson. Med.*, 30:

- 685–695, 1993. Zitiert auf Seite 16.
- Koenig, S. H., Brown III, R. D. and Ugolini, R.: A Unified View of Relaxation in Protein Solutions and Tissue, Including Hydration and Magnetization Transfer. *Magn. Reson. Med.*, 29: 77–83, 1993. Zitiert auf Seite 16.
- Lauterbur, P. C.: Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance. *Nature*, 242(5394): 190–191, 1973. Zitiert auf Seite 1.
- Levitt, M. H.: *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance*. John Wiley & Sons, New York, USA, 2008. Zitiert auf Seite 22.
- Li, A. X., Hudson, R. H. E., Barrett, J. W., Jones, C. K., Pasternak, S. H. and Bartha, R.: Four-pool modeling of proton exchange processes in biological systems in the presence of mri-paramagnetic chemical exchange saturation transfer (paracest) agents. *Magn. Reson. Med.*, 60(5): 1197–1206, 2008. Zitiert auf Seite 28.
- Liepinsh, E. and Otting, G.: Proton Exchange Rates from Amino Acid Side Chains - Implications for Image Contrast. *Magn. Reson. Med.*, 35(1): 30–42, 1996. Zitiert auf Seite 17.
- Liepinsh, E., Otting, G. and Wüthrich, K.: NMR Observation of Individual Molecules of Hydration Water Bound to DNA Duplexes: Direct Evidence for a Spine of Hydration Water Present in Aqueous Solution. *Nucl. Acid Res.*, 20: 6549–6553, 1992a. Zitiert auf Seite 15.
- Liepinsh, E., Otting, G. and Wüthrich, K.: NMR Spectroscopy of Hydroxyl Protons in Aqueous Solutions of Peptides and Proteins. *J. Biomol. NMR*, 2: 447–465, 1992b. Zitiert auf Seite 15.
- Ling, W., Regatte, R. R., Navon, G. and Jerschow, A.: Assessment of Glycosaminoglycan Concentration *in vivo* by Chemical Exchange-Dependent Saturation Transfer (gagCEST). *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 105(7): 2266–2270, 2008a. Zitiert auf Seite 33.
- Ling, W., Regatte, R. R., Schweitzer, M. E. and Jerschow, A.: Characterization of Bovine Patellar Cartilage by NMR. *NMR Biomed.*, 21(3): 289–295, 2008b. Zitiert auf Seiten 28, 33 und 98.
- Ljunggren, S.: A simple graphical representation of Fourier-based imaging methods. *J. Magn. Reson.*, 54(2): 338–343, 1983. Zitiert auf Seite 49.
- Lohmander, L. S.: Articular Cartilage and Osteoarthritis. The Role of Molecular Markers to Monitor Breakdown, Repair and Disease. *J. Anat.*, 184(3): 477–492, 1994. Zitiert auf Seite 33.
- Lu, L., Shah, T., Griswold, M. A. and Flask, C. A.: A New, Polynomial-Based (PARA)CEST Analysis Method with B₀ Correction and Increased Sensitivity. In: *Proceedings 17th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Honolulu, 2009, 17, 183. Zitiert auf Seite 30.
- Luk Pat, G. T., Meyer, C. H., Pauly, J. M. and Nishimura, D. G.: Reducing Flow Artifacts in Echo-Planar Imaging. *Magn. Reson. Med.*, 45: 436–447, 1997. Zitiert auf Seite 71.

- Lupo, J., Cha, S., Essock-Burns, E., Butwoski, N. and Nelson, S. J.: Can Susceptibility-Weighted Imaging Determine Response to Combined Anti-Angiogenic, Cytotoxic, and Radiation Therapy in GBM Patients? In: *Proceedings 18th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Stockholm, 2010, 18, 2169. Zitiert auf Seite 103.
- Mansfield, P.: Multi-Planar Image Formation Using NMR Spin Echoes. *J. Phys. Chem.*, 10: 55–58, 1977. Zitiert auf Seiten 1 und 50.
- McConnell, H. M.: Reaction Rates by Nuclear Magnetic Resonance. *J. Chem. Phys.*, 28(3): 430, 1958. Zitiert auf Seite 19.
- McMahon, M. T., Gilad, A. A., Zhou, J., Sun, P. Z., Bulte, J. W. M. and van Zijl, P. C. M.: Quantifying exchange rates in chemical exchange saturation transfer agents using the saturation time and saturation power dependencies of the magnetization transfer effect on the magnetic resonance imaging signal (quest and ques): ph calibration for poly-l-lysine and a starburst dendrimer. *Magn. Reson. Med.*, 55(4): 836–847, 2006. Zitiert auf Seite 17.
- Mori, S., Eleff, S. M., Pilatus, U., Mori, N. and van Zijl, P. C. M.: Proton NMR Spectroscopy of Solvent-Saturable Resonance: A New Approach to Study pH Effects *in situ*. *Magn. Reson. Med.*, 40: 16–42, 1998. Zitiert auf Seite 32.
- Morrison, C. and Henkelman, R. M.: A Model for Magnetization Transfer in Tissues. *Magn. Reson. Med.*, 33(4): 475–482, 1995. Zitiert auf Seite 25.
- Mougin, O. E., Coxon, R. C., Pitiot, A. and Gowland, P. A.: Magnetization Transfer Phenomenon in the Human Brain at 7 T. *Neuroimage*, 49(1): 272–281, 2010. Zitiert auf Seite 97.
- Oppelt, A., Graumann, R., Barfuss, H., Fischer, H., Hartl, W. and Schajor, W.: FISP: eine neue schnelle Pulssequenz fuer die Kernspintomographie. *Electromedica*, 54: 15–18, 1986. Zitiert auf Seite 53.
- Otting, G., Liepinsh, E. and Wüthrich, K.: Protein Hydration in Aqueous Solution. *Science*, 254(5034): 974–980, 1991. Zitiert auf Seite 15.
- Parker, D. L., Buswell, H. R., Goodrich, K. C., Alexander, A. L., Keck, N. and Tsuruda, J. J.: The Application of Magnetization Transfer to MR Angiography with Reduced Total Power. *Magn. Reson. Med.*, 34(2): 283–286, 1995. Zitiert auf Seite 24.
- Pauly, J., LeRoux, P., Nishimura, D. and Makovski, A.: Parameter Relations for the Shinnar-LeRoux Selective Excitation Pulse Design Algorithm. *IEEE Trans. Med. Imag.*, 10: 53–65, 1991. Zitiert auf Seite 59.
- Pekar, J., Jezard, P., Roberts, D. A., Leigh, J. S., Frank, J. A. and McLaughlin, A. C.: Perfusion Imaging with Compensation for Asymmetric Magnetization Transfer Effects. *Magn. Reson. Med.*, 35: 70–79, 1996. Zitiert auf Seite 28.
- Pines, E., Magnes, B. Z., Lang, M. J. and Fleming, G. R.: Direct Measurement of Intrinsic Proton Transfer Rates in Diffusion-Controlled Reactions. *Chem. Phys. Lett.*, 281(4-6): 413–420, 1997.

Zitiert auf Seite 16.

- Portnoy, Sharon and Stanisz, Greg J: Modeling pulsed magnetization transfer. *Magn Reson Med*, 58(1): 144–155, 2007. Zitiert auf Seite 43.
- Preibisch, C. and Deichmann, R.: Influence of RF Spoiling on the Stability and Accuracy of T1 Mapping Based on Spoiled FLASH with Varying Flip Angles. *Magn. Reson. Med.*, 61(1): 125–135, 2009. Zitiert auf Seite 55.
- Proctor, W. G. and Yu, F. C.: The Dependence of a Nuclear Magnetic Resonance Frequency upon Chemical Compounds. *Phys. Rev.*, 77: 717, 1950. Zitiert auf Seite 1.
- Purcell, E. M., Torrey, H. C. and Pound, R. V.: Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid. *Phys. Rev.*, 69(1-2): 37, 1946. Zitiert auf Seite 1.
- Rabi, I. I., Zacharias, J.R., Millman, S. and Kusch, P.: A New Method of Measuring Nuclear Magnetic Moment. *Phys. Rev.*, 53: 318, 1938. Zitiert auf Seite 1.
- Reddy, R., Li, S. C., Noyszewski, E. A., Kneeland, J. B. and Leigh, J. S.: In Vivo Sodium Multiple Quantum Spectroscopy of Human Articular Cartilage. *Magn. Reson. Med.*, 38: 207–214, 1997. Zitiert auf Seite 88.
- Ross, B. D. and True, N. S.: Gas-Phase C-13 NMR-Spectra and Exchange Kinetics of N,N-Dimethylformamide. *J. Am. Chem. Soc.*, 106(8): 2451–2452, 1984. Zitiert auf Seiten VII und 21.
- Roughley, P. J.: The Structure and Function of Cartilage Proteoglycans. *Eur. Cell. Mater.*, 12: 92–101, 2006. Zitiert auf Seite 33.
- Salhotra, A., Lal, B., Laterra, J., Sun, P. Z., van Zijl, P. C. M. and Zhou, J.: Amide Proton Transfer Imaging of 9L Gliosarcoma and Human Glioblastoma Xenografts. *NMR Biomed.*, 21(5): 489–497, 2008. Zitiert auf Seite 32.
- Scheffler, K. and Lehnhardt, S.: Principles and applications of balanced SSFP techniques. *Eur. Radiol.*, 13: 2409–2418, 2003. Zitiert auf Seite 51.
- Scheidegger, R., Vinogradov, E. and Alsop, D. C.: Optimization of RF saturation to Minimize B0 Inhomogeneity Effects in Pulsed Amide Proton Transfer Imaging. In: *Proceedings 18th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Stockholm, 2010, 18, 2987. Zitiert auf Seite 99.
- Schröder, L., Schmitz, C. and Bachert, P.: Molecular Dynamics and Information on Possible Sites of Interaction of Intramyocellular Metabolites in vivo from Resolved Dipolar Couplings in Localized 1H NMR Spectra. *J. Magn. Reson.*, 171: 213–224, 2004. Zitiert auf Seite 80.
- Schroeder, L., Lowery, T. J., Hilty, C., Wemmer, D. E. and Pines, A.: Molecular Imaging Using a Targeted Magnetic Resonance Hyperpolarized Biosensor. *Science*, 314: 446–449, 2006. Zitiert auf Seite 34.

- Seeger, U., Klose, U., Mader, I., Grodd, W. and Nagele, T.: Parameterized Evaluation of Macromolecules and Lipids in Proton MR Spectroscopy of Brain Diseases. *Magn. Reson. Med.*, 49(1): 19–28, 2003. Zitiert auf Seite 61.
- Shah, T., Lu, L., Dell, K. M., Pagel, M. D., Griswold, M. A. and Flask, C. A.: CEST-FISP: A Novel Technique for Rapid Chemical Exchange Saturation Transfer MRI at 7T. *Magn. Reson. Med.*, epub ahead of print: DOI: 10.1002/mrm.22637, 2010. Zitiert auf Seiten 97 und 99.
- Sherry, A. D. and Woods, M.: Chemical Exchange Saturation Transfer Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 10: 391–411, 2008. Zitiert auf Seite 34.
- Shinnar, M., Bolinger, L. and Leigh, J. S.: The Synthesis of Soft Pulses with a Specified Frequency Response. *Magn. Reson. Med.*, 12: 88–92, 1989. Zitiert auf Seite 59.
- Silver, N. C., Lai, M., Symms, M. R., Barker, G. J., McDonald, W. I. and Miller, D. H.: Serial Magnetization Transfer Imaging to Characterize the Early Evolution of New MS Lesions. *Neurology*, 51(3): 758–764, 1998. Zitiert auf Seite 24.
- Sled, J.G. and Pike, G. B.: Quantitative Interpretation of Magnetization Transfer in Spoiled Gradient Echo MRI Sequences. *J. Magn. Reson.*, 145: 24–36, 2000. Zitiert auf Seiten 26 und 94.
- Slichter, C. P.: *Principles of Magnetic Resonance*. Springer Verlag, Berlin, 1989. Zitiert auf Seite 5.
- Solomon, I.: Relaxation Processes in a System of Two Spins. *Phys. Rev.*, 99(2): 559, 1955. Zitiert auf Seite 19.
- Stancanello, J., Terreno, E., Castelli, D., Delli, Cabella, C., Uggeri, F. and Aime, S.: Development and Validation of a Smoothing-Splines-Based Correction Method for Improving the Analysis of CEST-MR Images. *Contrast Media Mol. Imaging*, 3(4): 136–149, 2008. Zitiert auf Seite 30.
- Stanisz, G. J., Odobina, E. E., Pun, J., Escaravage, M., Graham, S. J., Bronskill, M. J. and Henkelman, R. M.: T_1 , T_2 Relaxation and Magnetization Transfer in Tissue at 3T. *Magn. Reson. Med.*, 54: 507–512, 2005. Zitiert auf Seite 13.
- Stern, O. and Frisch, R.: Über die Magnetische Ablenkung von Wasserstoffmolekülen und das Magnetische Moment des Protons. *Zeitschr. f. Phys.*, 85(1-2): 4–16, 1933. Zitiert auf Seite 1.
- Sun, P. Z., Cheung, J. S., Wang, E., Benner, T. and Sorensen, A. G.: Fast Multislice pH-Weighted Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) MRI With Unevenly Segmented RF Irradiation. *Magn. Reson. Med.*, epub ahead of Print: DOI: 10.1002/mrm.22628, 2010. Zitiert auf Seiten 26, 32 und 96.
- Sun, P. Z., Farrar, C. T. and Sorensen, A. G.: Correction for Artifacts Induced by B_0 and B_1 Field Inhomogeneities in pH-Sensitive Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST)

- Imaging. *Magn. Reson. Med.*, 58(6): 1207–1215, 2007a. Zitiert auf Seiten 28, 36 und 63.
- Sun, P. Z., Murata, Y., Lu, J., Wang, X., Lo, E. H. and Sorensen, A. G.: Relaxation-Compensated Fast Multislice Amide Proton Transfer (APT) Imaging of Acute Ischemic Stroke. *Magn. Reson. Med.*, 59(5): 1175–1182, 2008. Zitiert auf Seiten 28, 32 und 95.
- Sun, P. Z., van Zijl, P. C. M. and Zhou, J.: Optimization of the Irradiation Power in Chemical Exchange Dependent Saturation Transfer Experiments. *J. Magn. Reson.*, 175(2): 193–200, 2005. Zitiert auf Seiten 28, 31 und 65.
- Sun, P. Z., Zhou, J., Huang, J. and van Zijl, P. C. M.: Simplified Quantitative Description of Amide Proton Transfer Imaging During Acute Ischemia. *Magn. Reson. Med.*, 57(2): 405–410, 2007b. Zitiert auf Seiten 32 und 103.
- Trattnig, S., Marlovits, S., Gebetsroither, S., Szomolanyi, P., Welsch, G. H., Salomonowitz, E., Watanabe, A., Deimling, M. and Mamisch, T. C.: Three-Dimensional Delayed Gadolinium-Enhanced MRI of Cartilage (dGEMRIC) for In Vivo Evaluation of Reparative Cartilage after Matrix-Associated Autologous Chondrocyte Transplantation at 3.0T: Preliminary results. *J. Magn. Reson. Im.*, 26(4): 974–982, 2007. Zitiert auf Seite 73.
- Twieg, D.: The k-trajectory formulation of the NMR imaging process with applications in analysis and synthesis of imaging methods. *Med. Phys.*, 10(5): 610–621, 1983. Zitiert auf Seite 49.
- van Zijl, P. C. M., Jones, C. K., Ren, J., Malloy, C. R. and Sherry, A. D.: MRI Detection of Glycogen In Vivo by Using Chemical Exchange Saturation Transfer Imaging (glycoCEST). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104(11): 4359–4364, 2007. Zitiert auf Seiten 33 und 100.
- Wagner, G.: *Konformation und Dynamik von Protease-Inhibitoren: 1H NMR-Studien*. Dissertation, ETH Zürich, 1977. Zitiert auf Seite 17.
- Wang, H. Z., Riederer, S. J. and Lee, J. N.: Optimizing the Precision in T1 Relaxation Estimation Using Limited Flip Angles. *Magn. Reson. Med.*, 5: 399–416, 1987. Zitiert auf Seite 54.
- Ward, K. M., Aletras, A. H. and Balaban, R. S.: A New Class of Contrast Agents for MRI Based on Proton Chemical Exchange Dependent Saturation Transfer (CEST). *J. Magn. Reson.*, 143: 79–87, 2000. Zitiert auf Seite 33.
- Ward, K. M. and Balaban, R. S.: Determination of pH Using Water Protons and Chemical Exchange Dependent Saturation Transfer (CEST). *Magn. Reson. Med.*, 44: 799–802, 2000. Zitiert auf Seite 33.
- Wen, Z., Hu, S., Huang, F., Wang, X., Guo, L., Quan, X., Wang, S. and Zhou, J.: MR Imaging of High-Grade Brain Tumors Using Endogenous Protein and Peptide-based Contrast. *Neuroimage*, 51(2): 616–622, 2010. Zitiert auf Seiten 32, 40 und 100.
- Woessner, D. E., Zhang, S., Merritt, M. E. and Sherry, A. D.: Numerical Solution of the Bloch Equations Provides Insights Into the Optimum Design of PARACEST Agents for MRI. *Magn. Reson. Med.*, 53: 790–799, 2005. Zitiert auf Seiten 28 und 56.

- Wolff, S. D. and Balaban, R. S.: Magnetization Transfer Contrast (MTC) and Tissue Water Proton Relaxation *in Vivo*. *Magn. Reson. Med.*, 10: 135–144, 1989. Zitiert auf Seiten 18 und 24.
- Wolff, S. D. and Balaban, R. S.: NMR Imaging of Labile Proton Exchange. *J. Magn. Reson.*, 86: 164–169, 1990. Zitiert auf Seiten 2 und 28.
- Woodward, C. K. and Hilton, B. D.: Hydrogen Isotope Exchange Kinetics of Single Protons in Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor. *Biophys. J.*, 32: 561–595, 1980. Zitiert auf Seite 17.
- Wright, P. J., Mougin, O. E., Totman, J. J., Peters, A. M., Brookes, M. J., Coxon, R., Morris, P. E., Clemence, M., Francis, S. T., Bowtell, R. W. and Gowland, P. A.: Water Proton T1 Measurements in Brain Tissue at 7, 3, and 1.5 T Using IR-EPI, IR-TSE, and MPRAGE: Results and Optimization. *MAGMA*, 21(1-2): 121–130, 2008. Zitiert auf Seite 13.
- Wüthrich, K.: *NMR of Proteins and Nucleic Acids*. Wiley, New York, 1986. Zitiert auf Seite 17.
- Wüthrich, K. and Wagner, G.: Nuclear Magnetic Resonance of Labile Protons in the Basic Pancreatic Trypsin Inhibitor. *J. Mol. Biol.*, 130: 1–13, 1979. Zitiert auf Seite 17.
- Zaiß, M.: *Ein neues Modell zur Auswertung von NMR-Sättigungstransferexperimenten unter chemischem Austausch*. Diplomarbeit, Universität Heidelberg, 2010. Zitiert auf Seiten 29, 31, 56 und 98.
- Zaiß, M., Schmitt, B., Stieltjes, B. and Bachert, P.: Enhancement of MT and CEST contrast via heuristic fitting of z-spectra. In: *Proceedings 18th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Stockholm, 2010, 18, 5136. Zitiert auf Seite 28.
- Zhang, S., Winter, P., Wu, K. and Sherry, A. D.: A Novel Europium(III)-Based MRI Contrast Agent. *J. Am. Chem. Soc.*, 123: 1517–1518, 2001. Zitiert auf Seite 34.
- Zhang, W., Kreisl, T. N., Solomon, J., Reynolds, R. C., Glen, D. R., Cox, R. W., Fine, H. A. and Butman, J. A.: Effects of Bevacizumab on the Tumor Vascularity Assessed with DCE-MRI in Recurrent Anaplastic Astrocytomas. In: *Proceedings 18th Annual Meeting ISMRM*. ISMRM, Stockholm, 2010, 18, 2169. Zitiert auf Seite 103.
- Zhou, J., Blakeley, J. O., Hua, J., Kim, M., Laterra, J., Pomper, M. G. and van Zijl, P. C. M.: Practical Data Acquisition Method for Human Brain Tumor Amide Proton Transfer (APT) Imaging. *Magn. Reson. Med.*, 60(4): 842–849, 2008. Zitiert auf Seiten 32, 40 und 99.
- Zhou, J., Payen, J.-F., Wilson, D. A., Traystman, R. J. and van Zijl, P. C. M.: Using the Amide Proton Signals of Intracellular Proteins and Peptides to Detect pH Effects in MRI. *Nat. Med.*, 9(8): 1085–1090, 2003. Zitiert auf Seiten 2, 17, 26, 27, 28, 30 und 32.
- Zhou, J., Tryggstad, E., Wen, Z., Lal, B., Zhou, T., Grossman, R., Wang, S., Yan, K., Fu, D.-X., Ford, E., Tyler, B., Blakeley, J., Laterra, J. and van Zijl, P. C. M.: Differentiation Between Glioma and Radiation Necrosis Using Molecular Magnetic Resonance Imaging of Endogenous

- Proteins and Peptides. *Nat. Med.*, epub ahead of print: DOI:10.1038/nm.2268, 2010. Zitiert auf Seiten 40 und 85.
- Zhou, J. and van Zijl, P. C. M.: Chemical exchange saturation transfer imaging and spectroscopy. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 48: 109–136, 2006. Zitiert auf Seiten 17 und 67.
- Zhou, J., Wilson, D. A., Sun, P. Z., Klaus, J. A. and van Zijl, P. C. M.: Quantitative description of proton exchange processes between water and endogenous and exogenous agents for wex, cest, and apt experiments. *Magn. Reson. Med.*, 51(5): 945–952, 2004. Zitiert auf Seite 28.
- Zhu, H., Jones, C. K., van Zijl, P. C. M. and Zhou, J.: Fast 3D Chemical Exchange Saturation Transfer Imaging of the Human Brain. *Magn. Reson. Med.*, epub ahead of Print: DOI: 10.1002/mrm.22546, 2010. Zitiert auf Seiten 32 und 97.
- Zur, Y., Stokar, S. and Bendel, P.: An Analysis of Fast Imaging Sequences with Steady-State Transverse Magnetization Refocusing. *Magn Reson Med*, 6: 17–193, 1988. Zitiert auf Seite 53.
- Zur, Y., Wood, M. L. and Neuringer, L. J.: Spoiling of Transverse Magnetization in Steady-State Sequences. *Magn. Reson. Med.*, 21: 251–263, 1991. Zitiert auf Seite 52.

Danksagung

Die Anfertigung dieser Arbeit wäre ohne die Hilfe und vielfältige Unterstützung verschiedener Personen (und Institutionen) nicht möglich gewesen. Ich möchte mich daher an dieser Stelle bedanken bei

- Herrn Prof. Dr. Peter Bachert, der mir die Möglichkeit gab, diese Arbeit in seiner Arbeitsgruppe anzufertigen. Sein Interesse an den grundlegenden Prozessen von CEST und ihrer theoretischen Beschreibung sowie sein Ideenreichtum haben maßgeblich zu dem Umfang der Arbeit beigetragen. Ich bin außerdem dankbar für sein offenes Ohr, viele interessante und hilfreiche Diskussionen sowie die großzügigen Freiheiten für die Ausgestaltung der Themenbereiche.
- Prof. Dr. Uwe Oelfke für seine Bereitschaft zur Übernahme der Zweitbegutachtung meiner Arbeit.
- Prof. Dr. Dr. Wolfhard Semmler für seinen Ansporn, diese Arbeit voranzutreiben, die Möglichkeit, Ergebnisse dieser Arbeit bei verschiedenen Gelegenheiten vorzustellen, und die Möglichkeit zur Kooperation mit der Universität Wien.
- Dr. Jinuan Zhou vom Johns-Hopkins-Krankenhaus in Baltimore, USA, für die gute Zusammenarbeit und die Gelegenheit zu einem zweiwöchigen Forschungsaufenthalt in seiner Abteilung.
- allen Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe für die produktive Zusammenarbeit und das gute Arbeitsklima, insbesondere Moritz Zaiß für sein Interesse an dem Thema und die vielen interessanten Diskussionen.
- den anderen Kollegen aus der Abteilung E020, besonders Dr. Armin Nagel für die tolle Zusammenarbeit und sein Engagement in verschiedenen Projekten und Dr. Michael Bock für seine Unterstützung und die hilfreichen Tipps.
- Dr. Grzegorz Bauman, Dr. Julien Dinkel, Thomas Gaaß, Jan Kuntz, Eugenia Rerich, Tobias Rentrop und Moritz Zaiß für viele inspirierende und aufheiternde Momente.
- Dr. Bram Stieltjes, Dr. Patrik Zamecnik und Prof. Dr. Marco Essig für ihre radiologische Expertise bei verschiedenen Fragen sowie den Einsatz und die Unterstützung bei gemeinsamen Projekten.
- den Ärzten und MTAs der Abteilung E010 für die Unterstützung bei Probandenuntersuchungen, Patientenuntersuchungen und organisatorischen Problemen.

- Prof. Dr. Siegfried Trattnig und allen anderen Kollegen an der Universität Wien für die tolle Zusammenarbeit und die freundliche Aufnahme.
- Dr. Lars Lauer, Dr. Dominik Paul und Dr. Vladimir Jellus von Siemens Healthcare für die Kooperation und die konstruktiven Diskussionen.
- Sabine Fritz für ihre unermüdliche und freundliche Hilfe bei administrativen Problemen.
- Dr. Frieder Kern für die administrative Hilfe bei der Kooperation mit Siemens.
- allen Kollegen am DKFZ für die professionelle und stimulierende Arbeitsatmosphäre.
- dem DKFZ und der Helmholtz International Graduate School für die Finanzierung meiner Promotion und damit verbundenen Aufwendungen.

Mein größter Dank gilt meiner Freundin Birte und meiner Familie, ohne deren Unterstützung und deren Liebe dieser Schritt nicht möglich gewesen wäre. Außerdem möchte ich Marc, Paul-Philipp, Philipp, Alexander, Jan, Dominik, Lukas und Timo für die notwendigen kreativen Phasen danken.