

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

vorgelegt von

Dipl.-Phys. Eugenia Rerich

aus Karaganda

Tag der mündlichen Prüfung: 05.02.2015

^1H -NMR-Bildgebung von Kreatin *in vivo* mit Chemical Exchange Saturation Transfer

Gutachter: Prof. Dr. Peter Bachert
Prof. Dr. Rainer Fink

¹H-NMR-Bildgebung von Kreatin *in vivo* mit Chemical Exchange Saturation Transfer

Kreatin spielt eine wichtige Rolle im Energiemetabolismus der Zellen. Die nichtinvasive Detektion von Kreatin im lebenden Gewebe kann mit Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST)-Magnetresonanz-Bildgebung (MRI) realisiert werden. Bei CEST wird die Magnetisierung austauschender Protonen in Metaboliten selektiv gesättigt, durch anschließenden chemischen Austausch mit Wasserprotonen wird Sättigung im Pool der freien Wassermoleküle akkumuliert. Daraus resultiert eine messbare Verminderung des Wassersignals. Im Gewebe existieren diverse Metaboliten mit austauschenden Protonen – eines davon ist das Guanidinderivat Kreatin mit vier austauschenden Protonen, deren Austauschrate im *intermediate exchange regime* liegt. Um deren Austauschprozesse mit CEST zu detektieren, werden hohe Sättigungsamplituden B_1 benötigt. Dabei werden jedoch gleichzeitig auch Protonen des freien Wassers und Protonen in Makromolekülen gesättigt, welche den CEST-Effekt überlagern und sogar verfälschen. Ziel dieser Arbeit war die Korrektur solcher Einflüsse, um eine quantitative Kreatin-Bildgebung im Muskel zu realisieren. Unter Nutzung der höheren Selektivität (chemische Verschiebung) bei $B_0 = 7\text{ T}$ konnte eine korrigierte *Intermediate-exchange*-CEST-Methode entwickelt und anhand von Kreatinmodelllösungen verifiziert werden. Es zeigte sich, dass der korrigierte CEST-Effekt nicht nur unabhängig von der Wasserrelaxation ist, sondern zudem Linearitätseigenschaften besitzt, die es ermöglichen, simultan Kreatin-Konzentrations- und pH-gewichtete-Bilder zu erzeugen. Angewendet an der Wadenmuskulatur vor und während Muskelkontraktion zeigten die Methoden einen Anstieg der Kreatinkonzentration und einen leichten pH-Abfall bei Muskelarbeit. Diese Techniken ermöglichen nun ortsaufgelöste, quantitative Untersuchungen des Energiemetabolismus im lebenden Gewebe.

¹H-NMR-Imaging of creatine *in vivo* by using Chemical Exchange Saturation Transfer

Creatine is an important compound in the energy metabolism of cells. Non-invasive detection of creatine in living tissue can be realized by Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) Magnetic Resonance Imaging (MRI). CEST is based on selective saturation of exchanging protons of solute molecules followed by accumulation of saturation in the pool of free water molecules via chemical exchange, which manifests in a decreased water signal. In tissue several selective CEST effects occur which originate from exchanging protons resonating a few ppm away from water peak, e.g. the derivative of the guanidinium – creatine – with its four guanidinium protons. The detection with CEST of those exchangeable protons, with exchange rates in the intermediate exchange regime, requires high saturation amplitudes B_1 . However, these irradiation powers also label protons of free water molecules as well as immobile protons of macromolecules, which interfere and dilute the CEST effect. The purpose of this thesis was the correction of these interfering effects in order to realize quantitative imaging of creatine in tissue. By utilizing the high selectivity (chemical shift) at $B_0 = 7\text{ T}$ it was possible to establish a corrected intermediate exchange CEST method which was verified in creatine model solutions. It turned out that the corrected CEST effect is not only independent of the water relaxation, but additionally shows useful linearity features which enable to obtain creatine concentration images and pH-weighted images simultaneously. Applied to *in vivo* imaging of human calf muscle before and after exercise the methods reveal an increase of creatine levels and a small decrease of pH upon muscle contraction. These techniques will make quantitative imaging studies of the energy metabolism possible.

Для моих родителей.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Grundlagen der NMR	3
2.1	Atomkerne im äußeren Magnetfeld – Der Zeeman-Effekt	3
2.2	Makroskopische Magnetisierung	4
2.3	Zeitliche Entwicklung der Magnetisierung	5
2.4	Bloch-Gleichungen	6
2.5	Chemische Verschiebung	7
2.6	<i>In-vivo</i> -NMR-Spektroskopie	8
2.7	NMR-Bildgebung	9
2.7.1	Selektive Schichtanregung	9
2.7.2	Frequenzkodierung	9
2.7.3	Phasenkodierung	10
3	Theorie des CEST-Effektes	11
3.1	Austauschprozesse	11
3.1.1	Bloch-Solomon-Gleichungen – Kreuzrelaxation und NOE	12
3.1.2	Bloch-McConnell-Gleichungen – Chemischer Austausch	14
3.2	Das <i>In-vivo</i> -Z-Spektrum	15
3.2.1	Sättigung	15
3.2.2	Z-Spektrum und direkte Wassersättigung	16
3.2.3	Magnetisierungstransfer der semi-soliden Matrix	16
3.2.4	Kern-Overhauser-Effekte (NOE) im Z-Spektrum	17
3.2.5	CEST-Effekte	18
3.3	Abhängigkeit von CEST- und MT-Effekten von den Sättigungsparametern und der longitudinalen Relaxationszeit des Wassers	18
3.4	Lösung der Bloch-McConnell-Gleichungen	19
3.5	Effizienz der Sättigung	21
3.6	Selektivität der CEST-Peaks und Austauschbereiche	22
3.7	Z-Spektrum-Analyse	22
3.8	Metaboliten der Creatin-Kinase-Reaktion	24
4	Material und Methoden	27
4.1	Simulationen	27
4.2	Messsystem	27
4.3	CEST-Sequenz	28
4.4	Z-Spektrum	30
4.5	B_0 - und B_1 -Korrekturmethode	31
4.6	Messung der T_1 -Relaxationszeiten	31
4.7	Quantitative Auswertung der Z-Spektren	32

4.7.1	Asymmetrieanalyse	32
4.7.2	Spillover-, MT- und T_1 -Korrekturen	32
4.7.3	Kalibrierung der Konzentrationsmessung	32
4.7.4	Kalibrierung der pH-Messmethode	33
4.7.5	Fitting-Methoden	33
4.8	Modelllösungen von Kreatin	34
4.8.1	Kreatinphantom – Messung mit gepulstem Spin-Lock	34
4.8.2	Multi-Kreatin-Phantome	35
4.9	<i>In-vivo</i> -Messungen	37
4.9.1	Kreatin-CEST in der Unterarmmuskulatur – Signaloptimierung	37
4.9.2	Kreatin-CEST in der Wadenmuskulatur	37
4.10	<i>In-vivo</i> - ^{31}P -MRS	39
5	Ergebnisse	43
5.1	Kreatin-CEST mit Spin-Lock-Pulsen	43
5.2	Kreatin-CEST <i>in vivo</i> – Realisierbarkeit und Signaloptimierung mit Gauß-Pulsen	46
5.3	Die erste gepulste Steady-State-CEST-Messung <i>in vivo</i>	49
5.4	Inverse Metrik und T_1 -Kompensation am Multi-Kreatin-Phantom	50
5.5	pH-Abhängigkeit des CEST-Signals und B_1 -Optimierung	56
5.6	Kalibrierung der Konzentrationsmessung	56
5.7	Kalibrierung der pH-Messmethode – Eine konzentrationsunabhängige Methode	57
5.8	Bestimmung der Austauschrate mit dem Multi- B_1 -Fit	59
5.9	<i>In-vivo</i> -Anwendungen	62
5.9.1	Gepulste <i>In-vivo</i> -Steady-State-CEST-Messungen an der Wadenmuskulatur – in Ruhe	62
5.9.2	Gepulste <i>In-vivo</i> -Steady-State-CEST-Messungen an der Wadenmuskulatur – in Ruhe und unter Belastung	64
6	Diskussion und Ausblick	71
6.1	Parameteroptimierung	71
6.2	<i>In vitro</i> -Experimente	72
6.3	<i>In vivo</i> -Studie	74
6.3.1	pH-unabhängige Cr-Konzentration	74
6.3.2	Konzentrationsunabhängige pH-Wert-Bestimmung	74
6.3.3	Einfluss anderer Metaboliten auf den CrCEST-Kontrast	76
6.3.4	Einfluss der Perfusion auf den CEST-Effekt	76
6.4	Limitationen der CrCEST-Messung	77
6.5	Ausblick	78
7	Zusammenfassung	81
	Abbildungsverzeichnis	85
	Tabellenverzeichnis	87
	Literaturverzeichnis	89

Kapitel 1

Einleitung

Die Physiker *Felix Bloch et al.* [12] und *Edward M. Purcell et al.* [57] entdeckten 1946 als erste unabhängig voneinander die Kernresonanz (NMR) in kondensierter Materie. Die NMR-Spektroskopie fand seitdem immer neue Anwendungsmöglichkeiten in der Physik und Chemie zur Analyse chemischer Eigenschaften und des strukturellen Aufbaus von Kernen, Atomen und Molekülen und wurde schließlich auch *in vivo* zur diagnostischen Bildgebung in der Medizin (Magnetresonanztomographie, MRT) eingesetzt. Die MR-Bildgebung (MR-Imaging, MRI) beruht auf dem Prinzip, dass zwischen unterschiedlichen Geweben, bedingt durch die magnetischen Eigenschaften der Protonen freier Wassermoleküle, Kontraste erzeugt werden können. Damit ist es mittlerweile möglich, nicht nur morphologische, sondern auch physiologische Parameter zu bestimmen. Auf der Suche nach neuen Kontrastmechanismen in der MRT schlugen *Wolff* und *Balaban* 1990 vor, den chemischen Austausch von schwach gebundenen Protonen bestimmter Moleküle mit den Protonen der freien Wassermoleküle zu nutzen, um Informationen über das chemische Milieu und die Moleküle zu erhalten [97]. Der CEST-Kontrast war entdeckt: Durch frequenzselektive Anregung kann die Magnetisierung der labilen niedrig konzentrierten Protonen annulliert (gesättigt) werden und man beobachtet indirekt den Austausch der Protonen und somit den Transfer der Sättigung auf den Wasserpool als Reduktion des Wassersignals, welches der ^1H -MRT mit hoher Auflösung und schneller Akquisition zugänglich ist. Aus der Temperatur- und pH-Abhängigkeit des Austauschs lassen sich Gewebeinformationen auf molekularer Ebene folgern und zwar ohne den Einsatz von radioaktiven Markierungssubstanzen. In den letzten Jahren wurden viele exogene (PARACEST [73], DIACEST [92]) und endogene CEST-Agentien untersucht. Die bekanntesten CEST-Veröffentlichungen mit endogenen Metaboliten sind wohl die von *Zhou et al.* zum Amidprotonentransfer (APT) [109, 110]. Desweiteren wurden erfolgreiche gagCEST (Target: Glykosaminoglykane) [48, 70, 76], glycoCEST (Target: Glykogen und Glucose) [16, 91, 113], GluCEST (Target: Glutamat) [15, 74], myo-Inositol-CEST (Target: myo-Inositol) [27] und CrCEST (Target: Kreatin (Cr)) [28, 45] -Experimente und -Studien durchgeführt.

In-vivo-CEST-Imaging zeigte einen neuen Kontrast in Hirntumoren [40, 109], Brust- [22, 69] und Prostatakarzinomen [35]. Die Technik wurde auch bei Schlaganfall [83, 84], Alzheimer [29] und Arthrose [48, 70] eingesetzt. Erste CrCEST-Messungen, um die es in dieser Arbeit geht, wurden an der Wadenmuskulatur [44, 45], am Herzen [27] und im Gehirn [14] durchgeführt.

Als eines der wichtigen Metaboliten des Energiestoffwechsels kann das Kreatin mit seinen labilen Aminprotonen in CEST-Experimenten als ein Marker der Muskelenergetik verwendet werden. Aufgrund seiner Austauschrate im mittleren Austauschbereich (*intermediate exchange regime*) kann es von den anderen Metaboliten, die an der Creatin-Kinase-Reaktion beteiligt sind, isoliert betrachtet werden [28]. Verglichen mit der 31-Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie (^{31}P -MRS), die eine geringe Auflösung und Selektivität bietet, kann das freie Kreatin mit der CEST-MR-Bildgebung mit einer hohen Ortsauflösung detektiert werden. Bis jetzt war eine

Detektion des freien Kreatins nie möglich – mit der ^1H (1-Wasserstoff)-MRS misst man immer das zusammengesetzte Signal von Phosphokreatin (PCr) und Kreatin (Cr). Wie schon von [44, 45] und später in dieser Arbeit gezeigt wird, lassen sich die Aminprotonen im ruhenden und kontrahierenden Muskel der Wade detektieren. CrCEST im Myocard ist ebenfalls vom großen Interesse. Herzfunktion und -morphologie werden mit verschiedenen Techniken der MR-Bildgebung untersucht [5, 6, 9]. Um die Herzmuskelfunktion zu studieren, werden in der Nuklearmedizin 2-Fluor-2-desoxy-D-glucose eingesetzt, um den Glukosemetabolismus zu detektieren [7] oder Technetium (^{99m}Tc) Sestamibi, um Mitochondrien zu identifizieren [8, 19]. Die Creatin-Kinase-Reaktion spielt auch in Herzmuskelzellen eine wichtige Rolle. Während einer Ischämie werden PCr-Vorräte zur Produktion von Adenosin-5'-Triphosphat (ATP) verstärkt bereitgestellt. Ein Herzinfarkt resultiert aus einem aufgebrauchten PCr-Reservoir [23]. Eine geringere Cr-, PCr- und ATP-Konzentration wurde in Patienten mit Herzinsuffizienz [10], Kardiomyopathie [55] und Diabetis [52] festgestellt, was im Endeffekt zu einer kontraktilen Fehlfunktion führen kann, da die Energiebereitstellung gestört ist. Somit ist die Detektion der Metaboliten der Creatin-Kinase-Reaktion von großer Bedeutung und CrCEST stellt eine zusätzliche nichtinvasive Messmethode dar. *Haris et al.* [30] haben zum ersten Mal Aminprotonen des Kreatins in CEST-Tierexperimenten an gesunden Herzen und an Infarktherzen detektiert.

Der pH-Wert ist ein wichtiger Marker für pathologische Veränderungen und Krankheitsprozesse. Nichtinvasiv kann man diesen nur mit der ^1H - und ^{31}P -MRS messen [65]. Der direkte Einfluss von pH-Änderungen auf den chemischen Austausch und die hohe Ortsauflösung machen CEST zu einer vielversprechenden Methode die pH-Veränderungen *in vivo* zu detektieren. Ansätze die Veränderungen zu quantifizieren finden sich in [81, 93].

Ein CEST-Kontrast ist aber nicht einfach zu interpretieren. *In vivo* existieren weitere Magnetisierungstransferprozesse teilweise parallel zu dem beobachteten Sättigungstransfer durch den chemischen Austausch von Protonen: Magnetisierungstransfer (MT) von Makromolekülen, Kern-Overhauser-Effekte (NOE), chemische Austauschprozesse anderer chemischer Gruppen und direkte Wassersättigung (Spillover) beeinflussen als Superposition verschieden stark ausgeprägter Peaks den CEST-Effekt. Zusätzlich sind alle diese Effekte von der Stärke des B_1 Hochfrequenz (HF)-Feldes abhängig. In allen bis jetzt veröffentlichten CEST-Studien werden diese Störeffekte nur teilweise korrigiert.

In dieser Arbeit wird die von *Zaiss* [102] entwickelte Spillover-, MT- und T_1 -Korrektur am Kreatin im *Intermediate-exchange*-Bereich *in vitro* und *in vivo* angewendet und eine Quantifizierung von Kreatin *in vivo* angestrebt. Diese inverse Metrik wurde von *Zaiss et al.* bis jetzt nur im *slow exchange* Bereich jeweils an Kreatin-Modelllösungen (Phantome) und in *In-vivo*-Amidprotontransfer-CEST überprüft [107]. Nach Machbarkeits- und Optimierungs-*In-vitro* und -*In-vivo*-Messungen mit der gepulsten Steady-State-CEST-Sequenz wurden Experimente bei physiologischen Bedingungen an Kreatin-Modelllösungen durchgeführt und mit der inversen Metrik auf Spillover-, MT- und T_1 -Einflüsse korrigiert. Zwei Methoden resultieren aus dem *AREX* (*apparent exchange-dependent relaxation*)-Kontrast der inversen Metrik, die jeweils eine Kalibrierung der Konzentrations- und der pH-Wert-Messung des Kreatins ermöglichen. Bei Anwendung auf CEST-Daten der Wadenmuskulatur gesunder Probanden erhält man jeweils einen pH-unabhängigen Konzentrationskontrast und einen konzentrationsunabhängigen pH-gewichteten Kontrast von Kreatin, der sich während der Muskelkontraktion, wie erwartet, aufgrund der Creatin-Kinase-Reaktion ändert.

Einige Abschnitte dieser Arbeit wurden schon in [60, 61, 62, 63] publiziert.

Kapitel 2

Grundlagen der NMR

In diesem Kapitel werden die wichtigsten physikalischen Zusammenhänge der Kernspinresonanz (Nuclear Magnetic Resonance (NMR)), sowie kurz die ^{31}P -NMR-Spektroskopie beschrieben. Für ein tieferes Verständnis der kernmagnetischen Resonanz sei auf die Literatur von [2, 25, 26, 58, 78] verwiesen. Zum Teil wurde dieses Kapitel schon in [60] publiziert.

2.1 Atomkerne im äußeren Magnetfeld – Der Zeeman-Effekt

Atomkerne mit einer ungeraden Anzahl von Protonen und/oder Neutronen besitzen einen nicht verschwindenden Kernspin \vec{I} . Dieser ist, wie jeder Drehimpuls im atomaren und subatomaren Bereich, gequantelt und genügt der quantenmechanischen Drehimpulsalgebra. Wendet man die kommutierenden Operatoren \hat{I}_z und \hat{I}^2 auf den Eigenzustand $|I, m\rangle$ an, so erhält man als Eigenwerte und damit Messwerte des Systems:

$$\hat{I}^2 |I, m\rangle = \hbar^2 I(I+1) |I, m\rangle \quad (2.1)$$

$$\hat{I}_z |I, m\rangle = \hbar m |I, m\rangle . \quad (2.2)$$

Der Kernspin ist über das kernspezifische gyromagnetische Verhältnis γ mit dem magnetischen Kernmoment $\vec{\mu}$ verbunden

$$\hat{\vec{\mu}} = \gamma \hat{\vec{I}} . \quad (2.3)$$

Quantenmechanisch wird die Wechselwirkung des magnetischen Moments mit einem externen Magnetfeld $\vec{B} = (0, 0, B_0)$ durch folgenden Hamiltonoperator beschrieben:

$$\hat{H}_Z = -\hat{\vec{\mu}} \cdot \vec{B} = -\gamma \hat{I}_z \cdot B_0 . \quad (2.4)$$

Bei statischen Magnetfeldern gilt die zeitunabhängige Schrödingergleichung

$$\hat{H}_Z |I, m\rangle = E_m |I, m\rangle . \quad (2.5)$$

Vergleicht man Gleichung 2.2 und 2.4 miteinander, so sieht man, dass die Eigenzustände von \hat{H}_Z gleich den Drehimpulseigenzuständen $|I, m\rangle$ sind. Die Energieeigenwerte E_m der verschiedenen Zustände sind somit

$$E_m = -\gamma \hbar m B_0 , \quad (2.6)$$

mit der magnetischen Quantenzahl $m = -I, -I+1, \dots, I-1, I$. Man bezeichnet diese durch ein äußeres Magnetfeld aufgehobene Entartung der Zustände als Zeeman-Effekt (Abb. 2.1). Die Energiedifferenz der $2I+1$ äquidistanten Niveaus beträgt

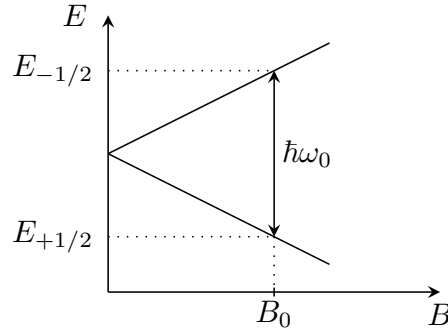


Abbildung 2.1: Zeeman-Aufspaltung der Spinzustände eines Spin- $\frac{1}{2}$ -Kerns im statischen Magnetfeld. Die Energieaufspaltung steigt proportional zur magnetischen Feldinduktion B_0 an.

$$\Delta E = \hbar\gamma B_0 = \hbar\omega_0. \quad (2.7)$$

Übergänge zwischen den Energieniveaus können durch ein zusätzliches zeitabhängiges elektromagnetisches Hochfrequenzfeld, welches mit dem magnetischen Moment wechselwirkt, induziert werden. Ein-Quanten-Kohärenzen entsprechen Übergängen zwischen benachbarten Energieniveaus, also jenen, die die Auswahlregel $\Delta m = \pm 1$ erfüllen.

2.2 Makroskopische Magnetisierung

Die magnetischen Momente von N Atomkernen mit Kernspin I einer makroskopischen Probe sind im feldfreien Raum völlig ungeordnet. Im homogenen Magnetfeld existieren $2I + 1$ diskrete Energiezustände. Die Besetzungswahrscheinlichkeit der Energieniveaus beschreibt man mit der Boltzmann-Statistik. Für das Niveau m ist diese Wahrscheinlichkeit

$$p_m = \frac{1}{Z} e^{-E_m/kT}, \quad (2.8)$$

mit $Z = \sum_{m=-I}^I e^{-E_m/kT}$ als Zustandssumme des Systems. Bei Raumtemperatur lässt sich die Exponentialfunktion wegen $\gamma\hbar B_0 \ll kT$ durch die ersten Terme der Taylor-Reihe annähern (Hochtemperaturnäherung):

$$p_m \approx \frac{1 + \frac{\gamma\hbar m B_0}{kT}}{\sum_{m=-I}^I (1 + \frac{\gamma\hbar m B_0}{kT})} = \frac{1 + \frac{\gamma\hbar m B_0}{kT}}{2I + 1} \quad \text{mit} \quad \sum_{m=-I}^I m = 0. \quad (2.9)$$

Mithilfe von 2.2 und 2.3 lässt sich nun der Erwartungswert der z -Komponente des magnetischen Moments berechnen:

$$\langle \hat{\mu}_z \rangle = \gamma \langle \hat{I}_z \rangle = \gamma\hbar \sum_{m=-I}^I m p_m = \gamma\hbar \sum_{m=-I}^I m \frac{1 + \frac{\gamma\hbar m B_0}{kT}}{2I + 1} = \frac{\gamma\hbar}{2I + 1} \frac{\Delta E_m}{kT} \sum_{m=-I}^I m^2. \quad (2.10)$$

Mit $\sum_{m=-I}^I m^2 = \frac{1}{3} I(I + 1)(2I + 1)$ erhält man für die makroskopische Magnetisierung der Probe

$$M_0 = \sum_{i=1}^N \frac{\langle \mu_z \rangle_i}{V} = \frac{N\gamma^2 \hbar^2 I(I + 1) B_0}{3kTV}. \quad (2.11)$$

Der Kern des Wasserstoffatoms ist 1 Proton und hat im Grundzustand den Kernspin $I = \frac{1}{2}$ mit $m = \pm\frac{1}{2}$ in Einheiten von \hbar . Für dieses Spin- $\frac{1}{2}$ -System kann man aus der Boltzmann-Verteilung

$$N_i = N \frac{e^{-E_i/kT}}{\sum_{j=1}^{N_E} e^{-E_j/kT}} \quad (2.12)$$

das Besetzungszahlverhältnis

$$\frac{N_{-1/2}}{N_{+1/2}} = e^{-\gamma\hbar B_0/kT} \quad (2.13)$$

ausrechnen. Mit $\gamma = 2.68 \cdot 10^8 \text{ rad T}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $\hbar = 1.05 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$ und $k = 1.38 \cdot 10^{-23} \text{ J/K}$ erhält man bei einer Feldstärke von 1.5 T und $T = 310 \text{ K}$ einen Besetzungszahlunterschied in der Größenordnung von 10^{-6} . Obwohl sich die Besetzungszahlen der beiden Niveaus nur wenig unterscheiden, bildet sich trotzdem aufgrund der hohen Teilchenzahl ($\approx 6.6 \cdot 10^{19}$ Protonen pro mm^3 in reinem Wasser) eine makroskopische Magnetisierung aus und damit im NMR-Experiment ein messbares Signal.

2.3 Zeitliche Entwicklung der Magnetisierung

Unter der Annahme, dass zwischen den magnetischen Momenten der N Spins im Probenvolumen V keine oder nur schwache Wechselwirkung herrscht, kann die zeitliche Entwicklung des Erwartungswertes des Operators des magnetischen Moments $\hat{\mu}$ in einem Magnetfeld im Heisenberg-Bild folgendermaßen berechnet werden:

$$\frac{d}{dt} \langle \hat{\mu} \rangle = -\frac{i}{\hbar} \langle [\hat{\mu}, \hat{H}] \rangle. \quad (2.14)$$

Unter Verwendung der Vertauschungsrelationen und mit $\vec{M} = N \langle \hat{\mu} \rangle$ ergibt sich aus Gleichung 2.14 die Bewegungsgleichung der Magnetisierung im Laborsystem zu

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

Die Gleichung 2.15 beschreibt eine Kreiselbewegung von \vec{M} um die Achse \vec{B} . Speziell für ein statisches Magnetfeld $\vec{B} = (0, 0, B_0)$ präzediert die Magnetisierung mit der Larmorfrequenz $\omega_L = \gamma B_0$ um die z -Achse, falls \vec{M} und \vec{B} nicht parallel sind. Um ein Messsignal zu erzeugen, wird dem \vec{B} -Feld ein Hochfrequenzfeld

$$\vec{B}_1 = B_1 \begin{pmatrix} \cos(\omega_{HF} \cdot t) \\ \sin(\omega_{HF} \cdot t) \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.16)$$

überlagert. Für eine vereinfachte Darstellung der Dynamik der Magnetisierung transformiert man das Koordinatensystem in ein rotierendes System ($x', y', z' = z$) und erhält

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

Ist die Resonanzbedingung $\omega_{HF} = \omega_L = \gamma B_0$ erfüllt, so wirkt auf das magnetische Moment im rotierenden System nur noch ein konstantes Feld in x' -Richtung, um welches \vec{M} mit der

Frequenz $\omega_1 = \gamma B_1$ präzediert. Je nach Dauer t_p des eingestrahnten Pulses, können beliebige Drehwinkel (*Flipwinkel*)

$$\alpha = \int_0^{t_p} \gamma B_1(\tau) d\tau \quad (2.18)$$

der Magnetisierung erzeugt werden. Hat B_1 während der Einstrahlzeit eine konstante Amplitude, dann ist $\alpha = \gamma B_1 t_p$. Nach Ablauf von t_p präzediert die Magnetisierung wieder um das statische Magnetfeld B_0 . Gleichzeitig setzen Relaxationsprozesse ein, die im nächsten Abschnitt beschrieben werden.

2.4 Bloch-Gleichungen

Experimentell stellte man fest, dass die Magnetisierung nach der HF-Anregung keine permanente Kreiselbewegung ausführt, sondern ihre Transversalkomponenten exponentiell zerfallen und die Longitudinalkomponente exponentiell wächst. *Felix Bloch* [12] hat als erster diese Phänomene berücksichtigt und die Bewegungsgleichung 2.15 um die sogenannten Relaxationsterme erweitert:

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B})_x - \frac{M_x}{T_2} \quad (2.19)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B})_y - \frac{M_y}{T_2} \quad (2.20)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B})_z - \frac{M_z - M_0}{T_1} . \quad (2.21)$$

T_1 nennt man die *Spin-Gitter-Relaxationszeit*. Sie beschreibt den Anstieg bis zum thermischen Gleichgewichtswert der Longitudinalkomponente der Magnetisierung. Ursache dieses Prozesses ist die Wechselwirkung der Spins mit dem Gitter (ihrer magnetischen Umgebung). Die Wechselwirkung der einzelnen Spins untereinander wird durch die *Spin-Spin-Relaxationszeit* T_2 charakterisiert. Integriert man die Blochgleichungen (2.19-2.21) für ein statisches Feld über das Zeitintervall t_0 bis t , so erhält man für die beiden Komponenten

$$M_{tr}(t) = M_{tr}(0) e^{i\omega_0 t} e^{-t/T_2} \quad (2.22)$$

$$M_z(t) = M_0 - (M_0 - M_z(0)) e^{-t/T_1} . \quad (2.23)$$

$M_z(0)$ und $M_{tr} = M_x + iM_y$ sind die Komponenten des Systems vor Einsetzen der T_1 - bzw. T_2 -Relaxation. Der Zerfall der transversalen Magnetisierung ist in der Abnahme der induzierten Spannung in der Empfangsspule sichtbar. Diesen Vorgang bezeichnet man als freien Induktionszerfall (FID) (Abbildung 2.2). In Tabelle 2.1 sind typische Werte für Relaxationszeiten im menschlichen Gewebe aufgelistet. Im realen Experiment fällt das FID-Signal mit der schnelleren effektiven Relaxationszeit T_2^* ab. Ursachen dafür sind Magnetfeldinhomogenitäten und Suszeptibilitätsveränderungen. Die exponentiell abfallende Schwingung hat ein lorentzförmiges Frequenzspektrum, welches das NMR-Spektrum eines Spinsystems mit einer bestimmten Larmorfrequenz (Zentralfrequenz der Lorentzlinie) bildet. Im Folgenden zeigt sich, dass im NMR-Spektrum jedoch Resonanzen von Protonen mit unterschiedlicher Larmorfrequenz trotz gleichen Grundmagnetfeldes auftreten.

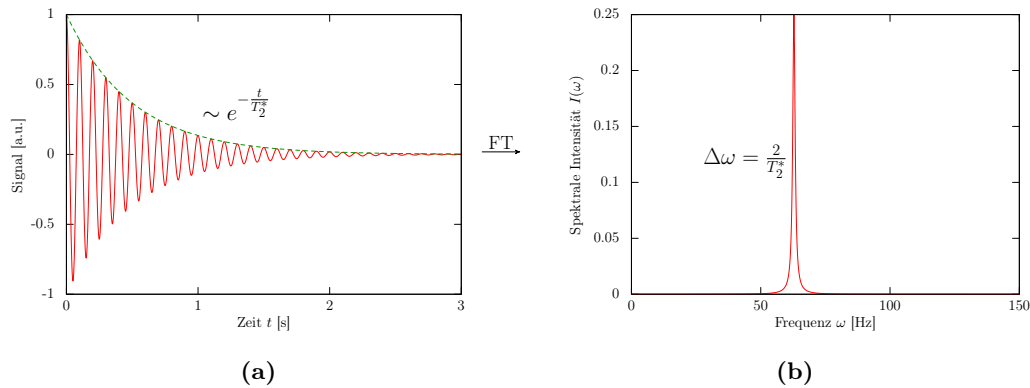


Abbildung 2.2: Zeitlicher Verlauf des FID-Signals mit Relaxation. Durch Fouriertransformation (FT) des Signals in der Zeitdomäne (a) erhält man einen lorentzförmigen Intensitätsverlauf (FWHM $\Delta\omega_{\frac{1}{2}} = \frac{2}{T_2^*}$) in der Frequenzdomäne (b).

Gewebe	T_1 [ms]	T_2 [ms]
Weißer Hirnschicht	1048 ± 45	69 ± 3
Graue Hirnschicht	1820 ± 114	99 ± 7
Liquor	4500	2200
Muskel	1412 ± 13	50 ± 4
Blut	1932 ± 85	275 ± 50

Tabelle 2.1: Typische T_1 - und T_2 -Relaxationszeiten im Körper des Menschen bei $B_0 = 3\text{ T}$ [80].

2.5 Chemische Verschiebung

Bisher wurden nur freie Protonen betrachtet. Bei molekular gebundenen Kernen bewirkt die Abschirmung durch die Elektronenhülle eine Schwächung des äußeren Feldes B_0 um δB . Der Protonenspin wechselwirkt also in Wahrheit mit einem lokalen Magnetfeld $B_{loc} = B_0 + \delta B$. Abhängig von der chemischen Umgebung der Atome und von der Struktur der Moleküle spüren deren Protonen ein geringfügig unterschiedliches äußeres Magnetfeld und besitzen folglich eine um $\delta\omega = \gamma\delta B$ verschobene Resonanzfrequenz. Man spricht von einer chemischen Verschiebung (*chemical shift*), die als feldunabhängiges Frequenzverhältnis in „parts per million“ (ppm, d.h. Hz/MHz) angegeben wird:

$$\delta[\text{ppm}] = \frac{\omega - \omega_{ref}}{\omega_{ref}} \cdot 10^6. \quad (2.24)$$

Als Referenzfrequenz ω_{ref} wählt man in der ^1H -NMR üblicherweise die Larmorfrequenz des Singulets der Protonen der 4 Methylgruppen von Tetramethylsilan (TMS, $\delta = 0$). Der Chemical-Shift-Effekt wird auch bei anderen Kernen mit Spin $\neq 0$ beobachtet, zum Beispiel bei ^{13}C , ^{19}F , ^{23}Na und ^{31}P . Konventionsgemäß wird die chemische Verschiebung in einem NMR-Spektrum von links nach rechts abfallend aufgetragen. Die Verschiebung der Protonen vom freien Wasser beträgt $\delta = 4.7\text{ ppm}$ relativ zu TMS. Beim Magnetisierungstransfer bzw. *Chemical Exchange Saturation Transfer* (CEST) stellen anstatt TMS die Wasserprotonen die Referenzfrequenz mit $\delta = 0$. Dabei spricht man bei einer chemischen Verschiebung eines Protonenpools von seinem *Frequenz-Offset* relativ zu der Wasserprotonenfrequenz ($\delta = 0$).

2.6 *In-vivo*-NMR-Spektroskopie

Die Magnetresonanzspektroskopie ist mit allen Kernen realisierbar, die ein magnetisches Moment besitzen. Folgende metabolisch wichtige Atomkerne, die diese Eigenschaft erfüllen, sind für die Anwendung *in vivo* interessant: Wasserstoff-1 (^1H), Phosphor-31 (^{31}P), Kohlenstoff-13 (^{13}C) und Natrium-23 (^{23}Na). In dieser Arbeit betrachte ich Systeme mit ^1H - und ^{31}P -Kernen.

In-vivo- ^1H -NMR-Spektrum

Im biologischen Gewebe sind Protonen unterschiedlicher chemischer Verbindungen vorhanden. Daher enthält ein *In-vivo*- ^1H -NMR-Spektrum zahlreiche Resonanzlinien. Das dominante Signal der Wasserprotonen bei 4.7 ppm kann durch einen vorgeschalteten selektiven Sättigungspuls unterdrückt werden, sodass die Resonanzen der, verglichen mit dem Wasser, gering konzentrierten Metaboliten aufgelöst werden können. In Abbildung 2.3 ist ein *In-vivo*- ^1H -

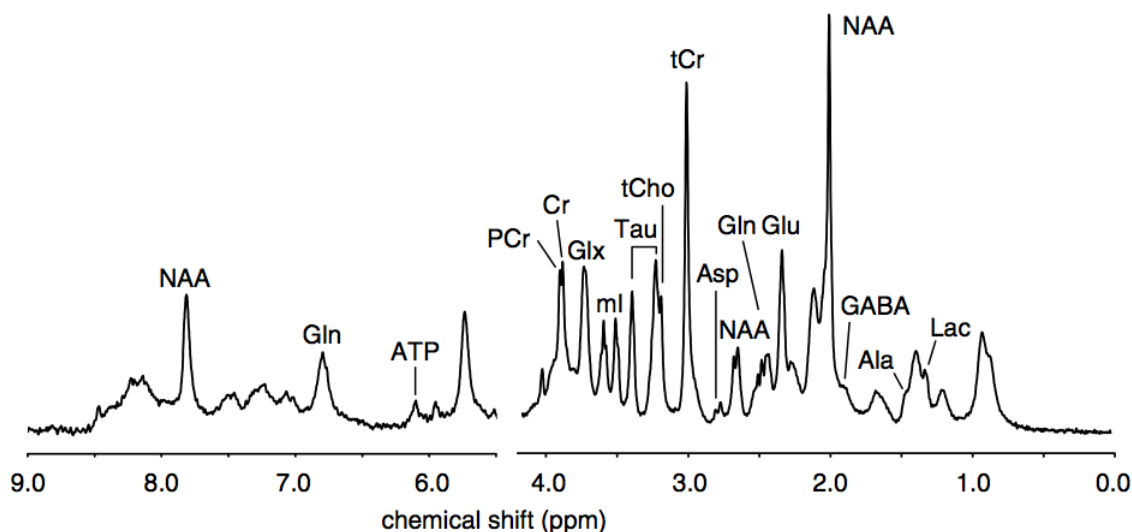


Abbildung 2.3: ^1H -NMR-Spektrum des Gehirns einer Ratte *in vivo* bei $B_0 = 11.75\text{ T}$ ohne Wasserstoffsignalunterdrückung. Die sehr gute spektrale Auflösung bei hohen Magnetfeldern erlaubt eine Auflösung von über 15 Metaboliten. (Abbildung und Beschreibung übernommen mit freundlicher Genehmigung von *de Graaf*, *In vivo NMR spectroscopy. Principles and techniques*. Chichester, UK: John Wiley; 2007. Copyright © 2007 John Wiley & Sons, Ltd [25].)

NMR-Spektrum des Gehirns einer Ratte dargestellt. Da fast alle Metaboliten und Biomoleküle Wasserstoffprotonen enthalten, erhält man mit der ^1H -NMR-Spektroskopie durch die Analyse der Intensitätsverhältnisse bestimmter Resonanzfrequenzen Aufschluss über den Metabolismus im Gewebe und mögliche Pathologien.

In-Vivo- ^{31}P -NMR-Spektroskopie

Das gyromagnetische Verhältnis von ^{31}P -Kernen ist $\gamma_{^{31}\text{P}} = 1.08 \cdot 10^8\text{ rad T}^{-1}\text{ s}^{-1}$, ihre natürliche Häufigkeit ist 100 %. Aufgrund der großen chemischen Verschiebung ist, trotz der niedrigen relativen Sensitivität der ^{31}P -Kerne *in vivo* (0.0665 gegenüber 1 für ^1H) eine sehr gute spektrale Auflösung der Resonanzen auch bei niedrigen Magnetfeldern möglich. Die

^{31}P -NMR-Spektroskopie liefert Informationen über die Metaboliten, die am Energiestoffwechsel beteiligt sind und den intrazellulären pH. Je nach chemischer Umgebung wird die Elektronenhülle der Sauerstoffatome der Phosphatgruppe zu den ^{31}P -Kernen hin- oder von ihr weggezogen. „Entsprechend ändert sich auch die Abschirmung der ^{31}P -Kerne durch die Elektronenhülle je nach Protonierungszustand der Phosphatgruppe.“ [47, S. 13] [54] „Dieser Effekt kann für eine zuverlässige Bestimmung des pH-Werts genutzt werden.“ [47, S. 13] [54]

2.7 NMR-Bildgebung

Überlagert man dem homogenen Grundmagnetfeld \vec{B}_0 ein magnetisches Zusatzfeld (*Gradientenfeld*) mit einer definierten Ortsabhängigkeit, so wird die Larmorfrequenz des Kernresonanzsignals eine Funktion des Ortes und die Spinpakete können lokalisiert werden. Die Vektoren der drei zur Signalkodierung verwendeten Gradientenfelder zeigen in Richtung des Grundmagnetfeldes und ihre Feldstärke hängt linear von der jeweiligen Ortskoordinate im Messvolumen ab. Technisch werden die Gradientenfelder durch drei Gradientenspulen erzeugt, die unabhängig voneinander angesteuert werden können. Mit Hilfe der Gradientenfelder kann man selektiv die Kernspins in einer Schicht des Messobjekts anregen (falls simultan ein HF-Puls eingestrahlt wird) und eine Ortskodierung (Frequenz- und Phasenkodierung) innerhalb einer Schicht oder eines Volumens vornehmen.

2.7.1 Selektive Schichtanregung

Um die Kernspins in einer bestimmten Körperschicht selektiv anzuregen, überlagert man dem statischen Magnetfeld senkrecht zur Schichtebene, zum Beispiel in z -Richtung, einen Schichtauswahlgradienten. Die Larmorfrequenzen werden längs des Gradienten kodiert:

$$\omega_0(z) = \gamma(B_0 + z \cdot G_z). \quad (2.25)$$

Die zu untersuchende Schicht wird in ihrer Dicke durch die Bandbreite des eingestrahlten HF-Pulses und durch die Gradientenstärke bestimmt. Ihre Lage kann durch die Mittenfrequenz des HF-Pulses bei gleicher Bandbreite variiert werden. Somit wird das vorher dreidimensionale Problem auf ein zweidimensionales reduziert.

2.7.2 Frequenzkodierung

Nach der selektiven Anregung der Spinpakete einer Schicht präzedieren die Magnetisierungskomponenten der Voxel (Akronym: *volume element*) um die Richtung des B_0 -Feldes. Während der Detektion des HF-Signals wird ein weiterer Gradient, Frequenzkodier- oder Auslesegradient genannt, zum Beispiel in x -Richtung angelegt. Somit wird die Präzessionsfrequenz der Quermagnetisierung in der angeregten Schicht eine Funktion der Ortskoordinate x

$$\omega(x) = \gamma(B_0 + x \cdot G_x). \quad (2.26)$$

Die Fourieranalyse des gemessenen Signals ergibt mit der spektralen Signalverteilung auch eine Signalverteilung längs der x -Achse.

2.7.3 Phasenkodierung

Vor der Akquisition des FID wird ein linearer Gradient zum Beispiel in y -Richtung geschaltet, dessen Stärke in äquidistanten Schritten variiert wird. Dadurch ändert sich der Phasenwinkel $\phi(x)$, der Quermagnetisierung am Ort x , sodass zwar alle Magnetisierungskomponenten der angeregten Voxel mit der gleichen Frequenz ω_0 , aber mit unterschiedlichen Phasen $\phi(x)$ zum detektierten FID-Signal beitragen.

Die räumliche Intensitätsverteilung kann aus dem nun präparierten Spinsystem ermittelt werden. Mittels geeigneter Manipulationen lassen sich gewebstypische Größen (zum Beispiel T_1 , T_2) betonen oder unterdrücken, so dass sich unterschiedliche Kontraste erzeugen lassen.

Kapitel 3

Theorie des CEST-Effektes

3.1 Austauschprozesse

Die zeitliche Entwicklung der makroskopischen Magnetisierung eines Spinsystems in äquivalenter magnetischer Umgebung wurde in Abschnitt 2.4 mit den Bloch-Gleichungen (2.19-2.21) beschrieben. Dabei charakterisieren die Relaxationszeiten T_1 und T_2 die Wechselwirkungen zwischen den Spins. Bei zwei oder mehr magnetischen Umgebungen¹ des betrachteten Systems, die sich in Relaxationsprozessen, Larmorfrequenz (chemische Verschiebung) oder in der Kernart unterscheiden können, müssen zusätzliche Relaxationsmechanismen berücksichtigt werden, die durch **chemischen Austausch** (*chemical exchange*) und **Dipol-Dipol-Wechselwirkung** (*dipolar coupling*) zustande kommen. Ein 2-Pool-System ist in Abbildung 3.1 dargestellt. Die

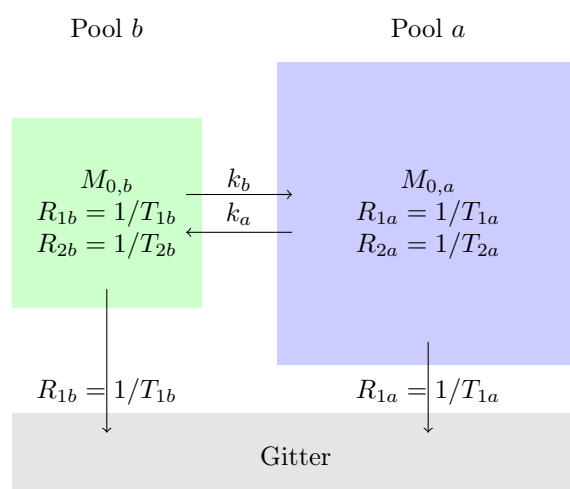


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung eines 2-Pool-Modells und die Wechselwirkung der Pools und mit dem Gitter, quantifiziert durch Austauschparameter k , Relaxationsparameter R und Gleichgewichtsmagnetisierung M_0 .

mathematische Formulierung dieser unterschiedlichen Magnetisierungstransfer-Prozesse – von Solomon [79] 1955 erstmals für die Dipol-Dipol-Kopplung und von McConnell [51] 1958 für den chemischen Austausch formuliert – ist äquivalent.

¹Protonen-Spin-Systeme mit gleichen magnetischen Eigenschaften werden zu Pools zusammengefasst

3.1.1 Bloch-Solomon-Gleichungen – Kreuzrelaxation und NOE

In Abschnitt 2.4 wurde gezeigt, dass die Relaxationsprozesse mit dem Anlegen eines oszillierenden HF-Feldes in der Transversalebene beobachtet werden können. Prinzipiell kann aber jedes beliebige fluktuierende Magnetfeld, welches in der Nähe der Larmorfrequenz oszilliert, die relative Besetzung der Kernspinzustände verändern. In Flüssigkeiten beeinflusst aufgrund der Brownschen Molekularbewegung das magnetische Moment eines Spins zufällig das lokale Feld eines anderen Spins. Sein fluktuierendes Magnetfeld kann Energieübergänge und somit Relaxation induzieren. Um diese Dipol-Dipol-Relaxation zu verstehen, betrachtet man ein dipolar gekoppeltes 2-Spin-System mit den Spins \vec{I} und \vec{S} , dessen Energiezustände und Übergangswahrscheinlichkeiten in Abbildung 3.2 dargestellt sind. Die Anzahl der Spins, die ein

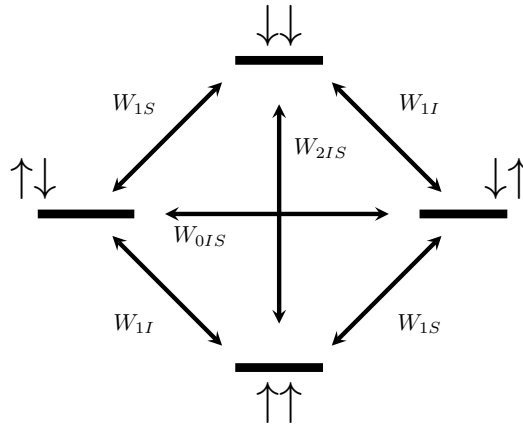


Abbildung 3.2: Energieniveau-Schema eines dipolar gekoppelten 2-Spin-Systems $|I, S\rangle$. Die Spinzustände sind als Pfeile dargestellt. W_{1I} und W_{1S} repräsentieren die Übergangswahrscheinlichkeiten, dass Spin \vec{I} oder Spin \vec{S} jeweils das Energieniveau wechselt. W_{0IS} und W_{2IS} entsprechen den Wahrscheinlichkeiten der Null- und 2-Quantenübergängen.

Energieniveau besetzen, ist entsprechend $N_{\uparrow\uparrow}$, $N_{\uparrow\downarrow}$, $N_{\downarrow\uparrow}$ und $N_{\downarrow\downarrow}$. Die Ratengleichungen der Besetzungszahlen der Energiezustände

$$\frac{dN_{\uparrow\uparrow}}{dt} = -(W_{1I} + W_{1S} + W_{2IS})N_{\uparrow\uparrow} + W_{1I}N_{\downarrow\uparrow} + W_{1S}N_{\uparrow\downarrow} + W_{2IS}N_{\downarrow\downarrow} \quad (3.1)$$

$$\frac{dN_{\uparrow\downarrow}}{dt} = -(W_{0IS} + W_{1I} + W_{1S})N_{\uparrow\downarrow} + W_{0IS}N_{\downarrow\uparrow} + W_{1I}N_{\downarrow\downarrow} + W_{1S}N_{\uparrow\uparrow} \quad (3.2)$$

$$\frac{dN_{\downarrow\uparrow}}{dt} = -(W_{0IS} + W_{1I} + W_{1S})N_{\downarrow\uparrow} + W_{0IS}N_{\uparrow\downarrow} + W_{1I}N_{\uparrow\uparrow} + W_{1S}N_{\downarrow\downarrow} \quad (3.3)$$

$$\frac{dN_{\downarrow\downarrow}}{dt} = -(W_{1I} + W_{1S} + W_{2IS})N_{\downarrow\downarrow} + W_{1I}N_{\uparrow\downarrow} + W_{1S}N_{\downarrow\uparrow} + W_{2IS}N_{\uparrow\uparrow} \quad (3.4)$$

beschreiben die Relaxationsprozesse. Die longitudinale Magnetisierung des 2-Spin-Systems ist proportional zu den Besetzungszahlunterschieden

$$I_z \propto (N_{\uparrow\uparrow} + N_{\uparrow\downarrow}) - (N_{\downarrow\uparrow} + N_{\downarrow\downarrow}) \quad (3.5)$$

$$S_z \propto (N_{\uparrow\uparrow} + N_{\downarrow\uparrow}) - (N_{\uparrow\downarrow} + N_{\downarrow\downarrow}). \quad (3.6)$$

Mithilfe der Ratengleichungen (3.1-3.4) und der Proportionalität der Magnetisierung (Gl. 3.5-3.6) können die Solomon-Gleichungen [79] hergeleitet werden. Diese beschreiben die zeitliche

Entwicklung des dipolar gekoppelten 2-Spin-Systems:

$$\frac{d}{dt}I_z = -\rho_{IS}(I_z - I_z^0) - \sigma_{IS}(S_z - S_z^0) \quad (3.7)$$

$$\frac{d}{dt}S_z = -\rho_{SI}(S_z - S_z^0) - \sigma_{SI}(I_z - I_z^0) \quad (3.8)$$

mit der dipolaren longitudinalen Relaxationsrate $\rho_{IS} = W_{0IS} + 2W_{1I} + W_{2IS}$ und der Kreuzrelaxationskonstante $\sigma_{IS} = W_{2IS} - W_{0IS}$. Die Kreuzrelaxationskonstante beschreibt die direkte Wechselwirkung der Spins \vec{I} und \vec{S} untereinander. Die Solomon-Gleichungen (3.7-3.8) entsprechen also einer Erweiterung der Bloch-Gleichungen (2.19-2.21) durch den Kreuzrelaxationsterm (*cross relaxation*). Diese Gleichungen ergeben, dass die Relaxation der longitudinalen Magnetisierung eines 2-Pool-Systems eine lineare Kombination zweier Exponentialfunktionen ist. Analog können die Solomon-Gleichungen für die transversale Magnetisierung, mit ν und μ als Ratenkonstanten und U als Übergangswahrscheinlichkeit, aufgestellt werden.

Mit dem Hamiltonoperator der Dipol-Dipol-Wechselwirkung

$$\hat{H}_{DD} = \frac{\gamma_I \gamma_S \hbar^2}{r^3} [\hat{I} \cdot \hat{S} - 3(\hat{I} \cdot \vec{r})(\hat{S} \cdot \vec{r})] \quad (3.9)$$

mit dem Wechselwirkungsabstand r , den Eigenzuständen $|m_i\rangle$ und $|m_j\rangle$ und ihren Energien E_i und E_j kann die Übergangswahrscheinlichkeit zwischen zwei Spinzuständen mit

$$W_{ij} = \frac{1}{t} \frac{1}{\hbar^2} \left| \int_0^t \langle m_j | \hat{H}(t') | m_i \rangle e^{i w_{ij} t'} dt' \right|^2 \quad (3.10)$$

beschrieben werden, wobei $w_{ij} = (E_j - E_i)/\hbar$. Die Übergangswahrscheinlichkeiten können mithilfe der spektralen Dichtefunktion [13]

$$J(\omega) = \frac{2\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}, \quad (3.11)$$

die die Signalleistung bei der Frequenz ω beschreibt, mit der Korrelationszeit τ_c umgeformt werden. Mit den Gleichungen (3.9-3.11) erhält man analytische Ausdrücke für ρ_{IS} und σ_{IS} :

$$\rho = W_{0ab} + 2W_{1a} + W_{2ab} = \frac{\mu_0 \hbar \gamma^2}{4\pi r^3} \cdot \frac{1}{10} \left[1 + \frac{3}{1 + \omega^2 \tau_c^2} + \frac{6}{1 + 4\omega^2 \tau_c^2} \right] \cdot \tau_c \quad (3.12)$$

$$k_\sigma = -\sigma = -W_{2ab} + W_{0ab} = -\frac{\mu_0 \hbar \gamma^2}{4\pi r^3} \cdot \frac{1}{10} \left(\frac{6}{1 + 4\omega^2 \tau_c^2} - 1 \right) \cdot \tau_c. \quad (3.13)$$

Der Kern-Overhauser-Effekt¹ (*Nuclear Overhauser Effect* (NOE)) dipolar gekoppelter Kernspinsysteme wird durch die Bloch-Solomon-Gleichungen beschrieben. Die Sättigung einer Spinpopulation dipolar gekoppelter Kernspinsysteme (z. B. $S_z = 0$) führt, aufgrund von Kreuzrelaxation in einem dipolar gekoppelten System, zur Verstärkung beziehungsweise Abschwächung des Signals der anderen [33]. Es gibt inter- und intramolekulare NOEs [114]. In heteronuklearen Doppelresonanz-Experimenten, mit Kernen geringer Sensitivität (z. B. ^{13}C - ^1H und ^{31}P - ^1H [4]), erzeugt der NOE eine Verstärkung der Signalintensität der Kerne geringer Sensitivität nach der Sättigung der ^1H -Protonen [25].

¹Benannt nach *Albert Overhauser*, der den Transfer der Polarisation zwischen Elektronen- und Kernspins im Metall vorhersagte [56].

3.1.2 Bloch-McConnell-Gleichungen – Chemischer Austausch

Zusätzlich zu den Dipol-Wechselwirkungen können die Spins verschiedener Pools über den chemischen Austausch (*chemical exchange*) komplett den molekularen Ort wechseln, da die Protonen einiger chemischer Gruppen Säure-Base-Reaktionen mit dem Wasser eingehen. Ein solcher Protonenaustausch zwischen Pool a (z. B. Protonen freier Wassermoleküle) und Pool b (z. B. Protonen von chemischen Gruppen gelöster Metaboliten) im statischen Magnetfeld $\vec{B} = (0, 0, B_0)$, mit den jeweiligen Gleichgewichtsmagnetisierungen $M_{0,a}$ und $M_{0,b}$, wird mit den Bloch-McConnell (BM)-Gleichungen [51] beschrieben:

$$\dot{\vec{M}} = \mathbf{A} \cdot \vec{M} + \vec{C}. \quad (3.14)$$

Dabei ist

$$\vec{M} = \begin{pmatrix} M_{xa} \\ M_{ya} \\ M_{za} \\ M_{xb} \\ M_{yb} \\ M_{zb} \end{pmatrix} \quad (3.15)$$

der 6-dimensionale Magnetisierungsvektor und

$$\vec{C} = (0, 0, R_{1a}M_{0,a}, 0, 0, R_{1b}M_{0,b})^T \quad (3.16)$$

ein konstanter Vektor. Die Blockmatrix

$$\mathbf{A} = \begin{bmatrix} \mathbf{L}_a - \mathbf{K}_a & +\mathbf{K}_b \\ +\mathbf{K}_a & \mathbf{L}_b - \mathbf{K}_b \end{bmatrix} \quad (3.17)$$

besteht aus 3×3 Untermatrizen

$$\mathbf{L}_i = \begin{pmatrix} -R_{2i} & -\Delta\omega_i & 0 \\ +\Delta\omega_i & -R_{2i} & -\omega_i \\ 0 & +\omega_i & -R_{1i} \end{pmatrix} \quad (3.18)$$

für jeden Pool ($i = a, b$). Die konstanten Matrizen \mathbf{K}_a und \mathbf{K}_b sind die Kopplungsterme und unterscheiden sich entsprechend der Art des Austauschprozesses. Den chemischen Austausch beschreiben die Matrizen

$$\mathbf{K}_b = \begin{pmatrix} k_b & 0 & 0 \\ 0 & k_b & 0 \\ 0 & 0 & k_b \end{pmatrix}, \quad \mathbf{K}_a = \mathbf{f}_b \mathbf{K}_b. \quad (3.19)$$

Dabei sind k_b und k_a die Austauschraten der Protonen von Pool b zum Pool a und umgekehrt. Ersetzt man k_b durch k_a aus Gleichung 3.13, so erhält man die Bloch-Solomon-Gleichungen für die dipolar gekoppelte Kernspinsysteme, was in dieser Matrixdarstellung [103] die Äquivalenz der beiden Gleichungssysteme zeigt. Im Folgenden werden die für das Bloch-McConnell-System benötigten Parameter beschrieben. $\omega_1 = \gamma B_1$ ist die Amplitude des B_1 -Feldes. $\Delta\omega = \Delta\omega_a = \omega_1 - \omega_a$ ist der Frequenz-Offset relativ zur Larmorfrequenz ω_a des Pools a . Der Offset von Pool b ist um $\delta\omega_b$ relativ zur Larmorfrequenz von Pool a verschoben: $\Delta\omega_b = \omega_1 - \omega_b = \Delta\omega - \delta\omega_b$. Im Gleichgewichtszustand gilt für das System:

$$k_b \cdot M_{0,b} = k_a \cdot M_{0,a}. \quad (3.20)$$

f_b ist das Protonenverhältnis der im Austausch befindlichen Pools

$$f_b = \frac{M_{0,b}}{M_{0,a}} = \frac{n_b \cdot [b]}{n_a \cdot [a]}, \quad (3.21)$$

wobei $[a]$ und $[b]$ die Konzentrationen der Pools a und b sind und n_a und n_b die Anzahl der austauschenden Protonen pro Molekül des jeweiligen Pools angeben.

Die Austauschrate hängt im Allgemeinen von pH, Temperatur, Puffertyp und Pufferkonzentration ab und wird definiert als

$$k_{ex}(T, \text{pH}, \text{Puffer}) = k_A(T) \cdot 10^{\text{pH}} + k_B(T) \cdot 10^{\text{pH} - \text{p}K_W} + k_{\text{Puffer}}(T, \text{pH}, [\text{Puffer}]), \quad (3.22)$$

dabei sind k_A , k_B und k_{Puffer} die Austauschraten der Reaktion, die säure- ($[\text{H}^+]$), basen- ($[\text{OH}^-]$) oder „puffer“-katalysiert, sind; $\text{p}K_W$ ist die Dissoziationskonstante von Wasser. Alle drei Austauschraten folgen dem Arrhenius-Gesetz und hängen exponentiell von der Temperatur ab [24]:

$$k_X(T) = k_X(298.15 \text{ K}) \cdot e^{\frac{E_{aX}}{R} \left(\frac{1}{298.15 \text{ K}} - \frac{1}{T} \right)} \quad (3.23)$$

mit der Aktivierungsenergie E_{aX} und der Gaskonstante R .

Da im Rahmen dieser Arbeit Effekte des chemischen Austausches von Kreatin mit Wasser untersucht wurden, werden im weiteren Verlauf die Bloch-McConnell (BM)-Gleichungen verwendet. Für die Guanidiniumprotonen des Kreatins im phosphathaltigen Puffer wird hauptsächlich eine basen- und puffer-katalysierte Reaktion angenommen.

3.2 Das In-vivo-Z-Spektrum

In vivo können keine reinen, perfekt isolierten Transferprozesse beobachtet werden. Die gemessenen Daten enthalten immer Überlagerungen von vielen Resonanzfrequenzen von Molekülen, die aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften und räumlichen Konformation in unterschiedlichem Maße am Transfer der Magnetisierung beteiligt sind. Ein Verständnis dieser Phänomene erlaubt ihre Identifizierung, Isolierung und sogar die Eliminierung unerwünschter Effekte aus dem Spektrum. In Abbildung 3.3 ist ein repräsentatives Z-Spektrum dargestellt, welches in diesem Abschnitt anhand seiner beitragenden Effekte erklärt wird.

3.2.1 Sättigung

Bei einem Magnetisierungstransfer (MT)-Experiment muss der Pool des analysierten Systems (z. B. niedrig konzentrierter Metabolit; Pool b) effektiv gesättigt werden. Die Sättigung erfolgt entweder über resonante Anregung mit bestimmten Pulszügen bei der Frequenz $\Delta\omega = 0$ (*on-resonante* Sättigung) oder *off-resonant* bei einer Frequenz $\Delta\omega \neq 0$. In dieser Arbeit wurde off-resonante Sättigung verwendet. Da die Verwendung eines langen (*continuous wave*, kurz *cw*) HF-Pulses an klinischen MR-Tomographen nicht möglich ist, wird eine gepulste (*pulsed*) Sättigung, bestehend aus vielen kurzen HF-Pulsen, durchgeführt. Die Sättigungszeit (t_{sat}) kann durch die Pulslänge (t_p) und die Pause (t_d) zwischen diesen – angepasst auf das Experiment und den beobachteten Pool – optimiert werden. Auf das hier verwendete Sättigungsverfahren wird in Kapitel 4.3 näher eingegangen. Nach der Sättigung wird die annullierte Magnetisierung über chemischen Austausch beziehungsweise über dipolare Kopplung von Pool b auf Pool a übertragen. Dies führt zur messbaren Signalreduktion des detektierten Signals von Pool a und somit zur indirekten Detektion von Pool b .

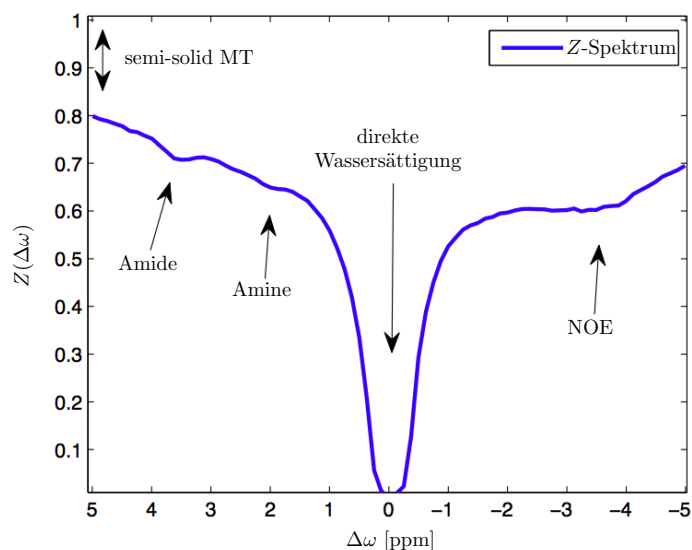


Abbildung 3.3: Dieses Z -Spektrum vom Rattengehirn aufgenommen bei $B_0 = 9.4\text{ T}$ zeigt typische CEST-Effekte von Amid- und Aminprotonen und NOE von aliphatischen Protonen. Diese sind verglichen mit der direkten Wassersättigung und den MT-Effekten der semi-soliden Matrix (u. a. Makromoleküle) sehr klein. (Abbildung und Beschreibung aus [102]; reproduziert mit freundlicher Genehmigung von *Zaiss et al.*, NMR Biomed. 2014 Mar;27(3):240-52. Copyright © 2014 John Wiley & Sons, Ltd. [107])

3.2.2 Z -Spektrum und direkte Wassersättigung

In dieser Arbeit ist das detektierte NMR-Signal immer das Wassersignal. Zur Darstellung des Magnetisierungstransfers dient das Z -Spektrum ($Z(\Delta\omega)$), worin das Wassersättigungssignal (S_{sat}), welches mit dem Signal ohne Sättigung (S_0) normiert wird, gegen die Sättigungsfrequenz $\Delta\omega$ aufgetragen wird. Die Resonanzfrequenz der Wasserprotonen wird dabei als $\Delta\omega = 0$ definiert und die Frequenzverschiebung des eingestrahlten HF-Feldes relativ dazu in Einheiten der chemischen Verschiebung angegeben. Das Z -Spektrum hat bei dieser Frequenz sein größtes Minimum, da die Wasserprotonen ($[a] \gg [b]$) direkt gesättigt werden (*direct water saturation*). Die Stärke des Effekts hängt hauptsächlich vom HF-Sättigungspuls und der Relaxation ab.

3.2.3 Magnetisierungstransfer der semi-soliden Matrix

Der MT-Effekt der sich nur sehr langsam bewegenden, „festkörperartigen“ (*semi-solid*¹) Strukturen und Makromoleküle, die überall im biologischen Gewebe vorkommen, bilden im Z -Spektrum die „Baseline“. Aufgrund der sehr kurzen Relaxationszeiten (T_2 im Bereich von μ) resultieren aus der Sättigung der Protonen der Makromoleküle und der Wassermolekülprotonen, die an die makromolekulare Matrix gebunden sind, sehr breite Resonanzlinien von mehreren ks^{-1} . Dieser „semi-solid MT“ wurde von *Wolff* und *Balaban* 1989 [96] als *In-vivo*-MRT-Kontrast vorgeschlagen. Die Transferrate ($\sim 40\text{ s}^{-1}$ [80]) der Magnetisierung vom makromolekularen Pool zum Wasser und die Konzentration der immobilen Protonen bestimmen die Stärke des MT. Der Sättigungstransfer-Effekt erstreckt sich über das ganze Z -Spektrum und wird durch die BM-Gleichungen unter Vernachlässigung der Transversalkomponenten modelliert [31]. *Swanson*

¹sind keine starren Körper; besitzen „festkörperartige“ Eigenschaften

[86] und *Malyarenko* [50] haben gezeigt, dass der MT zwar symmetrisch, aber relativ zum Wassersignal verschoben ist, was bei der Quantifizierung des Z-Spektrums eine Fehlerquelle bedeuten kann. Mit einer „Datenbank“ von MT-Spektren für verschiedene Gewebearten, könnte der MT der semi-soliden Matrix von den anderen Effekten im Z-Spektrum isoliert beziehungsweise eliminiert werden.

3.2.4 Kern-Overhauser-Effekte (NOE) im Z-Spektrum

Die in Abschnitt 3.1.1 beschriebenen NOEe können auch zwischen gleichartigen Kernen (^1H - ^1H) auftreten (homonuklearer NOE). Sie werden in *In-vivo*-Z-Spektren rechts vom Wassersignal zwischen -2 und -5 ppm beobachtet und werden Protonen in aliphatischen Verbindungen zugeordnet. NOEe aromatischer Verbindungen wurden zwischen 1 und 4 ppm [37] detektiert. Auswirkungen auf den durch Protonenaustausch weitergeleiteten NOE bei pH- und Temperaturänderungen und allgemein während des Denaturierungsprozesses von Proteinen wurden von [39, 40, 105] untersucht. Die Abbildung 3.4 fasst die möglichen Magnetisierungstransferprozesse eines Proteins zusammen.

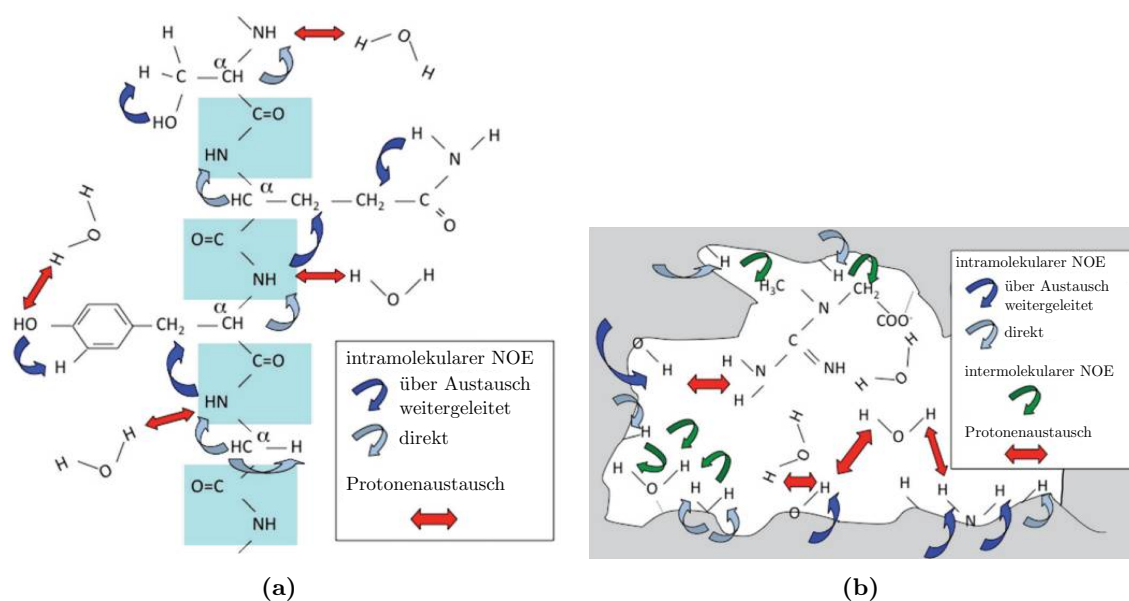


Abbildung 3.4: Darstellung der Magnetisierungstransferprozesse eines Proteins: (a) Im frei beweglichen Protein besteht ein möglicher Magnetisierungstransfer über chemischen Austausch (rot) und Kreuzrelaxationen (NOE) (blau). Dabei unterscheidet man zwischen über Austausch weitergeleitete und direkte Interaktion. Intermolekulare NOEe sind klein in Flüssigkeiten. (b) Wenn das Wasser durch die semi-solid makromolekulare Matrix (grau) in seiner Ausbreitung beschränkt ist, werden die intermolekularen NOEe dominant und bilden zusammen mit dem Protonenaustausch den Pfad des makromolekularen MT mit einer breiten Linienbreite. (Abbildung und Beschreibung reproduziert mit freundlicher Genehmigung von *van Zijl et al.*, Magn Reson Med. 2011 Apr;65(4):927-48. Copyright © 2011 Wiley-Liss, Inc. [115])

3.2.5 CEST-Effekte

Labile Protonen von chemischen Gruppen, wie Amid-, Amino- und Hydroxylgruppen, endogener Metaboliten tauschen ihre Protonen direkt (Abschnitt 3.1.2) mit dem Wasser aus und übertragen somit die gesättigte Magnetisierung. *In vivo* lassen sich die CEST-Peaks dieser Gruppen trotz unterschiedlicher chemischer Verschiebung nur schwer den dazugehörigen Metaboliten zuordnen. Aufgrund der großen Vielfalt erlaubt erst die Kenntnis über chemische Verschiebung, Austauschrate (erstreckt sich von einigen s^{-1} für Amide [110] bis zu mehreren $10000 s^{-1}$ für Hydroxylgruppen [100]), Relaxationsraten und Vorkommen im Gewebe eine Zuordnung der Metaboliten zu den beobachteten CEST-Effekten. Einen Überblick über die beobachteten CEST-Effekte gibt der Review-Artikel [104].

In dieser Arbeit wird der Metabolit Kreatin (Cr) in wässriger Lösung *in vitro* und *in vivo* untersucht. Die Protonen seiner Aminogruppen tauschen in *In-vivo*-Situationen sehr schnell mit den Wasserprotonen aus [28]. Trotz hoher Konzentration im Skelettmuskel, ist die Detektion dieser mit CEST eine große Herausforderung.

3.3 Abhängigkeit von CEST- und MT-Effekten von den Sättigungsparametern und der longitudinalen Relaxationszeit des Wassers

Die Auflösung von Effekten, wie CEST, NOE oder MT im Z -Spektrum hängt stark von den Sättigungsparametern ab.

Trotz off-resonanter HF-Einstrahlung wird ein Teil der HF-Leistung auf der Wasserresonanz absorbiert und führt damit zur direkten Wassersättigung. Somit haben nicht alle Wasserprotonen die Möglichkeit, die Sättigung von einem CEST-Pool aufzunehmen, was den maximal möglichen CEST-Kontrast reduziert. Dieser Spillover-Effekt ist B_1 - und offsetabhängig: Er nimmt bei konstantem Offset mit steigender Sättigungsleistung zu und bei konstantem B_1 , aber zunehmendem Offset, ab. Im Offset-Bereich < 5 ppm ist der Spillover allerdings an jeder Stelle relevant [67]. *Sun et al.* konnten zeigen, dass der maximal messbare CEST-Effekt mit der Leistung des sättigenden HF-Feldes verbunden ist und dass, abhängig von der Geschwindigkeit des chemischen Austauschs, ein Wendepunkt existiert, ab dem der CEST-Effekt mit wachsendem B_1 wieder abnimmt [85]. In Abbildung 3.5(a) sind die Z -Spektren von Cr für verschiedene B_1 dargestellt. Mit steigendem B_1 wird das Z -Spektrum flacher und breiter und der CEST-Peak bei 1.9 ppm wächst in Amplitude und Breite. Der Grund hierfür ist die steigende Effektivität des Labelings des CEST-Pools (Abschnitt 3.5). Ab einer bestimmten HF-Leistung überdeckt jedoch die direkte Wassersättigung den Sättigungstransfer effekt. Dies sieht man deutlich in Abbildung 3.6(a) (vgl. Cr-Spektrum mit Cr+Wasser-Spektrum). Für jeden CEST-/ NOE-Effekt im Z -Spektrum existiert ein charakteristisches B_1 , welches vor der eigentlichen Messung ermittelt werden muss. Dies wurde von *Zaiss* [101] anhand numerischer Simulationen bestätigt.

Der gleichzeitig auftretende MT der semi-soliden Matrix, die NOEe durch Dipol-Dipol-Wechselwirkung oder der Sättigungstransfer anderer austauschender Pools können den beobachteten CEST-Effekt auch überlagern und dessen genaue Analyse beeinträchtigen. Diese Sättigungstransferprozesse und ihre Auflösung im Z -Spektrum hängen aber nicht nur stark von B_1 ab, sondern auch von der Dauer der Sättigungszeit t_{sat} . Direkte Wassersättigung,

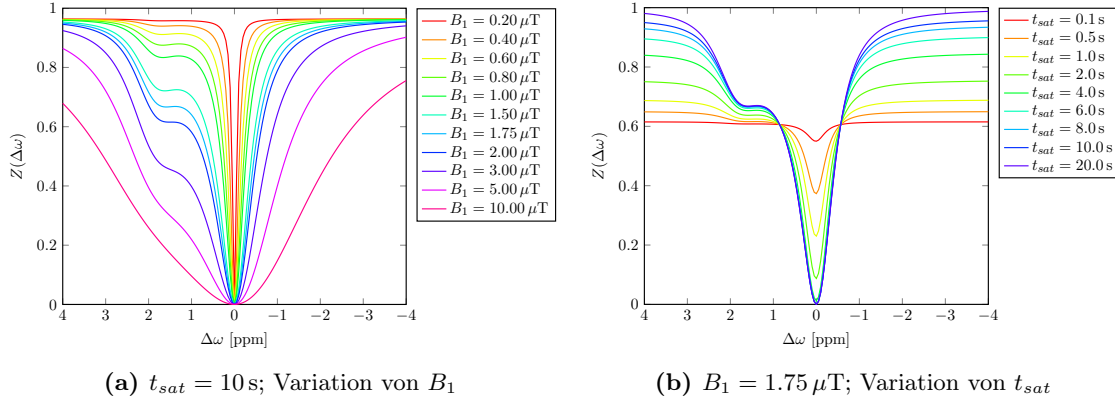


Abbildung 3.5: Simulationen der Z -Spektrien bei $B_0 = 7\text{ T}$ von Cr ($f_b = 0.054\%$, $k_b = 950\text{ s}^{-1}$) im Wasser (Parameter wie in Tabelle 4.1) als Funktionen von B_1 (a) und der Sättigungszeit t_{sat} (b). Reproduziert und angepasst auf die Aminprotonen des Cr mit freundlicher Genehmigung von *Zaiss* [102].

MT- und CEST-Effekte nehmen mit steigendem t_{sat} zu und erreichen nach einigen T_1 den Gleichgewichtszustand (*steady-state* [102]) (Abb. 3.5(b)). Der Zustand vor dem Erreichen des Steady-State wird *transient-state* genannt.

Das T_1 der Wasserprotonen gibt die maximale Zeit für die Akkumulation der Sättigung im Wasserpool an und bestimmt somit die Größe der CEST-Effekte. Bei Steady-State-Messungen bedeutet somit ein langes T_1 auch einen großen CEST-Effekt, da für den Transfer der Sättigung effektiv mehr Zeit zur Verfügung steht [102] (Abb. 3.6(b)).

3.4 Lösung der Bloch-McConnell-Gleichungen

Die BM-Gleichungen können numerisch gelöst werden. Jedoch bietet die Lösung nur einen begrenzten Einblick in die Struktur des Z -Spektrums und die Optimierung der Experimente ist damit auch nicht möglich. Elegant können die BM-Gleichungen im Eigenraum gelöst werden [1, 53, 87, 89, 88, 103]. Die Erkenntnisse aus [103, 104] und die in dieser Arbeit verwendete Theorie werden in den folgenden Kapiteln kurz zusammengefasst.

Die Lösung für das Z -Spektrum ist ein monoexponentieller Zerfall der z -Magnetisierung als Funktion der Zeit mit der longitudinalen Relaxationsrate $R_{1\rho}$ im rotierenden Koordinatensystem, die auch der einzige wichtige Eigenwert ist [103]:

$$Z(\Delta\omega, \omega_1, t) = (P_z P_{z_{eff}} Z_i - Z^{ss}) \cdot e^{-R_{1\rho} t} + Z^{ss}. \quad (3.24)$$

Die Lösung beschreibt den Z -Wert bei jedem Sättigungsoffset $Z = \frac{M_{z,a}}{M_{0,a}}$. Die Anfangsmagnetisierung $Z_i = \frac{M_{z,a}^t}{M_{0,a}}$ zerfällt in den Gleichgewichtszustand (*steady-state*)

$$Z^{ss}(\Delta\omega, \omega_1) = \frac{P_z \cdot R_{1,res}}{R_{1\rho}}, \quad (3.25)$$

dabei ist $R_{1,res} \approx R_{1,a} \cdot \cos\theta$, mit dem Winkel θ zwischen dem Magnetisierungsvektor und der z_{eff} -Achse. $P_{z_{eff}}$ und P_z sind Projektionsfaktoren, die CEST- und Spin-Lock-

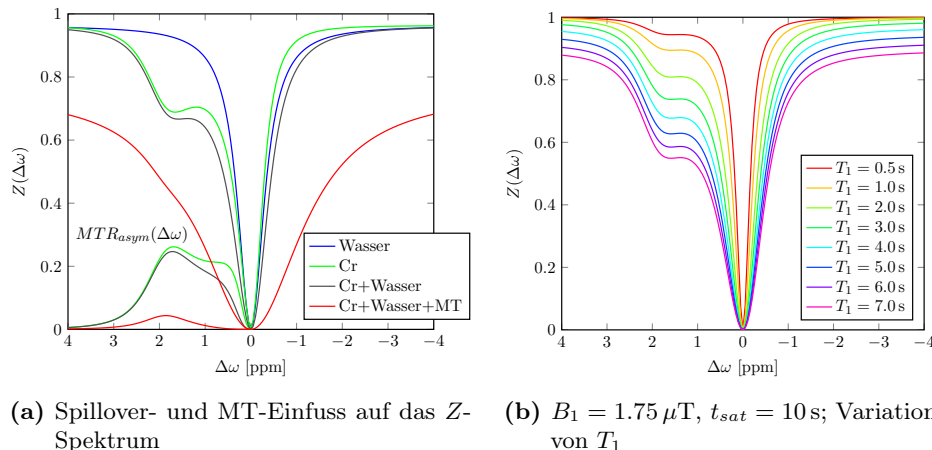


Abbildung 3.6: (a) Simulationen der Z -Spektren bei $B_0 = 7\text{ T}$ mit $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ und $t_{sat} = 10\text{ s}$ von einem 1-Pool- (Wasser), 2-Pool- (Cr im Wasser), 3-Pool-System (Cr im Wasser mit MT-Pool des Muskels) und reinem Cr-Spektrum ($T_2 = \infty$) ($f_b = 0.054\%$, $k_b = 950\text{ s}^{-1}$) (Parameter wie in Tabelle 4.1). Das Z -Spektrum wird stark vom Spillover und MT beeinflusst, welche den CEST-Effekt (MTR_{asym}) enorm verringern. (Abbildung reproduziert und angepasst auf Aminprotonen des Cr mit freundlicher Genehmigung von IOP Publishing. Copyright © Institute of Physics and Engineering in Medicine. Alle Rechte vorbehalten. *Zaiiss et al.* *Phys Med Biol.* 2013 Nov 21;58(22):R221-69. [104]) (b) Z -Spektren eines 2-Pool-Systems (Cr [$f_b = 0.054\%$, $k_b = 950\text{ s}^{-1}$] in Wasser) werden stark vom T_1 des Wassers skaliert.

(SL) Experimente miteinander verbinden. *Zaiiss et al.* [103] haben gezeigt, dass ein CEST-Experiment als ein SL-Experiment mit verschiedenen Start-Magnetisierungen verstanden werden kann. Die longitudinale Relaxationsrate im rotierenden Koordinatensystem eines 2-Pool-Systems

$$R_{1\rho} = R_{eff} + R_{ex} \quad (3.26)$$

ist die Summe aus der Relaxationsrate R_{eff} der Wasserprotonen im rotierenden Koordinatensystem [87, 88]

$$R_{eff} = R_{1a} \cos^2 \theta + R_{2a} \sin^2 \theta \quad (3.27)$$

und der austauschabhängigen Relaxationsrate R_{ex} [103]

$$R_{ex}(\Delta\omega_b) = \frac{R_{ex}^{max} \frac{\Gamma^2}{4}}{\Gamma^2 + \Delta\omega_b^2} \quad (3.28)$$

mit dem Maximum

$$R_{ex}^{max} = f_b k_b \sin^2 \theta \frac{(\omega_b - \omega_a)^2 + k_b R_{2b} + \frac{R_{2b}}{k_b + R_{2b}} \omega_1^2}{\omega_1^2 + k_b(k_b + R_{2b})}. \quad (3.29)$$

Γ ist die Halbwertsbreite (FWHM)

$$\Gamma = 2 \sqrt{\frac{k_b + R_{2b}}{k_b} \omega_1^2 + (k_b + R_{2b})^2}. \quad (3.30)$$

Hierfür wurden folgende Annahmen gemacht:

- Asymmetrische Verteilung von Pool a und b , das heißt $f_b \ll 1$ und somit kann k_a gegenüber k_b vernachlässigt werden.
- R_{1b} ($\approx 1 \text{ s}^{-1}$) kann gegenüber k_b vernachlässigt werden, wenn $k_b > 10 \text{ s}^{-1}$.

Im *large-shift* (LS) *limit* ($|\omega_b - \omega_a| \gg \omega_1$), das heißt bei Einstrahlung auf den Metaboliten-Pool ohne Störung des Wasserpools, erhält man für R_{ex}

$$R_{ex,LS} \approx f_b k_b \cdot \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_b(k_b + R_{2b})}. \quad (3.31)$$

Unter Annahme des LS und mit $\omega_1 \gg k_b + R_{2b}$ (*full saturation* (FS) *limit*) reduziert sich dieser Ausdruck auf

$$R_{ex,FS} \approx f_b k_b = k_a. \quad (3.32)$$

Das bedeutet, bei einer sehr großen chemischen Verschiebung und für hohes B_1 und kleines R_{2b} und k_b gleicht die Relaxationsrate R_{ex} der Austauschrate k_a des Wassers.

3.5 Effizienz der Sättigung

Wie schon in Kapitel 3.3 und in Abbildung 3.5(a) gezeigt, sind die CEST-Effekte B_1 -abhängig. Die Wirksamkeit der Sättigung kann mit dem Parameter α (*labeling efficiency*)

$$\alpha(\Delta\omega, \omega_1) = \frac{R_{ex}(\Delta\omega, \omega_1)}{f_b k_b}, \quad (3.33)$$

welcher Werte zwischen 0 und 1 einnimmt, gemessen werden. Bei Vernachlässigung von $k_b \cdot R_{2b}$ vereinfacht sich die Gleichung 3.33 für $\Delta\omega = \delta\omega_b$ zu

$$\alpha(\omega_1) = \frac{\frac{\delta\omega_b^2}{\omega_1 + \delta\omega_b^2} k_b + R_{2b}}{k_b + R_{2b}} \cdot \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_b(k_b + R_{2b})} \stackrel{\text{LS}}{=} \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_b(k_b + R_{2b})}. \quad (3.34)$$

Das heißt, die Sättigungseffizienz hängt von der Austauschrate k_b und von der chemischen Verschiebung $\delta\omega_b$ von Pool b relativ zum Wasser ab. Wie schon in [36, 95] dargestellt, muss ω_1 , also die HF-Puls-Leistung, an die Austauschrate und die chemische Verschiebung der beobachteten labilen Protonen angepasst werden. Die Extremwertbestimmung von Gleichung 3.34 liefert mit der Bedingung $\delta\omega_b^2 > R_{2b}(k_b + R_{2b})$ das optimale B_1

$$(B_{1,opt} \cdot \gamma)^2 = \omega_{1,opt}^2 = \delta\omega_b \cdot k_b. \quad (3.35)$$

Damit ist die maximale Sättigungseffizienz bei diesem optimalen B_1

$$\alpha(B_{1,opt}) = \left(\frac{\delta\omega_b}{\delta\omega_b + k_b} \right)^2. \quad (3.36)$$

Die damit berechneten Werte werden für den wahren CEST-Effekt *in vivo* zu hoch sein. Aufgrund Spillovers, MT der semi-soliden Matrix und der Sättigungen anderer Pools ist das optimale B_1 niedriger.

3.6 Selektivität der CEST-Peaks und Austauschbereiche

Die Austauschrate k_b und Sättigungsleistung B_1 beeinflussen nicht nur die Amplitude des CEST-Peaks, sondern auch seine Trennschärfe (Abb. 3.5 und [104]). Im *large-shift limit* kann die Linienbreite wie folgt angegeben werden

$$\Gamma = 2\sqrt{\frac{k_b + R_{2b}}{k_b}\omega_1^2 + (k_b + R_{2b})^2} = 2\frac{1}{\sqrt{1 - \alpha_{LS}}}(k_b + R_{2b}). \quad (3.37)$$

Für kleine Sättigungswerte α existiert eine minimale Breite $\Gamma_{min} = 2(k_b + R_{2b})$, die der homogenen Linienbreite im NMR-Spektrum ähnelt $\Delta\omega_{\frac{1}{2}} = 2R_2$. *Zaiss et al.* [104] haben gezeigt, dass die Breite eine asymptotisch lineare Funktion von B_1 ist:

$$\frac{\Gamma}{\gamma} = 2\sqrt{\frac{k_b + R_{2b}}{k_b}}B_1. \quad (3.38)$$

Es lassen sich drei Austauschbereiche (*exchange regimes*) definieren, die in der NMR die spektrale Auflösung bestimmen. Einflussgrößen sind das statische Magnetfeld B_0 , die chemischen Verschiebung δ und die Austauschrate k_b :

$$k_b = \begin{cases} \gg \delta\omega_b & (fast) \\ \approx \delta\omega_b & (intermediate) \\ \ll \delta\omega_b & (slow) \end{cases}. \quad (3.39)$$

Bei CEST-Experimenten liegen die Austauschraten im langsamen (*slow exchange regime*) bis mittleren (*intermediate exchange regime*) Bereich. Mit zunehmender Austauschrate fließen die Resonanzlinien zweier Pools immer mehr zusammen und sind im NMR-Spektrum nicht mehr getrennt auflösbar (*fast exchange regime*). Wegen der Magnetfeldabhängigkeit der chemischen Verschiebung (Frequenzaufspaltung steigt linear mit zunehmendem Magnetfeld), kann die Grenze der Austauschrate zum *fast exchange limit* für höhere Felder verschoben werden. Mit höherem Magnetfeld können auch schnellere Austauschprozesse spektral aufgelöst werden. Da die Austauschrate von pH und Temperatur abhängt, lassen sich *in vitro* unterschiedliche Austauschsituationen untersuchen.

3.7 Z-Spektrum-Analyse

Das Ziel ist, stets einen bestimmten CEST-Effekt getrennt von den anderen auftretenden Prozessen, wie Spillover, MT und Austauschprozesse anderer Protonen, zu analysieren. Als Maß für die Stärke des CEST-Effekts wurde die Magnetisierungstransferrate MTR definiert. Im Steady-State beträgt diese

$$MTR(\Delta\omega) = 1 - Z_{lab}^{ss}. \quad (3.40)$$

Der Z -Wert auf der Resonanz der austauschenden Protonen des Pools b ist

$$Z_{lab}^{ss}(\Delta\omega) = \frac{P_z \cos \theta R_{1a}}{R_{1p}} \quad (3.41)$$

und wird *label scan* genannt. Die übliche Auswertemethode des Z-Spektrums ist die Asymmetrieanalyse [110, 111]. Dafür bildet man die Differenz zwischen dem Z_{lab}^{ss} und dem symmetrisch gegenüberliegenden Z-Wert (rechts vom Wasser) (*reference scan*)

$$Z_{ref}^{ss}(-\Delta\omega) = \frac{P_z \cos \theta R_{1a}}{R_{eff}}. \quad (3.42)$$

Dafür nimmt man an, dass

- R_{eff} symmetrisch ist ($R_{eff}(-\Delta\omega) = R_{eff}(\Delta\omega)$),
- mögliche MT-Effekte auch symmetrisch sind,
- kein chemischer Austausch bei $-\Delta\omega$ stattfindet
- und die Linienbreite von $R_{ex}(\delta\omega_b)$ kleiner als die chemische Verschiebung ist ($\Gamma < \delta\omega_b$).

Die Magnetisierungstransferrate aufgrund der Asymmetrieanalyse wird dann wie folgt definiert

$$MTR_{asym} = Z_{ref}^{ss} - Z_{lab}^{ss} = \frac{P_z \cos \theta R_{1a} R_{ex}}{R_{eff}(R_{eff} + R_{ex})}. \quad (3.43)$$

Dies wird Spillover-Korrektur 0. Ordnung genannt, da hier, verglichen mit Gleichung 3.40, der R_{eff} - und somit der R_{2a} -Einfluss nur noch im Nenner vorhanden ist. Mit der Methode von *Liu et al.* [49] wurde durch die Normierung von MTR_{asym} mit dem Z_{ref}^{ss} -Wert eine Spillover-Korrektur 1. Ordnung eingeführt:

$$MTR_{refnorm} = \frac{Z_{ref}^{ss} - Z_{lab}^{ss}}{Z_{ref}^{ss}} = \frac{R_{ex}}{R_{eff} + R_{ex}}. \quad (3.44)$$

Die inverse Metrik von *Zaiss et al.* [103] liefert einen Kontrast, der die austauschabhängige Relaxationsrate R_{ex} in Einheiten von R_{1a} angibt

$$MTR_{R_{ex}} = \frac{1}{Z_{lab}^{ss}} - \frac{1}{Z_{ref}^{ss}} = \frac{R_{ex}}{R_{1a} P_z \cos \theta}. \quad (3.45)$$

Dieser Ansatz wurde in Experimenten mit Kreatin im langsamen Austauschbereich ($k_b \ll \delta\omega_b$, das heißt zum Beispiel für Kreatin mit pH = 6.38 und T = 19°C) bestätigt [107]. Zur Eliminierung der T_1 -Gewichtung (Abb. 3.6(b)) hat *Zaiss* [102] die austauschabhängige Relaxation (*AREX = apparent exchange-dependent relaxation*) definiert

$$AREX = MTR_{R_{ex}} \cdot R_{1a}. \quad (3.46)$$

Die gesamte Theorie wurde für *continuous wave (cw)* Messungen entwickelt. In *In-vivo*-Experimenten treten nicht nur die oben genannten Verfälschungen und Limitationen der CEST-Information auf. Auf Grund notwendiger Begrenzungen der spezifischen Absorptionsrate (SAR) der Radiofrequenzstrahlung für Untersuchungen am Menschen, sind Pulsdauer und -amplitude in klinischen MR-Tomographen stark beschränkt. Statt *cw*-Sättigung wird gepulst gesättigt. Die Pulsdauer und deren Amplitude liegt im Zehntelsekunden- bzw. im Mikrotelabereich. Das hat eine spektral breitere Sättigung und einen nur langsam erreichbaren Gleichgewichtszustand zur Folge. Die hier vorgestellten Evaluationsmethoden sind dadurch in ihrer Genauigkeit (Theorie \leftrightarrow Experiment) limitiert. Mit den Annahmen, dass $R_{1\rho}$ während des Pulses der Länge t_p zerfällt und R_{1a} sich in der Pulspause t_d (HF-Puls ausgeschaltet) erholt, konnte in [107] gezeigt werden, dass die Spillover- und MT-Korrektur auch beim gepulsten CEST angewendet werden kann.

Mit diesem theoretischen Hintergrund sollte das Kreatin im *Intermediate-exchange*-Bereich *in vitro* mit gepulstem CEST untersucht werden. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse sollten eine Anwendung von Kreatin-CEST *in vivo* vorantreiben, aus welcher die Quantifizierung von Kreatin *in vivo* resultieren sollte.

3.8 Metaboliten der Creatin-Kinase-Reaktion

Die Creatin-Kinase (CK) (Abb. 3.7) ist ein sehr wichtiges Enzym des Energiestoffwechsels. Es katalysiert die Umwandlung von Kreatin (Cr) in Phosphokreatin (PCr), indem es die Energiewährung aller biologischen Systeme, das Adenosin-5'-Triphosphat (ATP), einsetzt. Während die Hydrolyse von ATP die Energie freisetzt, ist PCr das temporäre Reservoir für freie Phosphoryl-Gruppen. Die CK-Reaktion ist reversibel, sodass bei Muskelkontraktion das PCr verbraucht wird, um die ATP-Bereitstellung zu gewährleisten, welches nach der Hydrolyse die nötige Energie für den Querbrückenzyklus zwischen den Aktin- und Myosinfilamenten liefert und somit die An- und Entspannung des Muskels garantiert. Gleichzeitig steigt die Konzentration von Kreatin im Muskel, um das Gesamtgleichgewicht aufrechtzuerhalten. Während des Gleichgewichtszustandes bleiben die Konzentrationen von ATP und ADP fast unverändert. Erst wenn der Stoffwechsel zum Erliegen kommt, wird das ganze PCr zu Cr abgebaut [71, S. 69]. „Da der PCr-Gehalt im Muskel drei- bis viermal höher als der des ATP ist (Tabelle 3.1), liegt ein ausreichender Vorrat an Phosphoryl-Gruppen vor, um einen hohen Energiebedarf kurzzeitig zu decken.“ [71, S. 69]

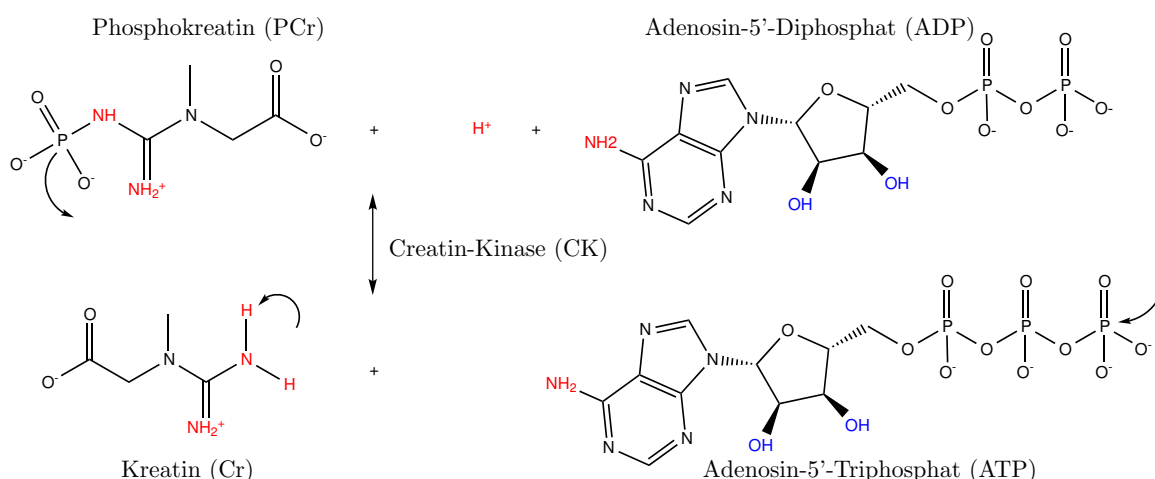


Abbildung 3.7: Strukturformeln der Edukte und Produkte der Creatin-Kinase-Reaktion: Das Enzym Creatin-Kinase (CK) phosphoryliert ADP durch Verbrauch von PCr zu der universellen Energiequelle in allen Zellen, ATP, und Cr. Um die Cr-Struktur zu vervollständigen, wird ein zusätzliches Proton gebraucht. Diese CK-Enzymreaktion ist reversibel: CK katalysiert die Umwandlung von Cr unter ATP-Verbrauch für die Produktion von PCr und ADP. Rot markiert sind die Aminogruppen der Metaboliten, die mit den Wasserprotonen austauschen; blau bezeichnet die labilen Hydroxylgruppen.

Mit der ¹H- und ³¹P-NMR-Spektroskopie lassen sich die einzelnen Resonanzfrequenzen der Metaboliten detektieren. Cr und PCr haben sehr ähnliche ¹H-NMR-Spektren. Ihre jeweiligen Methylresonanzen (CH₃) lassen sich *in vivo* nicht voneinander unterscheiden. Eine Trennung der Methylenresonanzfrequenzen (CH₂) ist erst bei sehr hohen Magnetfeldstärken $B_0 > 7\text{ T}$ möglich. Aus diesem Grund fasst man Cr und PCr oft zum Gesamt-Kreatinsignal zusammen

(total creatine (tCr)). Im menschlichen Muskel liegt die Konzentration vom tCr zwischen 40 und 54 mM [42]. ATP und andere phosphathaltige Moleküle, kann man sehr gut mit der ^{31}P -NMR-Spektroskopie detektieren. Eine Detektion mit der Wasserstoffspektroskopie ist schwierig. Einige chemische Gruppen tauschen zusätzlich Protonen mit dem Wasser aus. Die Spektrallinien sind somit sehr breit. Prinzipiell sind alle labilen Protonen der Metaboliten *in vivo* mit der ^1H -NMR-Spektroskopie nicht detektierbar: Die Austauschraten sind entweder zu hoch und/oder die Konzentration der langsam austauschenden Protonen zu niedrig. Wie von *Kemp et al.* [42] zusammengetragen, reichen die publizierten Konzentrationen von PCr in der Wade von 27 bis 40 mM. In dieser Arbeit wird eine Konzentration von 33 mM angenommen [42]. Somit ergibt sich für die Konzentration des freien Kreatins 12 mM, was auch mit der von *Hultman et al.* ermittelten Konzentration von 15 mM [34] korreliert. Alle bekannten Konzentrationen der Metaboliten aus der Abbildung 3.7, die Resonanzfrequenzen der Wasserstoffprotonen und die Austauschraten der austauschenden Protonen sind in der Tabelle 3.1 zusammengefasst.

Metabolit	chemische Gruppe	δ_b [ppm] im ^1H -NMR-Spektrum [25]	δ_b [ppm] im Z -Spektrum	k_b [s^{-1}]	c [mM]
Cr	CH ₃	3.027			15 [34]
	CH ₂	3.913			
	NH ₂	6.650	1.95	1190 [24]	
			1.80 [28]	950 ± 100 [28]	
PCr	CH ₃	3.029			33 ± 2 [42]
	CH ₂	3.930			
	NH	6.580	1.88 [25]; 1.80 [28]	140 ± 60 [28]	
	NH	7.300	2.60 [25]; 2.50 [28]	120 ± 50 [28]	
ATP	CH	6.127			8.2 ± 0.4 [42]
	CH	4.796			
	CH	4.616			
	CH	4.396			
	CH ₂	4.295			
	CH	4.206			
	CH	8.224			
	CH	8.514			
	NH ₂	6.755	2.06 [25]; 2.0 [28]	140 ± 60 [28]	

Tabelle 3.1: Chemische Verschiebungen der chemischen Gruppen von Kreatin (Cr), Phosphokreatin (PCr) und Adenosin-5'-Triphosphat (ATP) im ^1H -NMR-Spektrum aus [25] und im Z -Spektrum. Die chemische Verschiebung von Wasser liegt im ^1H -NMR-Spektrum bei 4.7 ppm und im Z -Spektrum bei 0 ppm. Die Austauschrate k_b der jeweiligen **Aminogruppen** wurde in [28] bei $B_0 = 9.4\text{ T}$, $\text{pH} = 7.0$ und $T = 37\text{ °C}$ bestimmt. Die Konzentrationswerte c sind auf den menschlichen Muskel bezogen.

Die CEST-MR-Bildgebung bietet als einzige Bildgebungsmethode die Möglichkeit, die austauschenden Protonen der gering konzentrierten Metaboliten indirekt zu detektieren. Die

Detektion des freien Kreatins im lebenden Organismus ist, aufgrund der hohen Austauschrate, eine große Herausforderung. Die Realisierung dieser würde eine Quantifizierung des Metaboliten und die Analyse des Metabolismus *in vivo* erlauben, welche bis jetzt nur mit der ^{31}P -NMR-Spektroskopie möglich war. Die Ergebnisse würden von der, im Vergleich zur ^{31}P -NMR-Spektroskopie, viel höheren Ortsauflösung profitieren.

Kapitel 4

Material und Methoden

Dieses Kapitel stellt die für Messungen und Auswertung der Daten benutzte Hard- und Software vor.

4.1 Simulationen

Bloch-McConnell Simulationen für *In-vitro*- und *In-vivo*-Situationen wurden mit der Simulationssoftware von *Zaiss* [102], welche in Matlab (MATLAB, The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States) realisiert wurde, durchgeführt. Sie beruhen auf analytischen Lösungen der BM-Gleichungen, welche die zeitliche Entwicklung der Magnetisierung von gekoppelten Spinsystemen im externen Magnetfeldern beschreiben [103]. Mit dieser Software kann man nicht nur numerische und analytische Lösungen des Bloch-McConnell Gleichungssystems für *cw*-Einstrahlung vergleichen, sondern auch gepulste Sättigung simulieren. Beispiele der BM-Simulationsparameter für *In-vitro*- und *In-vivo*-Situationen zeigt Tabelle 4.1.

Pools		δ_i [ppm]	f_i	k_i [s ⁻¹]	R_{1i} [s ⁻¹]	R_{2i} [s ⁻¹]
Wasser-Pool a	PBS	0	1	$\sum_i f_i k_i$	0.24	0.5
	Muskel	0	1	$\sum_i f_i k_i$	0.5	20
CEST-Pool b	Cr (pH = 7.0)	1.9	0.180 %	1190	R_{1a}	66.66
	Cr im Muskel	1.9	0.054 %	950	R_{1a}	66.66
MT-Pool c	Agar 1 %	0	-	35.1	0.24	6.30
	Muskel MT	0	7.4 %	66	R_{1a}	$1.15 \cdot 10^5$

Tabelle 4.1: Beispiele für Simulationsparameter verschiedener Protonenpools für *In-vitro*- und *In-vivo*-Situationen. Die Parameter stammen aus [24, 28, 80, 103, 107] und wurden auf die Feldstärke $B_0 = 7$ T angepasst.

4.2 Messsystem

Alle Messungen in dieser Arbeit wurden an zwei klinischen Ganzkörper-MR-Tomographen der Firma SIEMENS (Siemens Healthcare, Erlangen) durchgeführt. Die Ortsauflösung wird bei beiden jeweils durch drei orthogonale Gradientensysteme realisiert; Shimspulen sorgen für die Homogenisierung des Grundmagnetfeldes.

Das Grundmagnetfeld des MAGNETOM TIM TRIO hat eine Magnetfeldstärke von $B_0 = 3$ T (¹H-Larmor-Frequenz: 123.23 MHz). Als Send- und Empfangsspule diente der 8-Kanal Tx/Rx-

Resonator. An diesem Tomographen wurde eine *In-vivo*-Messung durchgeführt. Der Tomograph MAGNETOM 7 T hat eine Magnetfeldstärke von $B_0 = 7$ T (^1H -Larmor-Frequenz: 297.18 MHz). Drei verschiedene Spulen wurden als Sende- und Empfangsspulen eingesetzt:

- eine 1-Kanal-Tx/ 24-Kanal-Rx-Kopfspule für die ersten Phantommessungen,
- eine 1-Kanal-Tx/ 16-Kanal-Rx-Handgelenkspule für die ersten *In-vivo*-Messungen zur *In-vivo*-CrCEST-Realisierbarkeit und Signaloptimierung und
- mit der 1-Kanal-Tx/ 28-Kanal-Rx-Kniespule wurden die Messungen am Multi-Kreatin-Phantom und die *In-vivo*-Messungen an der Wade durchgeführt.

Der Scanner wurde über einen Steuerrechner mit der Software syngoMR[®] betrieben. Die Daten wurden mithilfe der Sequenzen des Herstellers, aber auch mit selbst entwickelten Sequenzen aufgenommen und zur weiteren Verarbeitung auf Datenträger exportiert.

4.3 CEST-Sequenz

Eine typische CEST-Sequenz ist aus einem Sättigungs- und einem Bildgebungsblock aufgebaut. Dabei werden beide Blöcke für jeden Frequenz-Offset wiederholt. Eine schematische Darstellung der CEST-Bildgebungssequenz, sowie die Aufnahme des Z -Spektrums sind in Abbildung 4.1 dargestellt. Für die Messungen wurde eine auf einer Siemens-Produktsequenz beruhenden *Gradientenecho-CEST* (GRE-CEST)-Sequenz verwendet.

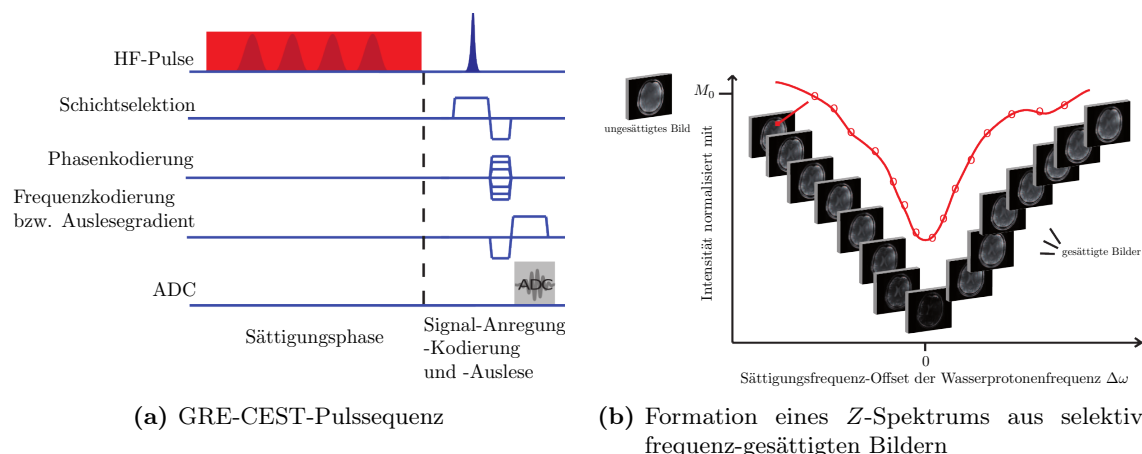


Abbildung 4.1: (a) Schematische Darstellung der GRE-Pulssequenz für CEST-Messungen. Nach der Sättigung auf einer bestimmten Frequenz wird die präparierte Magnetisierung angeregt, ortskodiert und eine oder mehrere k -Raum-Zeilen werden ausgelesen. Die Restmagnetisierung wird mit Crusher-Gradienten zerstört. Dieser Vorgang wird solange wiederholt bis der komplette k -Raum abgetastet ist. Der Phasenkodiergradient ist konstant für die 2D-Bildgebung. Bei der 3D-Bildgebung dienen der Schichtselektionspuls und -gradient zur Volumenauswahl und verschiedene Phasenkodiergradienten kodieren den k -Raum in z -Richtung. (b) Um ein komplettes Z -Spektrum aufzunehmen, wird die Sequenz in (a) für jeden Frequenz-Offset wiederholt. Ein zusätzliches ungesättigtes Bild wird zur Signalnormierung aufgenommen. (Beschreibung aus [102]. Abbildung reproduziert mit freundlicher Genehmigung von IOP Publishing. Copyright © Institute of Physics and Engineering in Medicine. Alle Rechte vorbehalten. *Zaiss et al. Phys Med Biol.* 2013 Nov 21;58(22):R221-69. [104])

Bei einer GRE-Sequenz erfolgt die NMR-Anregung durch einen Puls mit einem kleinen Winkel

$\alpha < 90^\circ$. Simultan zum Anregungspuls wird ein Gradient in Schichtselektionsrichtung angelegt. Dies führt zu unterschiedlichen Larmorfrequenzen entlang dieser Richtung und einer daraus resultierenden Dephasierung der Spins innerhalb der Schicht. Die Addition nicht-phasengleicher magnetischer Momente führt zu einer Abnahme der Transversalmagnetisierung. Daher wird die Gradientenamplitude invertiert. Dies bewirkt eine Rephasierung der Spins und die Formierung eines Gradientenechos. Nach der Akquisition erfolgt Spoiling durch einen Gradientenpuls, um die restliche Transversalmagnetisierung zu zerstören. Auf Grund des kleinen Anregungswinkels kann die Restmagnetisierung ohne Wartezeit wieder angeregt werden. Somit stellt sich bald ein Gleichgewicht der z -Magnetisierung ein. Wie schon erwähnt wird der CEST-Effekt indirekt als Signalabfall der freien Wasserprotonen gemessen. Da die longitudinale Magnetisierung des Wassers – die präparierte Messgröße – nach dem Ende der Sättigung mit T_1 abfällt, wurde der k -Raum *centric reordered* ausgelesen, um möglichst hohen Kontrast des Bildes zu erhalten.

Für gepulste CEST-Messungen wurde die Sequenz von *Schmitt et al.* [68], die Gauß-Pulse als Sättigungsblock enthielt, verwendet. Die Sättigung mit Spin-Lock (SL)-Pulsen wurde von *Rentrop* [59] und *Zaiss* [102] implementiert. Beide Pulsformen wurden in den Messungen für diese Arbeit getestet.

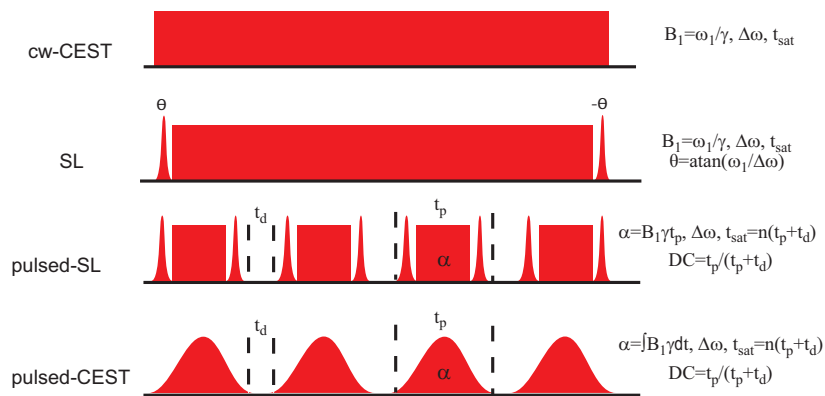


Abbildung 4.2: Sättigungsmethoden: Die *Continuous-wave* (*cw*) Sättigung besteht aus einem Rechteckpuls der Breite t_{sat} , einem Frequenz-Offset $\Delta\omega$ und der HF-Amplitude B_1 . Nahezu denselben Kontrast liefert die Sättigung mit Spin-Lock (SL). Dabei wird der Magnetisierungsvektor vor der Sättigung in das effektive Koordinatensystem gekippt und nach der Sättigung wieder zurück. Klinische MR Systeme erfordern aufgrund der SAR-Grenzwerte gepulste Sättigung. Bei dieser wird der CEST-Effekt von Pulsform, Flipwinkel und Duty Cycle reguliert. (Beschreibung aus [102]. Abbildung reproduziert mit freundlicher Genehmigung von IOP Publishing. Copyright © Institute of Physics and Engineering in Medicine. Alle Rechte vorbehalten. *Zaiss et al.* Phys Med Biol. 2013 Nov 21;58(22):R221-69. [104])

Der Sättigungsblock – oder auch Pulszug genannt – besteht aus n Puls-Pause-Kombinationen. Der Pulszug wird durch folgende Parameter definiert:

- Frequenz-Offset $\Delta\omega$
- Anzahl der Pulse n
- Pulsdauer t_p
- mittlere Amplitude des B_1 -Feldes
- Duty-Cycle DC .

Dabei gilt für den Flipwinkel

$$\alpha = \gamma B_1 t_p. \quad (4.1)$$

Die Pause zwischen den Pulsen wird definiert als

$$t_d = t_p \cdot \left(\frac{1}{DC} - 1 \right). \quad (4.2)$$

Die Sättigungszeit setzt sich aus der Pulsdauer, Pulsanzahl und der Pause zwischen den Pulsen zusammen

$$t_{sat} = n \cdot t_p + (n - 1) \cdot t_d = (n - 1) \cdot \frac{t_p}{DC} + t_p. \quad (4.3)$$

Im Vergleich zu der Sättigung mit Gauß-Pulsen wird bei der gepulsten Spin-Lock-Messung eine Kombination aus drei Pulsen verwendet: Ein Gauß-Puls der Breite 1 ms kippt die Magnetisierung gemäß dem Frequenz-Offset $\Delta\omega$ um den Winkel $\theta = \tan^{-1}\left(\frac{\omega_1}{\Delta\omega}\right)$ in das effektive Koordinatensystem. Anschließend erfolgt Sättigung mit einem um 90° phasenverschobenen Rechteckpuls der Dauer t_p , nach dem die Magnetisierung durch einen zweiten um -90° phasenverschobenen Puls der Länge 1 ms wieder zurück auf die z -Achse gekippt wird. Nach der Pause t_d erfolgt der nächste SL-Puls. Die Puls-Pause-Kombination wird für einen Pulszug mit n Pulsen $n - 1$ Mal durchgeführt; eine Pause nach dem letzten Puls und vor der Signalakquisition ist nicht erforderlich. Durch das Zurückstellen der Magnetisierung werden die zusätzlichen Echo-Pfade automatisch unterdrückt, welche bei der Sättigung mit Gauß-Pulsen durch Crusher-Gradienten spoilt werden müssen.

Die Sättigung mit anschließender Auslese wird für jeden Messpunkt im Z -Spektrum wiederholt. Die Sequenz nimmt $N + 1$ Bilder (*measurements*) pro Schicht auf. Die N Bilder entsprechen den Punkten im Z -Spektrum, die gleichmäßig auf dem einstellbaren Frequenzbereich $[-\Delta\omega_{max}, +\Delta\omega_{max}]$ verteilt werden (Abb. 4.1(b)). Es wurde eine alternierende Frequenzabta- stung gewählt. Damit für alle Messpunkte die gleichen Bedingungen herrschen, wird zwischen den Aufnahmen eine Pause t_{rec} eingefügt. Für Steady-State-Messungen wurde diese Zeit auf ein Minimum reduziert. Zusätzlich zu den gesättigten Bildern wird am Anfang der Sättigung ein Bild ohne Sättigung (M_0) aufgenommen. Durch eine Wartezeit von $t_{sat, M_0} \approx 5 \cdot T_{1a}$ vor diesem Bild wird gewährleistet, dass die Magnetisierung auch wirklich der M_0 -Magnetisierung entspricht.

Für alle durchgeführten Messungen wurde die 2D-GRE-CEST Sequenz verwendet; nur die *In-vivo*-Messung am MAGNETOM TIM TRIO wurde mit der 3D-GRE-CEST Sequenz durchgeführt.

Dieselbe Sequenz wurde auch in den Arbeiten [59, 67, 68, 102] verwendet.

4.4 Z -Spektrum

Die Rekonstruktion der CEST-Bilder, die im DICOM-Format (*Digital Imaging and Commu- nications in Medicine*) vorlagen, erfolgte mit einer in der Arbeitsgruppe [101, 102] in Matlab (MATLAB, The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States) programmierten Software. Dabei wird eine *cubic smoothing spline*-Interpolation der Z -Spektren verwendet. Magnetfeldinhomogenitäten werden in jedem Z -Spektrum pixelweise korrigiert. Zuerst wird jedes Z -Spektrum auf eine Abtastung von 0.01 ppm interpoliert. Die B_0 -Verschiebung wird ebenso

auf 0.01 ppm interpoliert. Daraufhin wird das Z -Spektrum um die gerundete B_0 -Abweichung verschoben. Anschließend wird das Z -Spektrum linear extrapoliert. Zum Schluss wird die Abtastung wieder auf die originale Abtastung des Z -Spektrums reduziert. Die Datenpunkte werden außerdem durch das ungesättigte M_0 -Bild voxelweise normiert. Zusätzlich erlaubt diese Software statistische Analysen von ausgewählten Bildregionen (*ROI, Region of Interest*).

4.5 B_0 - und B_1 -Korrekturmethoden

Das statische Magnetfeld wurde nach der WASSR- (*Water Saturation Shift Referencing*) Methode [43] auf B_0 -Fehler korrigiert. Dabei wurde zu der eigentlichen CEST-Messung ein weiteres Z -Spektrum mit höherer Offset-Auflösung, aber niedrigerer Sättigungsleistung aufgenommen, sodass man ausschließlich direkte Wassersättigung beobachtet. Die Sättigungsparameter waren: 1 Gauß-Puls, $t_p = 25$ ms, $DC = 50\%$, $B_1 = 0.2 \mu\text{T}$, $\Delta\omega = 1.0$ ppm mit Schrittweite 0.1 ppm.

Eine Korrektur der Z -Spektren auf B_1 -Inhomogenitäten erfolgte nach dem Prinzip von *Windschuh et al.* [94]. Für absolute B_1 -Werte im Bildfeld (*field of view (FoV)*) wurde eine B_1 -Karte mit der TurboFLASH Sequenz aufgenommen. Dabei sind für eine verlässliche Korrektur CEST-Messungen bei mindestens drei verschiedenen B_1 -Amplituden notwendig. Durch eine *smoothing spline*-Interpolation der Z -Spektren bei n verschiedenen B_1 -Werten wurden die Daten pixelweise korrigiert. Diese Methode erlaubt die Interpolation von beliebigen B_1 -Werten.

Eine etwas abgewandelte B_1 -Map-Aufnahme und Korrektur wurde bei den Messungen in dieser Arbeit, wie im Folgenden beschrieben, angewendet. Dabei wurde statt den B_1 -Amplituden die Referenzspannung bei einem konstanten, für die Kreatinsättigung optimalen B_1 -Wert variiert. Zu jeder CEST-Messung wurde eine B_1 -Karte mit der entsprechenden Referenzspannung aufgenommen. Die B_1 -Korrektur folgte demselben Prinzip wie in [94]. Der Vorteil dieser Methode ist die zusätzliche Anpassung des Flipwinkels.

Die Bildgebungsparameter der TurboFLASH Sequenz waren wie folgt: Repetitionszeit $TR = 5000$ ms, Echozeit $TE = 2.42$ ms, FoV 180 mm^2 , Matrix 128×128 , Auflösung $1.4 \times 1.4 \times 5 \text{ mm}^3$, Flipwinkel 8° , Bandbreite 651 Hz/Px.

4.6 Messung der T_1 -Relaxationszeiten

Zur Bestimmung der T_1 -Relaxationszeiten wurde die *Saturation-Recovery-GRE*-Sequenz verwendet. Bei den Messungen an Modelllösungen waren die Parameter: Repetitionszeit $TR = 8000$ ms, Echozeit $TE = 1.36$ ms, FoV 180 mm^2 , Matrix 128×128 , Auflösung $1.4 \times 1.4 \times 5 \text{ mm}^3$. Das Signal wurde für 22 verschiedene Erholungszeiten TI aufgenommen: 250 ms, von 300 bis 1000 ms in 100-ms-Schritten und von 1500 bis 7500 ms in 500-ms-Schritten.

Die Parameter der *In-vivo*-Messungen waren: Repetitionszeit $TR = 6000$ ms, Echozeit $TE = 1.36$ ms, FoV 180 mm^2 , Matrix 128×128 , Auflösung $1.4 \times 1.4 \times 5 \text{ mm}^3$. Das Signal wurde für 11 verschiedene Erholungszeiten TI gemessen: von 500 ms bis 5500 in 500-ms-Schritten.

Um absolute T_1 -Karten zu erhalten, wurde der zeitliche Verlauf mit einem Exponentialfit pixelweise ausgewertet.

4.7 Quantitative Auswertung der Z -Spektren

4.7.1 Asymmetrieanalyse

Um den reinen CEST-Effekt zu isolieren, braucht man einen Z -Wert on-resonant auf dem CEST-Pool $Z_{lab} = Z_{lab}(\Delta\omega_{lab})$, genannt Label-Wert (*label scan*) und einen Referenz-Wert (*reference scan*), der alle Effekte, außer den CEST-Effekt, enthält. Die Annahme ist, dass $Z_{ref} = Z_{ref}(\Delta\omega_{ref} = -\Delta\omega_{lab})$. Für die Auswertung der Z -Spektren wurde die konventionelle Asymmetrieanalyse angewendet, wobei $\Delta\omega_{lab} = 1.9$ ppm die Labelfrequenz war und die gegenüberliegende Frequenz der Referenzfrequenz entsprach:

$$MTR_{asym} = Z_{ref} - Z_{lab}. \quad (4.4)$$

Diese wurde mit den Methoden aus Abschnitt 4.7.2 verglichen.

4.7.2 Spillover-, MT- und T_1 -Korrekturen

Um Spillover- und MT-Einflüsse zu korrigieren, wurde die „inverse Metrik“ angewendet [107]:

$$MTR_{R_{ex}} = \frac{1}{Z_{lab}} - \frac{1}{Z_{ref}}. \quad (4.5)$$

Durch Hinzunahme der T_1 -Karte wurden mit *AREX* (*apparent exchange-dependent relaxation*) die reinen, fundamentalen, von Spillover-, MT- und T_1 -Effekten befreiten Parameter des CEST-Pools analysiert:

$$AREX = \frac{R_{1a}}{Z_{lab}} - \frac{R_{1a}}{Z_{ref}} = R_{1a} \cdot MTR_{R_{ex}}. \quad (4.6)$$

R_{1a} ist die longitudinale Relaxationsrate.

4.7.3 Kalibrierung der Konzentrationsmessung

Das *AREX*-Signal sollte nach Gleichung 3.46 linear von der Konzentration abhängen. Deswegen gilt

$$AREX = p \cdot \frac{c_{Cr}}{c_{H_2O,calib}} = m \cdot c_{Cr}, \quad (4.7)$$

mit $m = p/c_{H_2O,calib}$. Dabei ist c_{Cr} die Kreatinkonzentration in Millimol pro Liter (mmol/l bzw. mM) und $c_{H_2O,calib}$ die Wasserkonzentration im Kalibrierungsphantom. Der Parameter p muss experimentell bestimmt werden. Die Kreatinkonzentration im Muskel wird somit durch folgende Gleichung beschrieben:

$$c_{Cr} = AREX \cdot \frac{c_{H_2O,muscle}}{p} = AREX \cdot \frac{c_{H_2O,muscle}}{c_{H_2O,calib}} \cdot \frac{1}{m}. \quad (4.8)$$

Der Bruch $\frac{c_{H_2O,muscle}}{c_{H_2O,calib}}$ wird als konstant angenommen und ist ungefähr 0.77 [11, 77]. Er beschreibt den relativen Wassergehalt im Muskel. Dementsprechend kann die Proportionalitätskonstante m in einem Phantomexperiment ermittelt werden, sodass die Konzentration von Kreatin im Muskel gegeben ist durch

$$c_{Cr,muscle} = AREX \cdot \frac{c_{H_2O,muscle}}{p} = AREX \cdot 0.77 \cdot \frac{1}{m}. \quad (4.9)$$

4.7.4 Kalibrierung der pH-Messmethode

Das Verhältnis zweier $AREX$ -Werte, beziehungsweise zweier $MTR_{R_{ex}}$ -Werte (T_1 kürzt sich aufgrund der Verhältnisbildung heraus), aufgenommen bei zwei verschiedenen B_1 -Amplituden ($\omega_{1,1} = \gamma B_{1,1}$ und $\omega_{1,2} = \gamma B_{1,2}$), sollte unabhängig von der Konzentration sein:

$$AREX\text{-Ratio} = \frac{AREX(\omega_{1,1})}{AREX(\omega_{1,2})} = \frac{f_b k_b \alpha(\omega_{1,1})}{f_b k_b \alpha(\omega_{1,2})} = \frac{\alpha(\omega_{1,1})}{\alpha(\omega_{1,2})}. \quad (4.10)$$

Diese Relation wurde genutzt, um pH-gewichtete Bildgebung zu realisieren. Dabei wurde, um zusätzliches Rauschen aufgrund der T_1 -Messung zu vermeiden, das $MTR_{R_{ex}}$ -Verhältnis zweier B_1 -Messungen gebildet, als Funktion der pH-Werte der gemessenen Phantome aufgetragen und mit einer Geraden gefittet:

$$\text{pH}(AREX\text{-Ratio}) = a \cdot x + b, \quad (4.11)$$

wobei x dem $MTR_{R_{ex}}$ -Verhältnis entsprach.

4.7.5 Fitting-Methoden

Alle Ausgleichsrechnungen (*Fitting*) wurden mit den in Matlab (MATLAB, The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States) eingebauten Funktionen *cfit* and *lsqcurvefit* (Methode der kleinsten Quadrate), beruhend auf dem Trust-Region-Verfahren (*trust region algorithm*) [17, 18, 20], durchgeführt.

Fitting mit *Curve Fitting Toolbox*

Die Anpassungsgüte der Daten und der Fit-Funktion wurde durch folgende Kenngrößen beschrieben: Die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung (*Root Mean Squared Error*) gibt die Abschätzung der Standardabweichung der zufälligen Komponente in den Datenpunkten an und wird definiert als

$$RMSE = \sqrt{MSE} = \sqrt{\frac{RSS}{f}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N w_i (x_i - x_i^{fit})^2}{f}}. \quad (4.12)$$

Dabei ist RSS die Summe der quadrierten Residuen (*residual sum of squares* (RSS)), die die Summe der quadrierten Differenzen zwischen den Werten der Modelkurve x_i^{fit} und den Daten x_i angibt. w_i entspricht der Gewichtung eines jeden Datenpunktes und $f = n - m$ den Freiheitsgraden. Je näher $RMSE$ an der Null ist, desto kleiner ist der statistische Fehler des Modells und umso genauer sind die Vorhersagen des Fits. Zur Berechnung der Konfidenzintervalle der Fitparameter verwendet die *Curve Fitting Toolbox* die Funktion *confint*. Diese Funktion benutzt \mathbf{R}^{-1} (der inverse \mathbf{R} -Faktor aus der \mathbf{QR} -Zerlegung der Jacobi-Matrix), die Freiheitsgrade f und die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung.

Multi- B_1 -Fit

Simultanes Fitten von Z -Spektren verschiedener B_1 -Amplituden wurde mit dem in [102] beschriebenen Tool realisiert. Um Konfidenzintervalle der Fitparameter zu berechnen, benutzt

es die Matlabfunktion *nlparci*. Diese verwendet eine numerisch berechnete Jacobi-Matrix der Methode der kleinsten Quadrate für die nichtlineare Kurvenanpassung (*nonlinear least squares algorithm*), um deren QR-Zerlegung zu berechnen. Dabei ist \mathbf{J} eine $m \times n$ Matrix, wobei m die Anzahl der Parameter und n die Anzahl der Datenpunkte ist. $\mathbf{J} = \mathbf{QR}$, dabei ist \mathbf{Q} eine orthogonale Matrix und \mathbf{R} eine obere Dreiecksmatrix. Die Korrelationsmatrix ist gegeben durch

$$\mathbf{C} = \frac{\mathbf{R}^{-1}(\mathbf{R}^{-1})^T}{|\text{diag}(\mathbf{R}^{-1}(\mathbf{R}^{-1})^T)|}. \quad (4.13)$$

Diese symmetrische $m \times m$ Matrix enthält Einträge mit Werten zwischen -1 und $+1$ und ist ein Maß für die Korrelation der Parameter. Werte nahe Eins bedeuten hohe und nahe Null niedrige Korrelation der Parameter. Um Konfidenzintervalle zu erhalten, wird die Schrittweite der Parameteränderung durch die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung *RMSE* (Gl. 4.12) und die linear approximierte Steigung in jedem Parameter abgeschätzt, die durch den Vektor D

$$D_j = \sqrt{\sum_{i=1}^n R_{ij}^2} \quad (4.14)$$

gegeben ist. Mit der Anwendung des inversen t-Quantils der Student-t-Verteilung mit f Freiheitsgraden wird das Vertrauensintervall c mit dem Konfidenzniveau 95 % berechnet:

$$c_j = D_j \cdot \text{RMSE} \cdot t(95\%, f). \quad (4.15)$$

Diese c_j geben die Fehler der Fitparameter des Multi- B_1 -Fits der Z -Spektren wider. Dabei wird für diesen Fit das oben beschriebene zweidimensionale Problem in ein eindimensionales umformuliert: Sowohl die bei verschiedenen B_1 gemessenen Z -Spektren, als auch ihre entsprechenden Frequenzachsen werden dabei jeweils in einem Vektor gespeichert. Dieses Multi- B_1 -Spektrum wird anschließend mit einer schrittweise definierten Modellfunktion mit passenden B_1 -Werten in jedem Abschnitt gefittet. Die B_1 -Amplituden werden so gewählt, dass Labeling-Veränderungen (Gl. 3.33) abgedeckt werden.

4.8 Modelllösungen von Kreatin

Alle hier beschriebenen Phantomflaschen wurden in einem Acrylglaskreis mit entsprechenden Steckplätzen zusammengehalten (Abb. 4.3(a)-4.3(c)) und in einem isolierten Behälter (Coleman 2 Litre Poly-Lite Jug 15x16x29 cm) (Abb. 4.3(d)) im Wasserbad bei einer Temperatur $T = (37 \pm 2)^\circ\text{C}$ gemessen.

4.8.1 Kreatinphantom – Messung mit gepulstem Spin-Lock

Die ersten Experimente wurden an Modelllösungen von Kreatin mit einer 24-Kanal-Kopfspule am 7-T-Tomographen ausgeführt und dienten der Feststellung der Durchführbarkeit von CEST-Messungen von Kreatin am 7 T mit der implementierten Sequenz. Mithilfe von Simulationen wurden die optimalen Sequenzparameter ermittelt und die simulierten Z -Spektren später mit den Daten verglichen. Es wurden vier phosphatgepufferte (PBS Konzentration 1/15 mol/l)

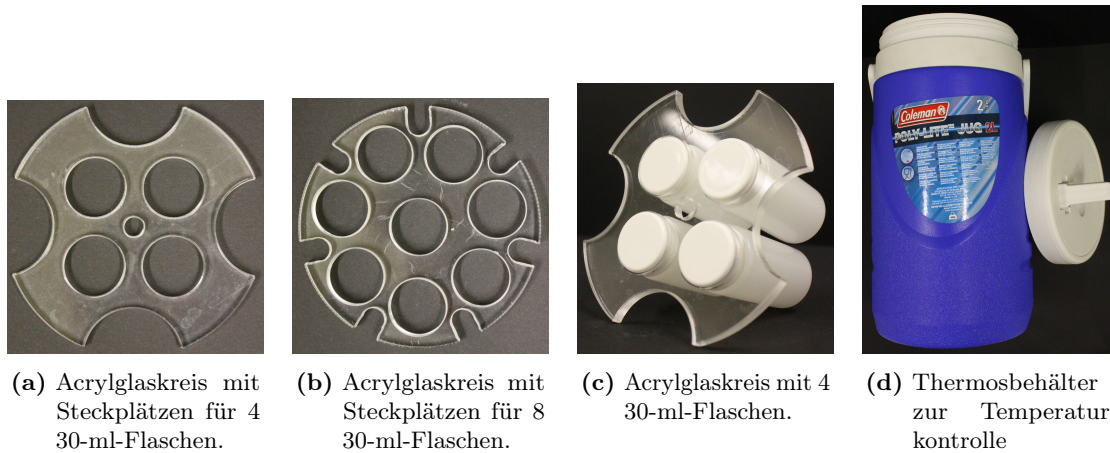


Abbildung 4.3: (a) und (b) Halterungen der Phantomflaschen, die durch ihre maßgefertigten Größen fest in dem Thermosbehälter (d) verankert werden konnten.

Kreatin-Lösungen verschiedener Konzentrationen c von jeweils 5, 13, 20 und 30 mmol/l und einem pH-Wert von jeweils 7.0 untersucht.

Es wurden folgende Sättigungsparameter eingestellt: Sättigungszug aus 50 Spin-Lock-Pulsen mit der Dauer $t_p = 100$ ms und einem Duty Cycle $DC = 50\%$. Die Z -Spektren wurden mit 52 Frequenz-Offset-Punkten von -4 bis $+4$ ppm abgetastet. Die Signalintensität des Wassers wurde als Funktion der Sättigungsfrequenz bei 5 verschiedenen B_1 -Werten (1.0, 1.5, 2.0, 2.5 und $3.0 \mu\text{T}$) untersucht. t_{rec} und t_{rec, M_0} waren jeweils 2 und 15 s.

Die Bildgebungsparameter der CEST-Sequenz waren: Repetitionszeit $TR = 7.1$ ms, Echozeit $TE = 3.4$ ms, FoV 180 mm^2 , Matrix 192×192 , Auflösung $0.94 \times 0.94 \times 5 \text{ mm}^3$, Flipwinkel 10° , Bandbreite 300 Hz/Px .

Die Daten wurden nur auf Inhomogenitäten des statischen Magnetfeldes korrigiert. Der CEST-Kontrast wurde nur mittels des asymmetrischen Anteils des Magnetisierungstransfers MTR_{asym} bestimmt.

4.8.2 Multi-Kreatin-Phantome

Es wurden drei Phantomzusammenstellungen mit jeweils sieben 30-ml-Flaschen hergestellt. Alle Modelllösungen wurden mit $1/15 \text{ mol/l}$ konzentrierter, phosphatgepufferter Salzlösung (KH_2PO_4 und $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$) gepuffert. Die drei Sets der Modelllösungen sind in der Tabelle 4.2 zusammengefasst.

Die Flaschen von Set #1 enthielten 50 mM Kreatinmonohydrat (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) bei $\text{pH} = 7.15$. Um Spillover- und MT-Bedingungen zu simulieren, wurde den Lösungen 0.5% - 2.0% Agar beigefügt. Zur Änderung der T_1 -Relaxationszeit wurden drei Fläschchen, die 0.5% Agar enthielten, jeweils mit 0.125 mM , 0.25 mM und 0.5 mM Magnevist Gd-DTPA (Gadopentetat-Dimeglumin) versetzt. Der pH-Wert änderte sich weder während des Kochvorgangs mit Agar, noch nach Zugabe des Kontrastmittels.

Das Set #2 bestand aus Flaschen mit unterschiedlichen Kreatinkonzentrationen (10, 20, 35, 50, 75, 100 und 125 mM), die auf den pH-Wert 7.15 titriert wurden; es enthielt weder Agar noch Gadopentetat-Dimeglumin.

Phantom #	Set #1	Set #2	Set #3
1	50 mM Cr kein Gd 0.5 % Agar pH = 7.15	10 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.15	50 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 6.32
2	50 mM Cr kein Gd 0.5 % Agar pH = 7.15	20 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.15	50 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 6.54
3	50 mM Cr kein Gd 1.0 % Agar pH = 7.15	35 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.15	50 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 6.74
4	50 mM Cr kein Gd 2.0 % Agar pH = 7.15	50 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.15	50 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 6.94
5	50 mM Cr 0.125 mM Gd 0.5 % Agar pH = 7.15	75 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.15	50 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.15
6	50 mM Cr 0.25 mM Gd 0.5 % Agar pH = 7.15	100 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.15	50 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.40
7	50 mM Cr 0.5 mM Gd 0.5 % Agar pH = 7.15	125 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.15	50 mM Cr kein Gd kein Agar pH = 7.60

Tabelle 4.2: Drei Sets der Multi-Kreatin-Phantome. Jedes Set besteht aus 7 kleinen 30-ml-Flaschen, die im Kreis angeordnet gemessen wurden.

Das dritte Set bestand aus Kreatinlösungen von 50 mM, die jeweils auf die pH-Werte 6.32, 6.54, 6.74, 6.94, 7.15, 7.40 und 7.60 titriert wurden. Auch diesen Lösungen wurde weder Agar, noch Magnevist Gd-DTPA beigelegt.

Es wurden folgende Steady-State-Pulsed-CEST-Sequenz Parameter eingestellt: Sättigungszug aus 50 Gauß-Pulsen mit der Dauer $t_p = 100$ ms und einem Duty Cycle $DC = 50$ %. Die Z-Spektren wurden mit 44 Frequenz-Offset-Punkten von -4 bis $+4$ ppm abgetastet. t_{rec} zwischen den Sättigungszügen war 1 s und das M_0 -Bild wurde nach 15 s Wartezeit t_{rec, M_0} aufgenommen. Als optimales B_1 wurde $1.75 \mu\text{T}$ gewählt und weitere B_1 -Amplituden, die kleiner und größer als diese waren, zur B_1 -Korrektur gemessen: 1.17, 1.36, 1.56, 1.94, 2.33, 2.72, 3.11 und $3.50 \mu\text{T}$.

Die Bildgebungsparameter der CEST-Sequenz waren: Repetitionszeit $TR = 6.9$ ms, Echozeit $TE = 3.36$ ms, FoV 180 mm^2 , Matrix 128×128 , Auflösung $1.4 \times 1.4 \times 5 \text{ mm}^3$, Flipwinkel 10° , Bandbreite 300 Hz/Px .

4.9 In-vivo-Messungen

4.9.1 Kreatin-CEST in der Unterarmmuskulatur – Signalloptimierung

Die Realisierung der gepulsten *In-vivo*-Kreatin-CEST-Messungen am 7-T-Tomographen und spätere Signalloptimierung erfolgte am Unterarm einer Probandin (Proband #0, 25 Jahre). Alle 2D-Transversal-Messungen wurden mit der 16-Kanal-Tx/Rx-Handgelenkspule durchgeführt. Für die Pulsanzahloptimierung wurde ein Pulszug bestehend aus 3, 4, 6 oder 8 Gauß-Pulsen jeweils mit der Pulsdauer $t_p = 100$ ms und einer Pause $t_d = 100$ ms zwischen den Pulsen ($DC = 50$ %) bei $B_1 = 1.7 \mu\text{T}$ verwendet. Für die Optimierung der Labeling-Effizienz wurden mit 5 Gauß-Pulsen der Pulsdauer $t_p = 100$ ms und einer Pause $t_d = 100$ ms zwischen den Pulsen ($DC = 50$ %) 10 verschiedene B_1 -Amplituden (von 0.25 bis $1.75 \mu\text{T}$ in $0.25 \mu\text{T}$ Schritten und zusätzlich $1.65 \mu\text{T}$ und $1.9 \mu\text{T}$) eingestrahlt. Die Z-Spektren wurden für den Frequenz-Offset ± 4 ppm in 0.2 -ppm-Schritten abgetastet. Es wurden folgende Bildgebungsparameter eingestellt: Repetitionszeit $TR = 7.0$ ms, Echozeit $TE = 3.4$ ms, FoV 120 mm^2 , Matrix 128×128 , Auflösung $0.94 \times 0.94 \times 4 \text{ mm}^3$, Flipwinkel 10° , Bandbreite 300 Hz/Px . Um die MR-Bilder besser interpretieren zu können, ist in Abbildung 4.4 die Anatomie des menschlichen Unterarms dargestellt. Die Probandenposition für die transversalen 2D-CEST-Messungen war *Head First-Prone* (HFP), also auf dem Bauch liegend, mit dem Kopf zum Tomographen zeigend. Bei dieser Messreihe fand auch die erste Steady-State-Pulsed-CEST-Messung statt: $n = 30$ und $B_1 = 1.0 \mu\text{T}$. Die restlichen Parameter blieben unverändert.

Alle Daten wurden nur auf B_0 -Inhomogenitäten korrigiert.

4.9.2 Kreatin-CEST in der Wadenmuskulatur

In-vivo-CEST-Messungen an der Wadenmuskulatur wurden an vier gesunden männlichen Probanden (zwischen 25 und 29 Jahren) durchgeführt. Für die Messungen am 7-T-Tomographen wurde die 2D-GRE-CEST-Sequenz und die 28-Kanal-Tx/Rx- ^1H -Kniespule verwendet.

Vor der Steady-State-CEST-Studie wurde das optimale B_1 , welches mit den Einstellungen aus Abschnitt 4.9.1 ermittelt wurde, erneut mit B_1 -korrigierten Daten eines Probanden überprüft. Die CEST-Parameter für die Transient-State-Messung waren hier: $n = 5$, $t_p = 100$ ms und

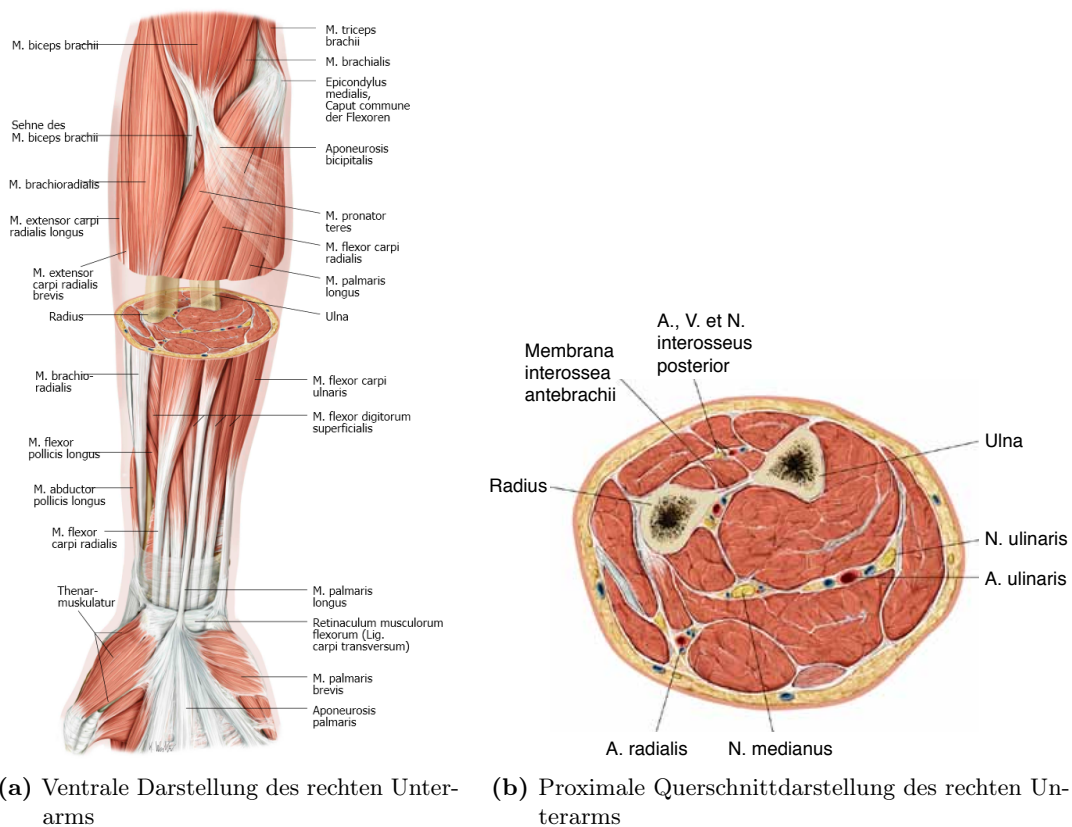


Abbildung 4.4: (a) Anatomische Darstellung des rechten Unterarms und Querschnitt durch diesen (Ansicht von ventral). (b) Querschnitt des rechten Unterarms (Ansicht von proximal; Lage des Querschnitts in (a)). (Abbildungen und Beschreibungen mit freundlicher Genehmigung von Copyright © Schünke et al., Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem, Georg Thieme Verlag KG, 2014 [72].)

$DC = 50\%$ für jeweils sechs verschiedene B_1 -Amplituden: 1.00, 1.25, 1.50, 1.75, 2.00 und $2.15 \mu\text{T}$. Die Z -Spektren wurden für den Frequenz-Offset $\pm 4 \text{ ppm}$ in 0.19-ppm -Schritten abgetastet.

Der Sättigungszug der Steady-State-CEST-Messung bestand aus 40 Gauß-Pulsen mit der Pulsdauer $t_p = 100 \text{ ms}$ und einer Pause $t_d = 100 \text{ ms}$ ($DC = 50\%$) zwischen den Pulsen und $t_{rec} = 5 \text{ s}$. Frequenz-Offsets wurden um den CEST-Pool verteilt: von $\pm 1.3 \text{ ppm}$ bis $\pm 2.5 \text{ ppm}$ in 0.2-ppm -Schritten. Zur Normierung der Z -Spektren wurde mit dem gleichen Sättigungszug nach $t_{rec, M_0} = 15 \text{ s}$ ein Bild ohne Sättigung bei 300 ppm aufgenommen. Proband #1 wurde mit den Referenzamplituden 140 V , 212 V und 270 V und Probanden #2, #3 und #4 mit 140 V , 176 V , 212 V , 240 V und 270 V gemessen. Diese Bilder wurden zur B_1 -Korrektur verwendet. Die Z -Spektren für $B_1 = 1.17 \mu\text{T}$ und $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ wurden generiert. Es wurden folgende Bildgebungsparameter eingestellt: Repetitionszeit $TR = 7.4 \text{ ms}$, Echozeit $TE = 3.94 \text{ ms}$, FoV 180 mm^2 , Matrix 128×128 , Auflösung $1.4 \times 1.4 \times 5 \text{ mm}^3$, Flipwinkel 10° , Bandbreite 300 Hz/Px .

Zusätzlich zu jeder CEST-Messreihe in Ruhe wurden am Ende der Messreihe drei Messungen mit den gleichen Einstellungen wie oben unter Belastung durchgeführt. Für die Plantarflexion-übungen wurde in Zusammenarbeit mit der Werkstatt des Deutschen Krebsforschungszentrums ein MR-kompatibles Fußpedal entworfen und angefertigt. Um einen Kreatinlevel zu erreichen, haben alle Probanden vor der Belastungsmessung 1 bis 2 Minuten das Pedal getreten. Während der Messung wurde das Pedal durchgehend im konstanten Rhythmus getreten – nur für die Signalauslese sollten die Probanden kurz vorher stoppen. Dafür war ein vorhergehendes Kennenlernen des Sequenzablaufs nötig. Die Schichtposition (FoV) hat sich während der Übung nicht verändert.

Für einen Probanden hat eine Messreihe, bestehend aus einer B_0 - und T_1 -Karte, drei B_1 -Karten, drei CEST-Messungen in Ruhe und drei unter Belastung 40 Minuten gedauert.

Auf alle *In-vivo*-Matlabbilder wurde eine bikubische Interpolation angewendet.

Zur besseren Interpretation der CEST-Bilder ist in Abbildung 4.5(a) die rechte Wade aus dorsaler Richtung dargestellt. Den Querschnitt der linken Wade zeigt Abbildung 4.5(b). Die Probandenposition für die transversalen 2D-CEST-Messungen war *Feet First-Supine* (FFS), also auf dem Rücken liegend mit den Füßen zum Tomographen zeigend.

Eine *In-vivo*-Messung wurde am 3-T-Tomographen mit der 8-Kanal-Tx/Rx-Kniespule durchgeführt. Die CEST-Parameter waren: $n = 10$, $t_p = 100 \text{ ms}$, $DC = 60\%$, $t_{rec} = 5 \text{ s}$ und $B_1 = 1.10 \mu\text{T}$. Die Z -Spektren wurden für den Frequenz-Offset $\pm 4 \text{ ppm}$ in 0.2-ppm -Schritten abgetastet. Zur Normierung der Z -Spektren wurde mit dem gleichen Sättigungszug nach $t_{rec, M_0} = 3 \text{ s}$ ein Bild ohne Sättigung bei 300 ppm aufgenommen. Es wurden folgende Bildgebungsparameter eingestellt: Repetitionszeit $TR = 7.1 \text{ ms}$, Echozeit $TE = 3.52 \text{ ms}$, FoV 280 mm^2 , Matrix 128×128 , Auflösung $2.19 \times 2.19 \times 3 \text{ mm}^3$, Schichtanzahl 16, Flipwinkel 10° , Bandbreite 300 Hz/Px .

4.10 *In-vivo*-³¹P-MRS

Die ³¹P-MRS-Spektren wurden vom Probanden #1 vor und während der Muskelkontraktion aufgenommen. Die Messungen wurden mit einer 2D-CSI und einer doppelresonanten ³¹P-¹H-Spule (Rapid Biomed) aufgenommen. Die Belastungsübung lief genauso ab, wie jene während der CEST-Messung. Es gab aber keine Pausen während der Signalauslese. Die CSI-Parameter

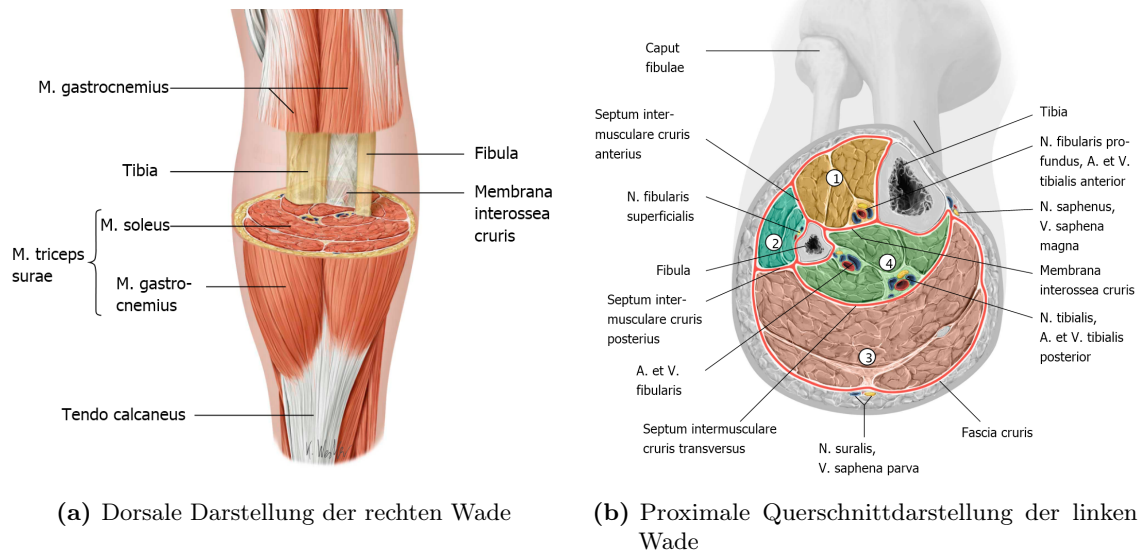


Abbildung 4.5: (a) Anatomische Darstellung der rechten Wade und Querschnitt durch diese (Ansicht von dorsal). (b) Querschnitt durch die linke Wade (Ansicht von proximal). Die Zahlen 1 bis 4 sind jeweils den verschiedenen Muskelgruppen zugeordnet: Musculus tibialis anterior, Musculus fibularis longus, Musculus triceps surae (bestehend aus Musculus soleus und Musculus gastrocnemius) und Musculus tibialis posterior. (Abbildungen und Beschreibungen mit freundlicher Genehmigung von Copyright © *Schünke et al.*, Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem, Georg Thieme Verlag KG, 2014 [72].)

waren wie folgt: Repetitionszeit $TR = 150$ ms, FoV 200 mm^2 , Matrix 16×16 , Voxelgröße $12.5 \times 12.5 \times 30\text{ mm}^3$, Flipwinkel 17° , Bandbreite 4200 Hz/Px , spektrale Auflösung 8.2 Hz , Anzahl der Anregungen $nex = 16$. Durch die 25-ms-Anregung der Wasserprotonen vor der Anregung des ^{31}P -Spinsystems wurde das ^{31}P -NMR-Signal verstärkt (Kern-Overhauser-Effekt (NOE) (Abschnitt 3.1.1)). Die Weiterverarbeitung der Spektren mit jMRUI beinhaltete eine Apodisation mit einem Lorentzfilter der Breite 40 Hz , eine Hanning-gefensterte Interpolation auf eine 32×32 Matrix und eine Phasenkorrektur 0. und 1. Ordnung für jedes Pixel. Mit dem AMARES-Algorithmus wurde das spektrale Fitten durchgeführt. Die modifizierte Henderson-Hasselbalch-Gleichung

$$\text{pH} = pK_A + \log \left(\frac{\delta - \delta_{HA}}{\delta_A - \delta} \right) \quad (4.16)$$

mit $pK_A = 6.75$, $\delta_{HA} = 3.27\text{ ppm}$, $\delta_A = 5.63\text{ ppm}$ und der chemischen Verschiebung δ zwischen den Resonanzen des Phosphokreatins PCr und des inorganischen Phosphats ermöglichte die pH-Bestimmung aus den ^{31}P -CSI-Daten.

Kapitel 5

Ergebnisse

Dieses Kapitel zeigt, dass Kreatin-CEST bei physiologischen Bedingungen *in vitro* und *in vivo* messbar ist. Desweiteren erhält man mit den Spillover-, MT- und T_1 -kompensierenden Methoden einen unverfälschten CEST-Effekt, der pH-Mapping und mit der Kalibrierung der Konzentrationsmessung die Konzentrationsbestimmung von Kreatin im menschlichen Muskel ermöglicht. Die hier präsentierten Ergebnisse wurden zum Teil schon in [61, 62, 63] publiziert.

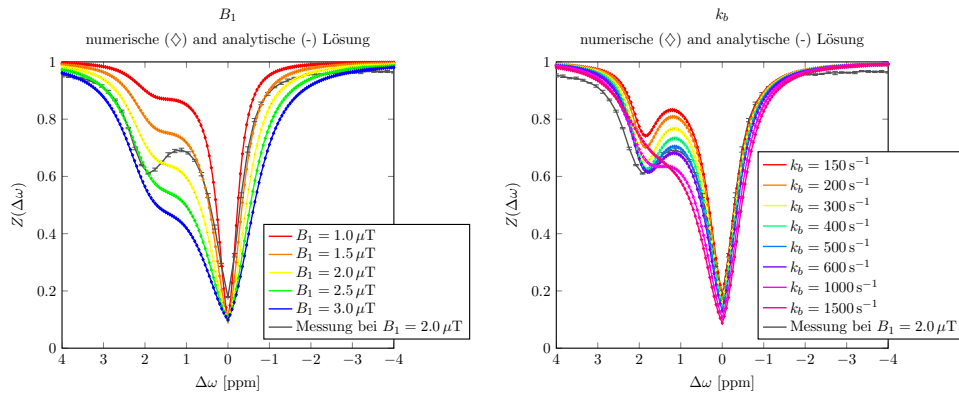
5.1 Kreatin-CEST mit Spin-Lock-Pulsen

Die ersten Phantommessungen mit Kreatin dienten der Feststellung der Messbarkeit von Kreatin-Steady-State-CEST bei physiologischen Bedingungen mit der implementierten Sequenz. Vier Kreatinkonzentrationen wurden am 7-T-Tomographen mit der 24-Kanal-Kopfspule bei fünf verschiedenen B_1 -Amplituden gemessen; zur Sättigung wurden SL-Pulse verwendet. In den vorhergehenden 2-Pool-Modell-Simulationen wurden die optimalen Sättigungsparameter ermittelt. Die Z - und Asymmetriespektren aller Phantome zeigten für jedes gemessene B_1 einen CEST-Effekt von Kreatin bei 1.9 ppm (Beispiel in Abbildung 5.2). Der Vergleich mit den Simulationen erfolgte durch Kurvenverlaufvergleich. Ein Beispiel der simulierten Parameter ist der Tabelle 5.1 zu entnehmen. Wie man in Abbildung 5.1 sehen kann, stimmt

Pools		δ_i [ppm]	f_i	k_i [s ⁻¹]	R_{1i} [s ⁻¹]	R_{2i} [s ⁻¹]
Wasser-Pool a	PBS	0	1	$\sum_i f_i k_i$	0.24	0.5
CEST-Pool b	Cr (pH = 7.0)	1.9	0.108 %	1190	R_{1a}	66.66

Tabelle 5.1: Simulationsparameter für den Vergleich mit der Messung von 30 mM Kreatin (pH = 7.0, T = 37 °C) in PBS bei $B_0 = 7$ T mit $B_1 = 2.0 \mu$ T. Die Austauschrate k_b von Kreatin stammt aus [24].

das gemessene Z -Spektrum nicht mit den Simulationen überein. Hier ist das Z -Spektrum des 30-mM-Kreatinphantoms, welches mit $B_1 = 2.0 \mu$ T gemessen wurde, viel schmaler (Abb. 5.1(a)) als das simulierte. Ein Indiz für diese starke Abweichung ist unter anderem eine inkorrekte Annahme der Austauschrate k_b . Der Vergleich mit den Simulationen gleicher Sättigungsparameter, wie in der Messung, in denen nur die Austauschrate im Bereich von 150 bis 1500 s^{-1} verändert wurde 5.1(b), zeigt, dass die eigentliche Austauschrate von Kreatin in den Phantomen sehr wahrscheinlich kleiner ist, als die von *Görke et al.* [24] vorhergesagte und für die Simulationen verwendete. Nach Variation der Parameter und Vergleich der Simulationen mit den Messdaten, sind die Simulationen, die mit den Spektren vom Phantom mit 13 mM und 30 mM Kreatin am besten übereinstimmen, in der Abbildung 5.2 für alle gemessenen B_1 -Amplituden zusammengefasst. Dabei passen die Ergebnisse mit der Austauschrate $k_b =$



(a) Simulierte Z -Spektren bei unterschiedlichen Sättigungsleistungen im Vergleich mit dem gemessenen Spektrum bei $B_1 = 2.0 \mu\text{T}$

(b) Simulierte Z -Spektren für unterschiedliche Kreatin-Austauschraten k_b im Vergleich mit dem gemessenen Spektrum bei $B_1 = 2.0 \mu\text{T}$

Abbildung 5.1: Vergleich des bei $B_0 = 7 \text{ T}$ mit $B_1 = 2.0 \mu\text{T}$ gemessenen Z -Spektrums von 30 mM Kreatin ($f_b = 0.108 \%$) mit den Simulationsergebnissen für verschiedene B_1 . Alle Sättigungsparameter in den Simulationen entsprachen denen der Messung: 50 SL-Pulse, $t_p = 100 \text{ ms}$, $DC = 50 \%$. Annahmen über unbekannte Pool-Parameter sind der Tabelle 5.1 zu entnehmen. Ein Bild zeigt immer simulierte Z -Spektren mit einem veränderlichen Parameter (B_1 bzw. k_b), während alle anderen denen der Startparameter aus Tabelle 5.1 entsprechen.

$(690 \pm 50) \text{ s}^{-1}$ und der longitudinalen Relaxationsrate $R_{1a} = 0.2 \text{ s}^{-1}$ am besten zu den SL-Messdaten. Die zunehmenden Abweichungen der Z -Spektren von der Simulation für höhere B_1 -Werte lassen sich auf die mit ansteigender HF-Einstrahlung wachsende Sensitivität der Spin-Lock-Pulse und damit auf die Zunahme vom Spillover zurückführen. Spektren bei $B_1 = 2.0 \mu\text{T}$ der Phantome anderer drei Kreatinkonzentrationen stimmen auch recht gut mit den Simulationen mit $k_b = (690 \pm 50) \text{ s}^{-1}$ und $R_{1a} = 0.2 \text{ s}^{-1}$ überein. Zu bemerken ist, dass die Daten nur B_0 -korrigiert wurden und wegen hoher B_1 -Feldinhomogenität nur sehr kleine ROIs nah am Isozentrum ausgewertet wurden.

Abbildung 5.3 gibt Einblick in die Ungleichmäßigkeit der Feldstärken und bestätigt die Notwendigkeit der Korrektur: Abbildung 5.3(a) zeigt die B_0 -Inhomogenitäten, die man direkt aus den Z -Spektren erhält. In der Farbkarte sieht man die Schwankungen des Minimums des Z -Spektrums, welches aufgrund der Wasserresonanzfrequenz bei 0 ppm liegen sollte, im Bereich von $\pm 0.2 \text{ ppm}$. In der dazugehörigen MTR_{asym} -Karte (Abb. 5.3(d)) bei 1.9 ppm spiegeln sich diese Magnetfeldfluktuationen wider. Die feinere Abtastung der WASSR-Methode detektiert genauere Magnetfeldschwankungen (Abb. 5.3(b)) und ermöglicht eine bessere Wiedergabe des CEST-Kontrastes (Abb. 5.3(e)). Die residualen Inhomogenitäten in der MTR_{asym} -Karte sind auf das heterogene B_1 -Feld (Abb. 5.3(c)) zurückzuführen und verschwinden nach der B_1 -Korrektur (Abb. 5.3(f)). Die Analyse der Signalintensität in Abhängigkeit von der Konzentration lieferte eher eine lineare Abhängigkeit von MTR_{asym} von der Konzentration c , was von *Haris et al.* [28] postuliert wurde, als eine Proportionalität von $MTR_{R_{ex}}$ zu der Konzentration (Gl. 3.45). Die Vermutung liegt nahe, dass die noch unkorrigierten B_1 -Schwankungen die inverse Metrik stark beeinflussen. Aber auch für den MTR_{asym} -Fit ist die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung $RMSE = 0.35$.

Aus diesem Experiment können drei wichtige Schlussfolgerungen gezogen werden:

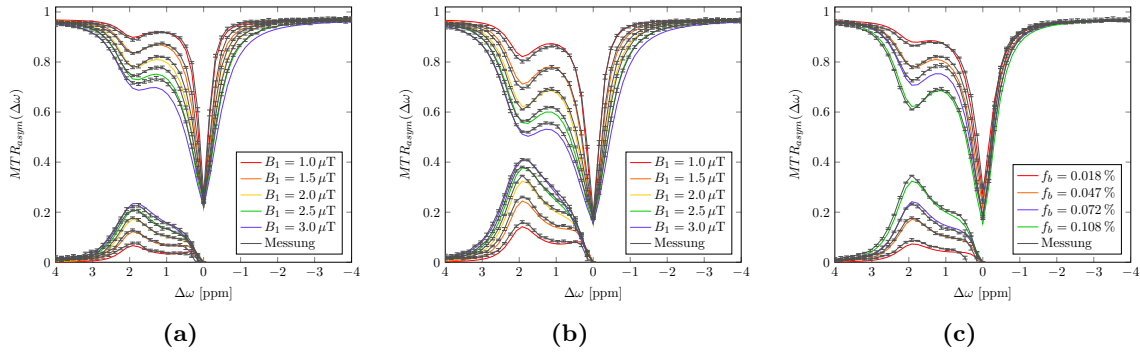


Abbildung 5.2: Z - und MTR_{asym} -Spektren der Kreatinlösungen mit den Konzentrationen $c = 13$ mM (a) und $c = 30$ mM (b) gemessen bei verschiedenen B_1 -Werten. Farblich markiert sind die Simulationsergebnisse für diese B_1 -Werte. Simulationen mit $k_b = (690 \pm 50) s^{-1}$ und $R_{1\alpha} = 0.2 s^{-1}$ geben die gemessenen Spektren am besten wieder. Spektren zu verschiedenen f_b (c) lassen sich mit $k_b = (690 \pm 50) s^{-1}$ und $R_{1\alpha} = 0.2 s^{-1}$ an die Messergebnisse bei $B_1 = 2.0 \mu T$ gut anpassen.

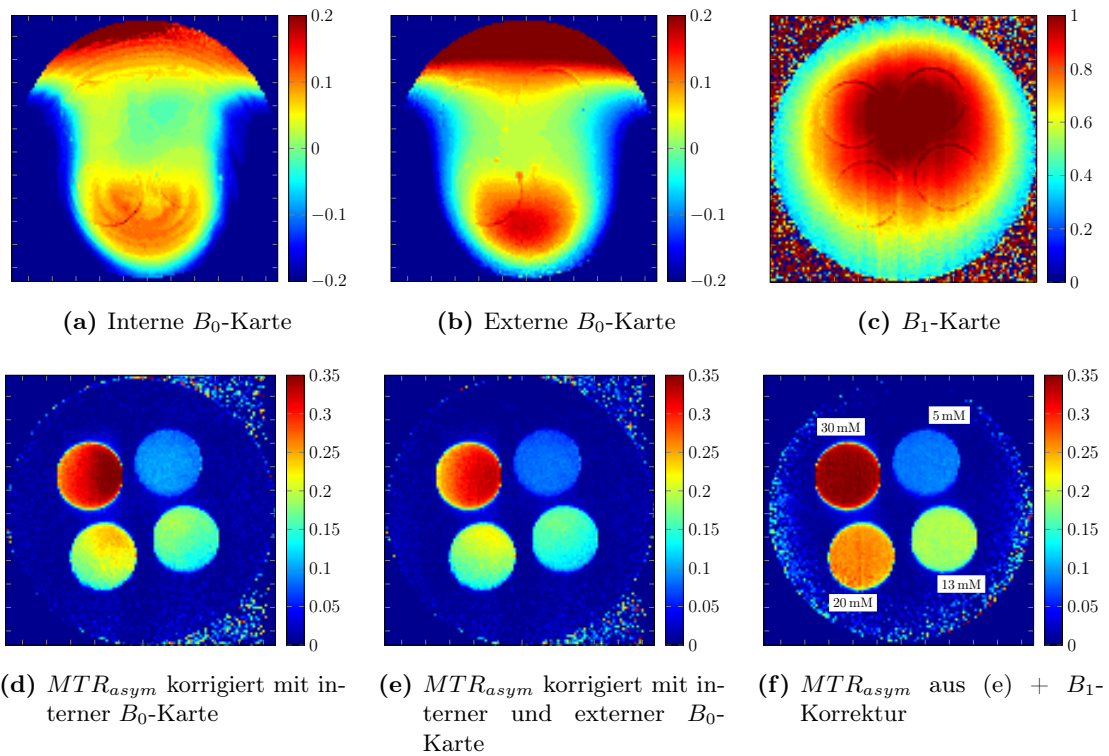


Abbildung 5.3: Starke Feldinhomogenitäten bestimmen entscheidend den CEST-Effekt. In (a) ist die interne B_0 -Karte, generiert aus den Z -Spektren, dargestellt. Das externe B_0 -Bild (b), welches durch die WASSR-Methode feinere Fluktuationen registriert, liefert eine bessere Korrektur der Z -Spektren und somit des Kontrastes (vgl. (d) und (e)). Die Farbkodierung bei beiden Karten gibt die Abweichungen des Minimums des Z -Spektrums von 0 ppm – der Resonanzfrequenz des Wassers – an. In (c) sieht man die Inhomogenitäten der relativen B_1 -Feld-Karte. (d)-(f) zeigen die entsprechenden MTR_{asym} -Kontraste bei 1.9 ppm nach der jeweiligen Magnetfeldkorrektur.

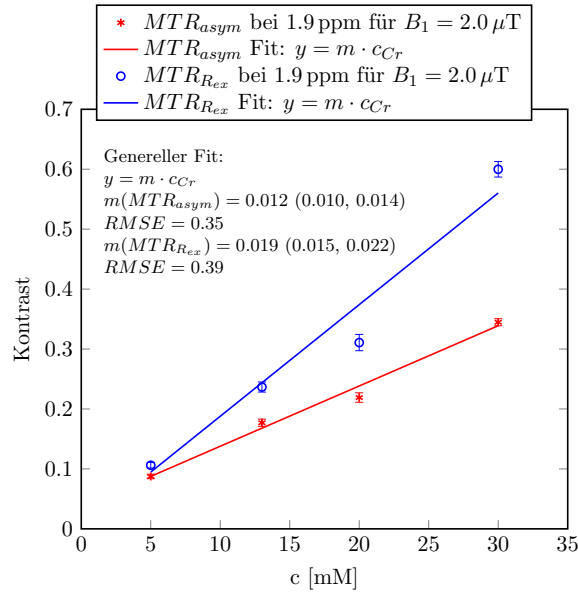


Abbildung 5.4: CEST-Kontrast von MTR_{asy} und MTR_{Rex} bei 1.9 ppm als Funktion der Konzentration c des Kreatin-PBS-Phantoms für $B_1 = 2.0 \mu\text{T}$ mit der entsprechenden linearen Fitfunktion. Die statistischen Fehler der Fits sind relativ hoch – die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung $RMSE$ ist für beide Kontraste ungefähr 0.4.

1. Spin-Lock-CEST bei $B_0 = 7\text{T}$ ist für Kreatin im *intermediate exchange* (auch für kleine Konzentrationen) möglich.
2. Der CEST-Kontrast ist sehr sensitiv auf Magnetfeldinhomogenitäten. Deren Korrektur ist notwendig.
3. Aufgrund der Empfindlichkeit der hier verwendeten Spin-Lock-Pulse auf B_0 -Inhomogenitäten [66, 102], wird im Weiteren mit Gauß-Pulsen gesättigt.

5.2 Kreatin-CEST *in vivo* – Realisierbarkeit und Signaloptimierung mit Gauß-Pulsen

Die ersten *In-vivo*-CEST-Messungen und Signaloptimierungen wurden am Unterarm einer Probandin mit der Handgelenkspule durchgeführt. Klinische Tomographen erlauben auf Grund der strikten SAR-Grenzwerte nicht beliebig lange Sättigungszüge und Messungen mit hoher HF-Einstrahlung. Aus diesem Grund stand nicht das gesamte Parameterspektrum zur Verfügung.

Pulsanzahl-Optimierung

Die mit Gleichung 3.35 ermittelte obere Grenze der B_1 -Amplitude, also das optimale B_1 ohne die Sättigung störender Effekte, beträgt für austauschende Kreatinprotonen ($\delta\omega_b = 1.9\text{ ppm}$, $B_0 = 7\text{ T}$) $3.06 \mu\text{T}$, wenn eine Austauschrate $k_b = 1190\text{ s}^{-1}$ [24] angenommen wird. Für $k_b = 950\text{ s}^{-1}$ [28] ist $B_1 = 2.74 \mu\text{T}$. Um dem Spillover und MT entgegenzuwirken, wurde bewusst eine kleinere B_1 -Amplitude für die Optimierung der Sättigungspulsanzahl n gewählt.

Auffällig sind die Breite und Tiefe des *In-vivo*-Z-Spektrums in Abbildung 5.5 (im Vergleich zu Ergebnissen von Phantommessungen, Abschnitt 5.1), die nicht nur stark vom Spillover-Effekt und Magnetisierungstransfer beeinflusst werden, sondern auch von der Pulsanzahl. Die Asymmetrieanalyse zeigt einen breiten Kurvenverlauf, dessen Sättigungsmaximum sich erstens mit steigender Pulsanzahl von der Wasserresonanzfrequenz in Richtung 1.9 ppm verschiebt und zweitens sich der maximale CEST-Effekt nicht für die höchste Pulsanzahl herausbildet.

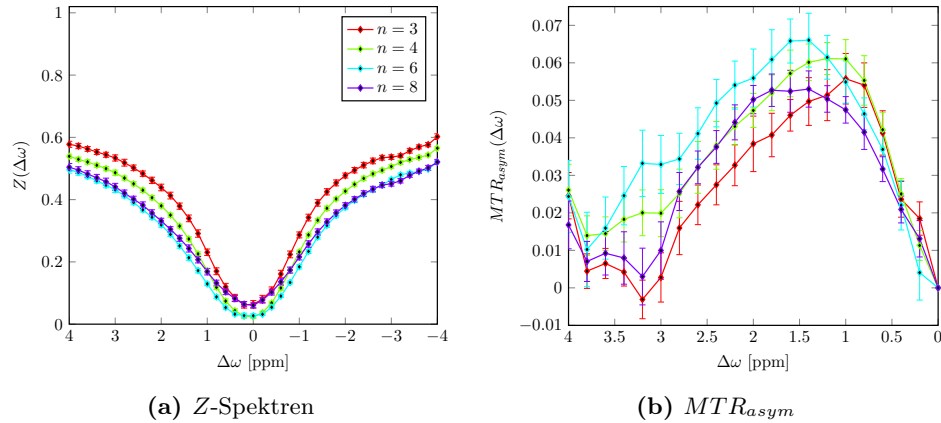


Abbildung 5.5: Proband #0 (weiblich, 25 Jahre): Unterarm-CEST-Messung *in vivo* bei $B_0 = 7$ T mit Sättigungsparametern $t_p = 100$ ms, $DC = 50\%$ und $B_1 = 1.7 \mu\text{T}$: (a) Z-Spektren und (b) MTR_{asym} für $n = 3, 4, 6$ und 8 Gauß-Pulse. Maximales MTR_{asym} ist für $n = 6$ erkennbar. Der Signalabfall im Z-Spektrum bei -3.5 ppm resultiert aus der direkten Sättigung der Fettprotonen. Diesem Chemical-Shift-Artefakt wird bei den folgenden *In-vivo*-Messungen mit der In-Phase-Einstellung des Wasser- und Fettsignals entgegengewirkt.

B₁-Optimierung

Das Verhalten von Z- und MTR_{asym} -Spektren in Abhängigkeit von B_1 wurde am Unterarm einer Probandin bei $B_0 = 7$ T mit den Sättigungsparametern $n = 5$, $t_p = 100$ ms und $DC = 50\%$ untersucht. Die Z-Spektren werden mit wachsender B_1 -Amplitude tiefer und breiter ((Abb. 5.6(a)). Gleichzeitig steigt der CEST-Effekt und hat sein Maximum bei $B_1 = 1.65 \mu\text{T}$ (Abb. 5.6(b)). Die zwei höheren HF-Amplituden liefern auf Grund des damit verbundenen stärkeren Spillover-Einflusses einen kleineren Sättigungstransfer-Effekt. Auf Grund fehlender Fettsignalunterdrückung in der verwendeten GRE-CEST-Sequenz wird der Chemical-Shift-Artefakt bei -3.5 ppm, welches auf die direkte Sättigung der Resonanzfrequenz der Methylenprotonen der freien Fettsäuren zurückzuführen ist ($\delta = 1.4$ ppm im konventionellen ^1H -NMR-Spektrum mit $\delta = 0$ für die Referenz Tetramethylsilan (TMS)), im Folgenden durch das In-Phase-Bringen der Magnetisierungen der Fett- und Wasserprotonen reduziert.

Labeling-Effizienz aufgrund der Sättigungszeit und B₁-Amplitude

Um das Ergebnis aus dem oberen Abschnitt 5.2 (B_1 -Optimierung) mit B_1 -korrigierten Daten zu bestätigen, wurde die Messung an der Wade eines Probanden wiederholt; zusätzlich wurde das Ergebnis mit dem einer Steady-State-Messung verglichen (Abb. 5.7). Mit steigendem B_1

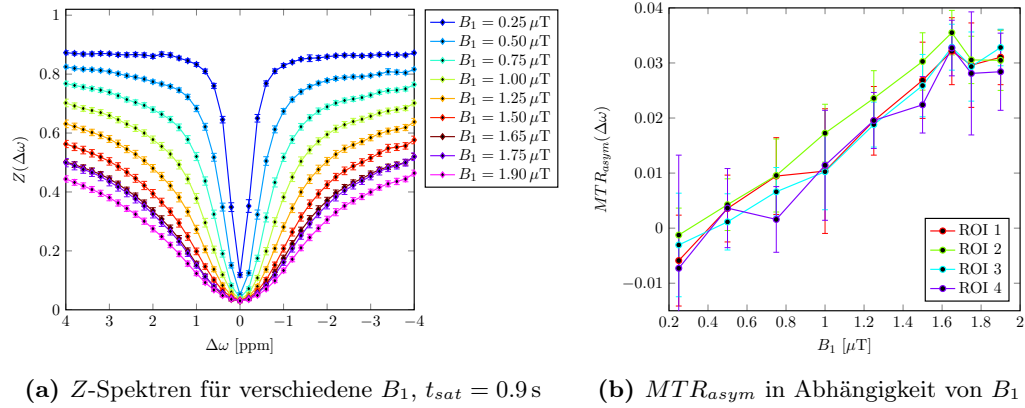


Abbildung 5.6: Proband #0 (weiblich, 25 Jahre): Unterarm-CEST-Messung *in vivo* bei $B_0 = 7$ T mit Sättigungsparametern $n = 5$, $t_p = 100$ ms, $DC = 50\%$: (a) Z-Spektren für verschiedene B_1 , (b) MTR_{asym} bei 2.0 ppm als Funktion dieser B_1 aus 4 verschiedenen ROIs. MTR_{asym} ist für $B_1 = 1.65 \mu\text{T}$ maximal.

wird das Z-Spektrum der Transient- und Steady-State-Messung flacher und breiter und der CEST-Peak nimmt in Amplitude und Breite zu. Aufgrund der mit B_1 wachsenden direkten Wassersättigung und des makromolekularen Magnetisierungstransfers fällt die Intensität des CEST-Peaks jedoch nach dem Erreichen des Maximums bei $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ wieder ab (Abb. 5.7(b)). Der CEST-Effekt nimmt auch mit steigender Sättigungszeit t_{sat} zu und erreicht nach einigen T_1 den Steady-State (Abb. 3.5(b)) [102]. MTR_{asym} verliert für eine achtmal längere Sättigungszeit insgesamt fast die Hälfte der Signalstärke – die maximale B_1 -Amplitude liegt jedoch auch hier bei $1.75 \mu\text{T}$ (Abb. 5.7(b)). Diese HF-Amplitude wurde für die folgenden Messungen als optimales B_1 definiert.

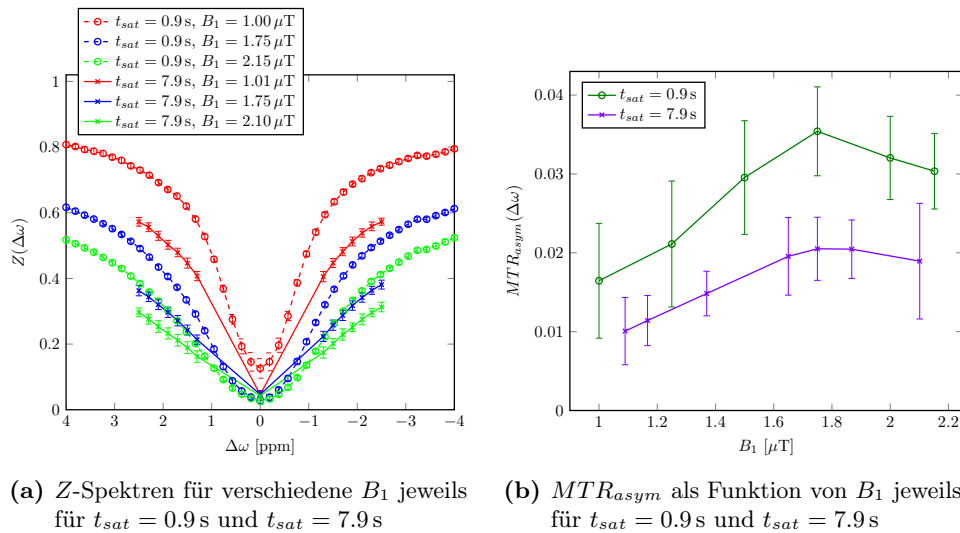


Abbildung 5.7: Proband #3 (männlich, 25 Jahre): CEST-Messung der Wade *in vivo* bei $B_0 = 7$ T: (a) Abhängigkeit der Z-Spektren von den Sättigungsparametern t_{sat} und B_1 . (b) MTR_{asym} bei 2.0 ppm als Funktion von B_1 für zwei Sättigungszeiten.

Trotz des Signalverlustes in MTR_{asym} habe ich mich aus folgendem Grund entschieden

bei langen Sättigungszeiten ($t_{sat} \gtrsim T_1$) zu messen: Eine Steady-State-Messung liefert zwar ein geringeres MTR_{asym} , aber sie erlaubt wirksames „Labeln“ der Protonen und erfüllt die Voraussetzungen für die Korrektur des, durch die oben genannten und in den Kapiteln 3.2 und 3.3 vorgestellten Störeffekte, verzerrten Signals mit der inversen Metrik von [103], welche zusätzlich direkten Zugang zu den Eigenschaften der austauschenden Protonen bietet.

5.3 Die erste gepulste Steady-State-CEST-Messung *in vivo*

Die erste Steady-State-CEST-Messung mit Gauß-Pulsen wurde mit der Handgelenkspule durchgeführt. Man kann sehr gut die Elle (*Ulna*) und Speiche (*Radius*), sowie die *Membrana interossea antebrachii*, die die beiden Knochen verbindet, erkennen (Abb. 5.8). Die Fettschicht und die Arterien, sowie die Unterarmmuskulatur sind (auch) sichtbar. Auf Grund starker B_1 -Inhomogenitäten (Abb. 5.8(b)) ist der in Abbildung 5.8(c) dargestellte CEST-Effekt in der MTR_{asym} -Karte bei 2.0 ppm nicht gleichförmig. Das maximale Signal liegt bei 0.04. $MTR_{R_{ex}}$ wird stark vom inhomogenen B_1 -Feld beeinflusst. Bei einer Aufnahmezeit von 10 Minuten allein nur für die CEST-Messung bedarf die Messung weiterer Geschwindigkeitsoptimierungen. Für das Überprüfen der 1/Z-Methode ist eine B_1 -Korrektur essenziell.

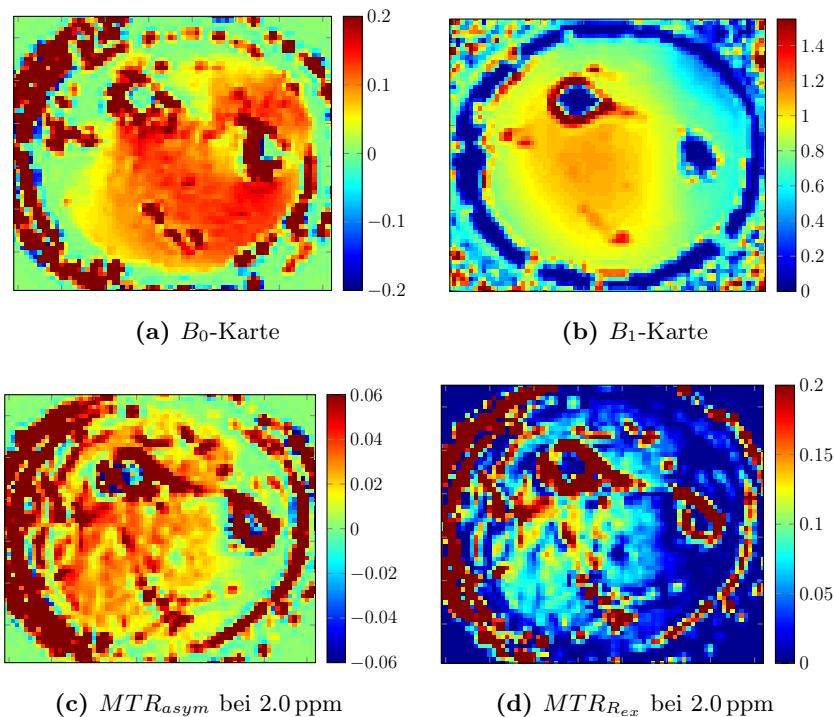


Abbildung 5.8: Steady-State-CEST-Messung *in vivo* vom rechten Unterarm einer Probandin bei $B_0 = 7$ T: $t_{sat} = 5.9$ s und $B_1 = 1.0$ μ T. B_0 -Inhomogenitäten (a) wurden mit der WASSR-Methode korrigiert. Das relative B_1 -Bild ist sehr heterogen (b). Dennoch wurden keine B_1 -Korrekturen vorgenommen. Das MTR_{asym} -Signal (c) scheint weniger stark von den B_1 -Inhomogenitäten beeinflusst zu sein als $MTR_{R_{ex}}$ (d), zeigt aber auch Bereiche ohne CEST-Signal im Muskel.

5.4 Inverse Metrik und T_1 -Kompensation am Multi-Kreatin-Phantom

Um den CEST-Effekt von Kreatin im mittleren Bereich der Austauschrate (*intermediate exchange regime*) besser verstehen zu können, wurden am 7-T-Ganzkörpertomographen Phantom-CEST-Messungen mit gepulster Sättigung durchgeführt und mit verschiedenen Evaluationsmethoden analysiert. Drei unterschiedliche Zusammenstellungen von Multi-Kreatin-Phantomen sollten Störeffekte und Einflüsse der CEST-Parameter simulieren. Zur Korrektur von MT und Spillover und ihrer Analyse diente Set #1 bestehend aus Kreatinlösungen konstanter Konzentration und konstantem pH, aber unterschiedlichen Agarkonzentrationen. Der durch T_1 -Relaxation verfälschte CEST-Effekt und seine Korrektur mithilfe von *AREX* wurde durch zusätzliche Kontrastmittelgabe moduliert. Verschiedene Kreatinkonzentrationen (Set #2) variierten den Parameter f_b , wobei der pH-Wert und die Temperatur den physiologischen Bedingungen entsprachen. Die Austauschrate k_b wurde durch unterschiedliche pH-Werte (Set #3) moduliert. Alle nachfolgenden Daten sind B_0 - und B_1 -korrigiert.

In Abbildung 5.9 sind die B_1 -korrigierten Z -Spektren der Kreatinmodelllösungen von Phantom-Set #1 und die Ergebnisse der verschiedenen Evaluierungsmethoden dargestellt. Die Relaxationsparameter wurden durch die Zugabe von Gd-DTPA und die Solidifikation mit Agar verändert, während der pH-Wert und die Konzentration konstant gehalten wurden. Z -Spektren aller Phantome (Abb. 5.9(a)) zeigen einen deutlichen Sättigungstransfer-Effekt von Kreatin bei 1.9 ppm – dies ist auch in der Asymmetrieanalyse (Abb. 5.9(b)) erkennbar. Trotz identischer Kreatinkonzentrationen zeigt MTR_{asym} sehr unterschiedliche Effektstärken in den verschiedenen Phantomen. Dies ist auf den Spillover-Effekt und die Skalierung des CEST-Effekts mit T_1 zurückzuführen. Der CEST-Effekt sinkt mit steigender Agar- (MT-Zunahme) und Kontrastmittelkonzentration (kürzer werdende T_1 -Relaxationszeiten). Die Abbildung 5.9(c) zeigt, dass die inverse Metrik $MTR_{R_{ex}}$ [107] in der Lage ist, die Daten auf direkte Wassersättigung und MT-Einflüsse zu korrigieren: Die Spektren der Agarphantome (A1-A4) weisen gleiche Signalintensitäten auf. Eine Auswertung mit *AREX* führt schließlich zur Korrektur der T_1 -Modulation und zu einer einheitlichen Signalstärke in allen Phantomflaschen von Set #1 (Abb. 5.9(d)).

Die Notwendigkeit der B_1 -Korrektur für die spillover-korrigierenden Kontraste $MTR_{R_{ex}}$ und *AREX* sieht man deutlich in der Abbildung 5.10. Die CEST-Karten bei 1.9 ppm, gemessen mit $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$, zeigen aufgrund des radialen Abfalls der B_1 -Amplitude eine nach außen schwächer werdende Signalintensität (Abb. 5.10(d)-5.10(f)). Auch nach der B_1 -Korrektur verfälschen die MT- und T_1 -Unterschiede in den Phantomen den mit Asymmetrieanalyse berechneten CEST-Effekt (Abb. 5.10(a)). MTR_{asym} führt zur Fehlinterpretation der Signale als Änderungen von pH und Konzentration (zum Beispiel MTR_{asym} -Signale in Abbildungen 5.9, 5.12 und 5.13). Dies wurde von *Zaiss et al.* in [107] für kleine Austauschraten (*slow exchange regime*) von Kreatin gezeigt. *AREX* liefert nach B_1 - und T_1 -Korrekturen (Abb. 5.10(c)) einen fast homogenen Kontrast von $(0.23 \pm 0.01) \text{s}^{-1}$. Die Abweichungen resultieren aus Ungenauigkeiten der B_1 -Korrektur-Methode. Aus der geringen B_1 -Abhängigkeit von MTR_{asym} (Abb. 5.10(d)) könnte man schließen, dass die Asymmetrieanalyse vorteilhafter ist, als die anderen vorgeschlagenen Auswertemethoden. Die Abbildung 5.11 veranschaulicht jedoch, dass die geringe Abhängigkeit von B_1 nur daher rührt, dass MTR_{asym} gerade bei dem verwendeten B_1 sein Maximum hat. Die Höhe und Position des Maximums der MTR_{asym} -Werte wird von der direkten Wassersättigung und somit von der Agarkonzentration bestimmt (Abb. 5.11,

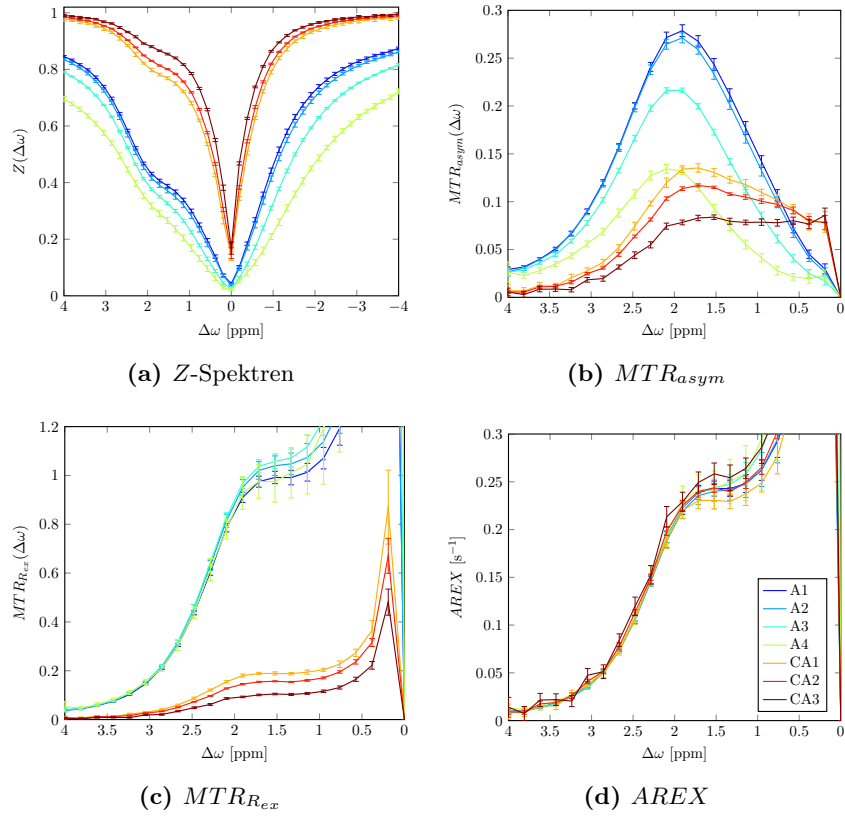


Abbildung 5.9: CEST-Spektren des Multi-Kreatin-Phantom-Sets #1: 50 mM Kreatin in 7 verschiedenen Wasserumgebungen gemessen bei $B_0 = 7$ T, $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$, pH = 7.15 und $T = 37^\circ\text{C}$. Die Phantome A1-A4 weisen gleiche T_1 -Werte auf, aber unterschiedliche Agarkonzentrationen, die verschieden starke Spillover- und MT-Effekte simulieren. Phantome CA1-CA3 haben gleiche Agarkonzentrationen, aber verschiedene T_1 -Relaxationszeiten (Tabelle 4.2). In allen Z-Spektren (a) ist der CEST-Effekt von Kreatin bei 1.9 ppm deutlich sichtbar. Die Auswertung mit Asymmetrieanalyse MTR_{asym} (b) liefert stark unterschiedliche Signalstärken für jedes Phantom. Die Evaluierung mit der inversen Metrik $MTR_{R_{ex}}$ (c) führt zu einer Korrektur der durch Spillover geminderten CEST-Effekte (A1-A4). Mit $AREX$ erhält man für alle Wasserumgebungen gleiche Signalstärken (d).

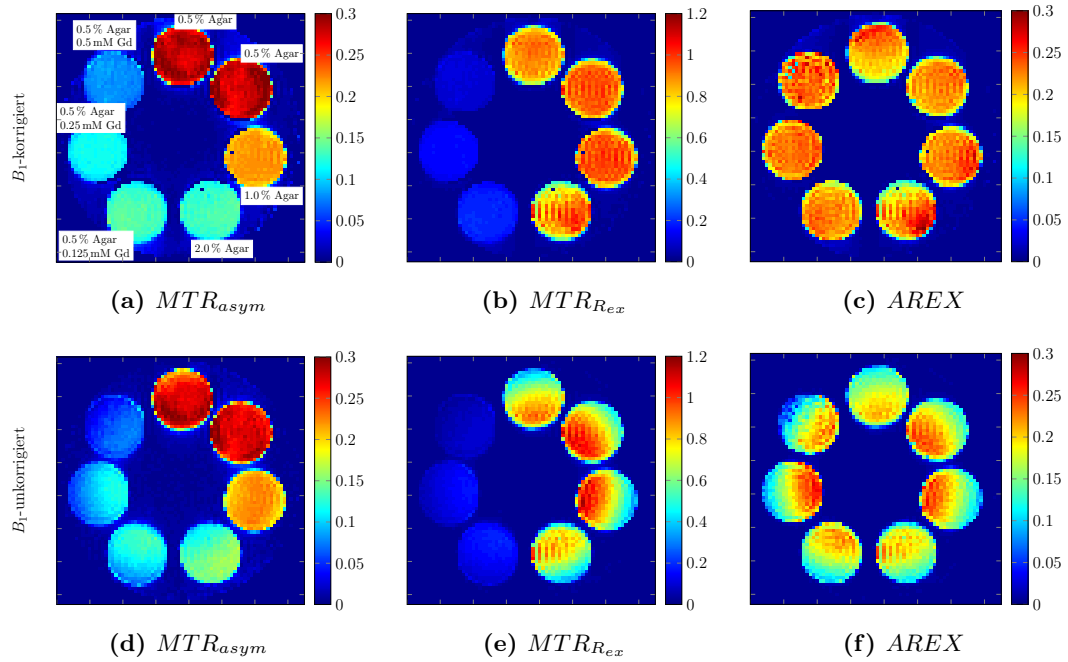


Abbildung 5.10: CEST-Karten des Multi-Kreatin-Phantom-Sets #1 bei 1.9 ppm: 50 mM Kreatin in 7 verschiedenen Wasserumgebungen gemessen bei $B_0 = 7$ T, $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$, $\text{pH} = 7.15$ und $T = 37^\circ\text{C}$ (Tabelle 4.2). Die Karten zeigen den CEST-Effekt von Kreatin ausgewertet mit verschiedenen Evaluierungsmethoden mit B_1 -Korrektur (obere Reihe) und ohne B_1 -Korrektur (untere Reihe): MTR_{asym} ((a), (d)) zeigt eine starke Abhängigkeit von der Agarkonzentration und T_1 , aber nur eine geringe B_1 -Abhängigkeit. $MTR_{R_{ex}}$ ((b), (e)) korrigiert Spillover und MT und wird stark von B_1 -Schwankungen beeinflusst (e). Die Auswertung mit $AREX$ ohne B_1 -Korrektur (f) ergibt starke Signalvariationen mit B_1 . Nach der B_1 -Korrektur zeigt $AREX$ einen homogenen Kontrast in allen Phantomen (b).

gestrichelte Linien). Im Gegensatz dazu ergibt *AREX* (Abb. 5.11, durchgezogene Linie) eine starke B_1 -Abhängigkeit. Außerdem liefert *AREX* für alle Agarkonzentrationen eine ähnliche B_1 -Abhängigkeit und modelliert das in [104] für Protonen im mittleren Austauschbereich simulierte Plateau des *full-saturation limits*. Dieses Verhalten wurde in [107] für Kreatin im *Slow-exchange*-Bereich bewiesen. Das bedeutet aber, dass bei einem inhomogenen B_1 -Feld, wie in der Abbildung 5.11 erkennbar, der stark von B_1 beeinflusste CEST-Kontrast auch heterogen sein sollte. Dies trifft nur auf *AREX* zu (Abb. 5.10(f)). Der Grund für den Signalabfall nach $2.33 \mu\text{T}$ für das Phantom mit 2% Agar ist auf die B_1 -Inhomogenitäten zurückzuführen, die vom Algorithmus nicht sauber korrigiert werden konnten.

Damit ist der Vorteil der *AREX*-Methode auch für Kreatin im *Intermediate-exchange*-Bereich nachgewiesen. Eine Detektion von labilen Aminprotonen des Kreatins und die Anwendung der *AREX*-Evaluation sollte auch *in vivo* möglich sein.

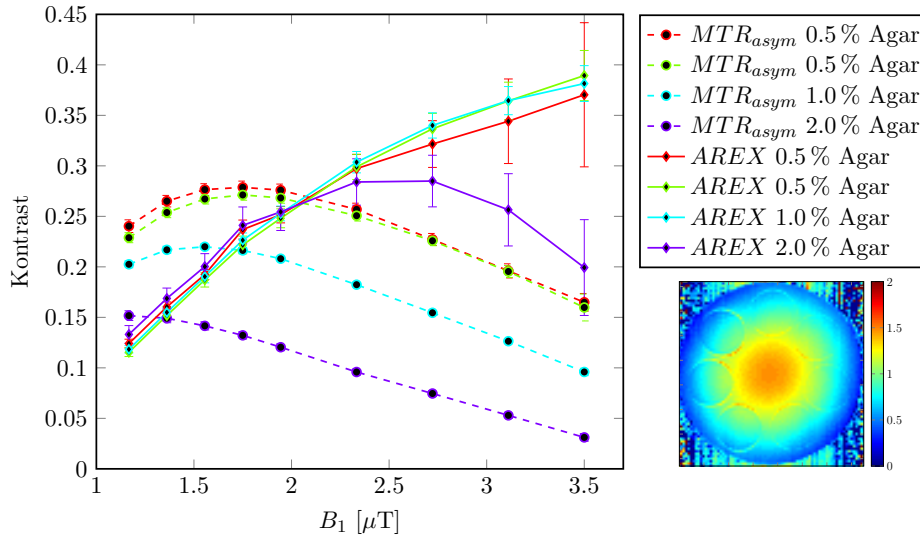


Abbildung 5.11: CEST-Kontraste MTR_{asym} und *AREX* bei 1.9 ppm als Funktionen von B_1 für 3 verschiedene Agarkonzentrationen. Unter der Legende ist die B_1 -Karte dargestellt.

Die CEST-Bilder der Phantome von Set #2 und Set #3 wurden ebenfalls B_1 -korrigiert. Die Spektren dieser Phantome sind in den Abbildungen 5.12 und 5.13 dargestellt. Konzentrationsunterschiede konnten mit allen Auswertemethoden beobachtet werden. Eine lineare Abhängigkeit der inversen Metrik von der Kreatinkonzentration deutet sich in den Abbildungen 5.12(c) und 5.12(d) an, was die Asymmetrierauswertung nicht ergibt (Abb. 5.12(b)). Die Spektren von Set #3 zeigen das Phänomen der Sättigungseffizienz: Der verschobene und geringere CEST-Effekt jeweils für die pH-Werte 7.40 und 7.60 suggeriert, dass k_b bei gleichbleibender Konzentration für hohe pH-Werte sinkt. Dies ist aber nicht der Fall. Wie in [24] mit WEX (*water-exchange spectroscopy*)-Experimenten gezeigt wurde, steigt k_b mit steigender Temperatur und zunehmendem pH-Wert an. Für $k_b \gg \omega_1$ kann die Sättigungseffizienz mit $\alpha \approx \frac{\omega_1^2}{k_b}$ approximiert werden [104]. Dies bedeutet, dass die Effektivität der Sättigung durch die Austauschrate unterdrückt werden kann, was für $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ bei pH = 7.40 und pH = 7.60 der Fall ist. Mit einer noch größeren HF-Amplitude wäre ein vollständiges Labeln dieser schnellen Protonen möglich. Das zeigt wieder, dass das Anpassen von ω_1 an die Austauschrate k_b der beobachteten austauschenden Protonen von essenzieller Bedeutung für das Experiment ist.

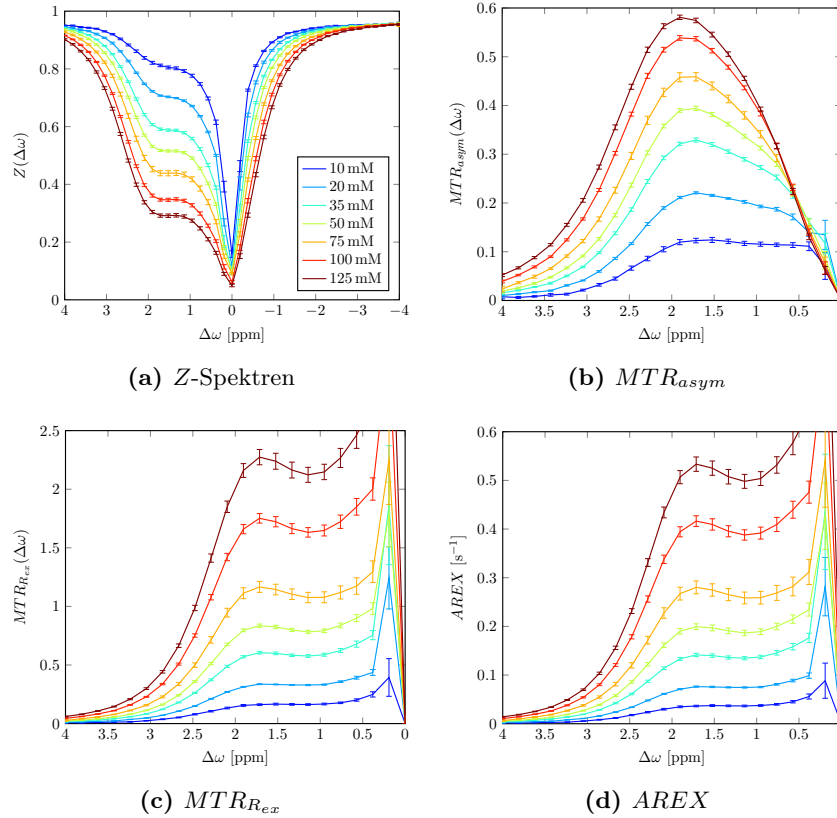


Abbildung 5.12: CEST-Spektren des Multi-Kreatin-Phantom-Sets #2 bei 1.9 ppm: 7 verschiedene Kreatinkonzentrationen gemessen bei $B_0 = 7$ T, $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$, $\text{pH} = 7.15$ und $T = 37^\circ\text{C}$ (Tabelle 4.2). In allen Z-Spektren (a) ist der CEST-Effekt von Kreatin bei 1.9 ppm deutlich sichtbar. Im Gegensatz zu MTR_{asym} (b) lassen $MTR_{R_{ex}}$ (c) und $AREX$ (d) ein lineares Verhalten des CEST-Kontrastes bei 1.9 ppm in Abhängigkeit von der Kreatinkonzentration vermuten.

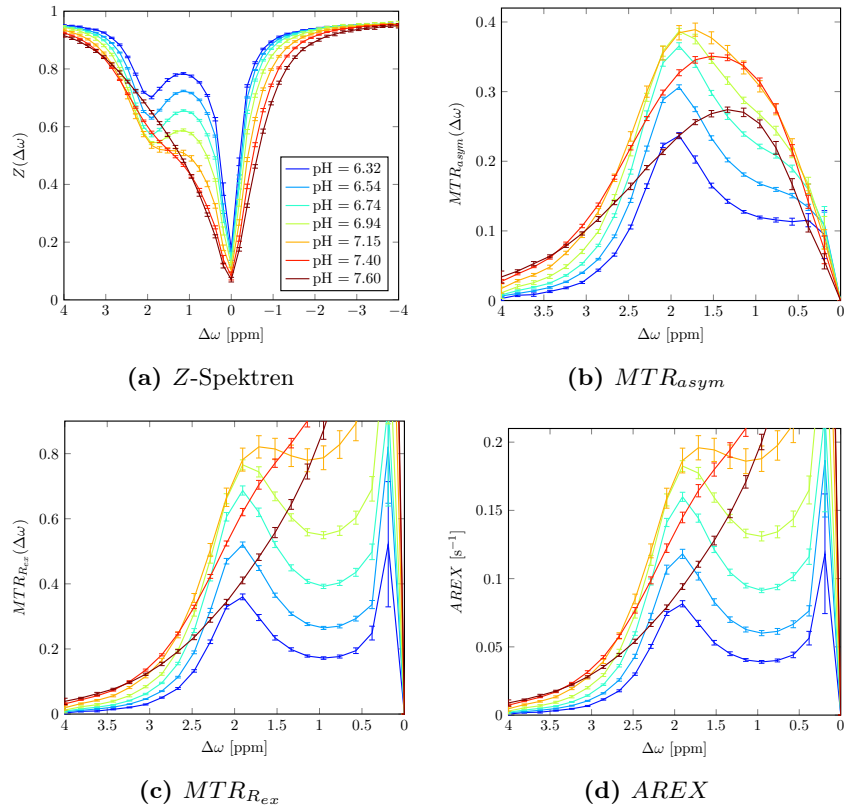


Abbildung 5.13: CEST-Spektren des Multi-Kreatin-Phantom-Sets #3 bei 1.9 ppm: 7 verschiedene pH-Werte von 50 mM Kreatin gemessen bei $B_0 = 7\text{ T}$, $B_1 = 1.75\ \mu\text{T}$ und $T = 37\text{ }^\circ\text{C}$ (Tabelle 4.2). Z-Spektren (a) für niedrigere pH-Werte zeigen einen differenzierten CEST-Effekt von Kreatin bei 1.9 ppm. Je basischer der pH-Wert wird, umso breiter wird das Spektrum und die Resonanzfrequenz der austauschenden Protonen lässt sich nicht mehr auflösen, da die Austauschrate k_b zu hoch ist.

5.5 pH-Abhängigkeit des CEST-Signals und B_1 -Optimierung

Um die Abhängigkeit des Kreatin-CEST-Signals vom pH zu untersuchen, wurde das Multi-Kreatin-Phantom-Set #2, welches aus Fläschchen gleicher Kreatinkonzentration, bei unterschiedlichen pH-Werten zusammengesetzt war, mit verschiedenen B_1 -Einstrahlungen gemessen. Wie Abbildung 5.14 zeigt, ist die pH-Abhängigkeit für hohe B_1 sehr ausgeprägt. $AREX$, gemessen bei $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$, erreicht ein Plateau um $\text{pH} = 7.1$. Damit ist $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ eine geeignete Einstellung, um einen reinen konzentrationsgewichteten CEST-Kontrast bei hohem CEST-Signal (Abb. 5.11) zu erhalten. Dementsprechend wurde $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ für Kreatin-gewichtete CEST-MR-Bildgebung gewählt.

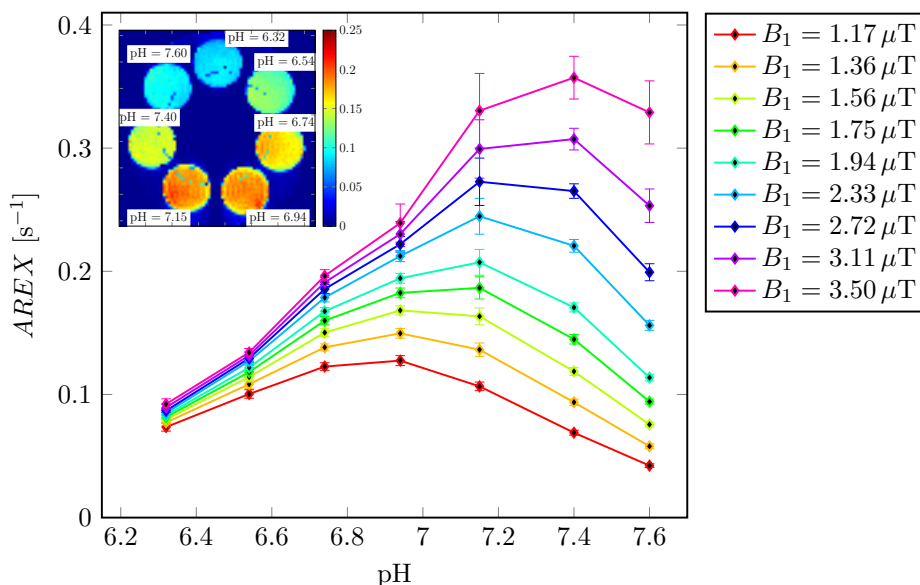


Abbildung 5.14: $AREX$ bei 1.9 ppm als Funktion von pH für verschiedene B_1 -Amplituden. Bei $\text{pH} = 6.32$ ist die Magnetisierung der austauschenden Protonen fast komplett gesättigt: Die Signalintensitäten zeigen nur eine leichte B_1 -Abhängigkeit. Die Funktion für $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ hat zwischen $\text{pH} = 6.94$ und $\text{pH} = 7.15$ ein Plateau – für diese B_1 -Amplitude ist der Kreatin-CEST-Kontrast weniger pH-abhängig. Für höhere B_1 -Werte ($B_1 = 3.11 \mu\text{T}$), wird eine viel stärkere pH-Gewichtung des Kreatin-CEST-Kontrastes beobachtet. Die Karte in der linken oberen Ecke zeigt $AREX$ bei 1.9 ppm; die Farbtönung spiegelt den Kurvenverlauf wider.

5.6 Kalibrierung der Konzentrationsmessung

Mit dem Phantom-Set #2 wurde die Abhängigkeit des CEST-Kontrastes von der Konzentration untersucht. Im Gegensatz zu MTR_{asym} zeigt die Auswertung mit $AREX$ eine klare Proportionalität zur Konzentration (Abb. 5.15). Dies widerlegt die publizierte lineare Abhängigkeit von MTR_{asym} von der Kreatinkonzentration [28, 75]. Diese Erkenntnis, zusammen mit der schwachen pH-Abhängigkeit bei $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ (Abb. 5.14) und dem Ausgleich der T_1 -Relaxation durch $AREX$, erlaubt eine einfache Kalibrierung der Kreatinkonzentrationsmessung mit Hilfe des $AREX$ -Signals. Ein linearer Fit, wie in Gleichung 4.7, führt zu einer vom $AREX$ -Signal abhängigen Kreatinfunktion (Gl. 4.8) mit $c_{Cr} = 258.92 \text{ mM} \cdot AREX$. Der Mittelwert von $AREX$ über drei Frequenz-Offsets liefert ein höheres Signal-Rausch-Verhältnis,

hält aber dennoch Linearität in der Konzentration aufrecht: $c_{Cr} = 266.95 \text{ mM s} \cdot AREX$. Die Proportionalität von $AREX$ zur relativen Kreatinkonzentration verlangt vor der Anwendung an *In-vivo*-Muskel Daten eine Anpassung an den Wassergehalt im Muskel. Dieser wird als konstant 77% [11, 77] angenommen. Somit wird die auf CEST-basierte Kreatinbestimmung im Muskel durch das $AREX$ -Signal und die folgende Beziehung festgelegt (Gl. 4.9): $c_{Cr, muscle} = AREX \cdot 205.55 \text{ mM s}$. Diese $AREX$ -basierte Kalibrierung ist für die benutzten Gauß-Pulse ($B_1 = 1.75 \mu\text{T}$, $DC = 50\%$, Steady-State) gültig und unabhängig von T_1 -, T_2 -Relaxationszeiten und dem Magnetisierungstransfer. Zusätzlich hat sie nur eine geringe pH-Abhängigkeit bei physiologischen Bedingungen (Abb. 5.14). Die lineare Abhängigkeit von

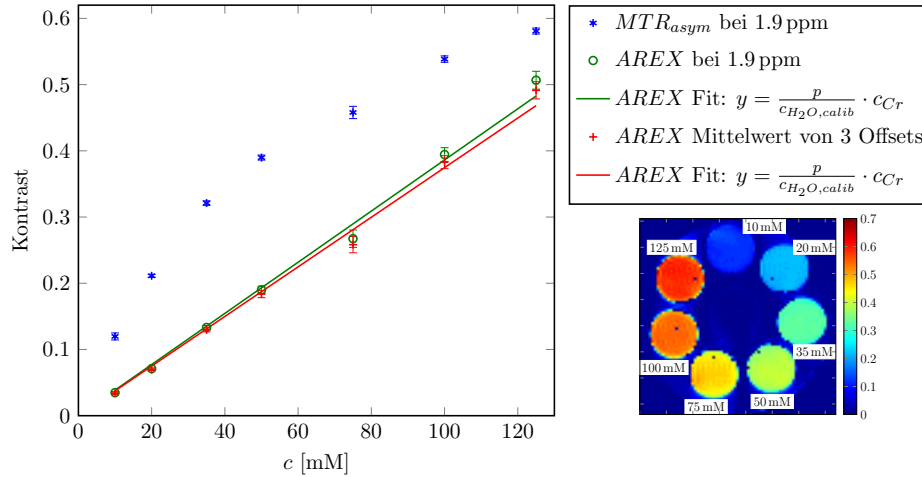


Abbildung 5.15: CEST-Kontrast von MTR_{asym} und $AREX$ als Funktion der Konzentration c des Multi-Kreatin-Phantom-Sets #2 für $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$. Unter der Legende ist die MTR_{asym} -Karte für 1.9 ppm dargestellt. Im Unterschied zu MTR_{asym} (Sterne) zeigt $AREX$ (Kreise) eine lineare Abhängigkeit von der Kreatinkonzentration. Der lineare Fit (grün) ergibt $AREX(c_{Cr}) = 0.0039 \cdot c_{Cr}$ (Konfidenzintervall: (0.0037, 0.0040) und $RMSE = 0.15$). Folglich lautet die Kalibrierungsgleichung für die Kreatinkonzentrationmessung $c_{Cr}(AREX) = 258.92 \text{ mM s} \cdot AREX$ ($RMSE = 7.17 \cdot 10^{-9}$). Der Mittelwert von $AREX$ über 3 Frequenz-Offsets $\overline{AREX} = \text{mean}(AREX(1.7, 1.9, 2.1))$ zeigt ebenfalls ein lineares Verhalten mit der Kalibrierungsgleichung $c_{Cr}(\overline{AREX}) = 266.95 \text{ mM s} \cdot \overline{AREX}$ ($RMSE = 2.31 \cdot 10^{-8}$).

$AREX$ in der Kreatinkonzentration gilt für beliebige B_1 -Amplituden. In Abbildung 5.16 sind exemplarisch $AREX$ -Funktionen für drei verschiedene Sättigungs-Einstrahlungen gezeigt. Geringe Abweichungen für 75 mM liegen vermutlich an der residualen Inhomogenität des B_1 -Feldes in diesem Phantom.

5.7 Kalibrierung der pH-Messmethode – Eine konzentrationsunabhängige Methode

Nach dem Beweis der Linearität von $AREX$ als Funktion von der Konzentration, also von f_b , sollte das Verhältnis zweier $AREX(c_{Cr})$ -Funktionen verschiedener B_1 -Amplituden, mit der

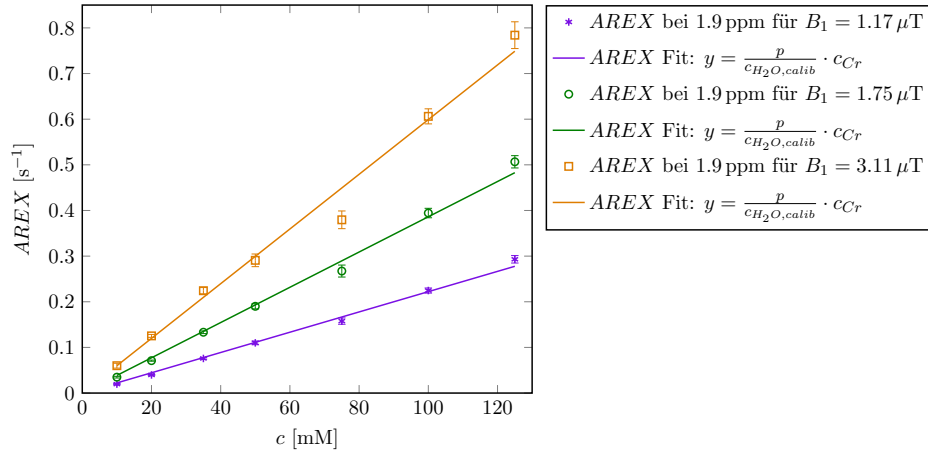


Abbildung 5.16: *AREX* als Funktion der Kreatin-Konzentration c des Multi-Kreatin-Phantom-Sets #2 für drei HF-Amplituden $B_1 = 1.17 \mu\text{T}$, $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ und $B_1 = 3.11 \mu\text{T}$ mit den entsprechenden Fitfunktionen.

Näherung des *large-shift limit*, laut den Gleichungen 3.46 und 3.31, eine Konstante ergeben:

$$\text{AREX-Ratio} = \frac{\text{AREX}(\omega_{1,1})}{\text{AREX}(\omega_{1,2})} = \frac{f_b k_b \frac{\omega_{1,1}^2}{\omega_{1,1}^2 + k_b(k_b + R_{2b})}}{f_b k_b \frac{\omega_{1,2}^2}{\omega_{1,2}^2 + k_b(k_b + R_{2b})}} = \frac{\omega_{1,1}^2}{\omega_{1,2}^2} \cdot \frac{\omega_{1,2}^2 + k_b(k_b + R_{2b})}{\omega_{1,1}^2 + k_b(k_b + R_{2b})}. \quad (5.1)$$

Für eine kleine Relaxationsrate R_{2b} folgt

$$\text{AREX-Ratio} \approx \frac{\omega_{1,1}^2}{\omega_{1,2}^2} \cdot \frac{\omega_{1,2}^2 + k_b^2}{\omega_{1,1}^2 + k_b^2}. \quad (5.2)$$

Das bedeutet also, dass dieses Verhältnis nur pH-sensitiv ist und nicht konzentrationsabhängig. Dies zeigt Abbildung 5.17. Diese Eigenschaft ermöglicht zusammen mit der geringen

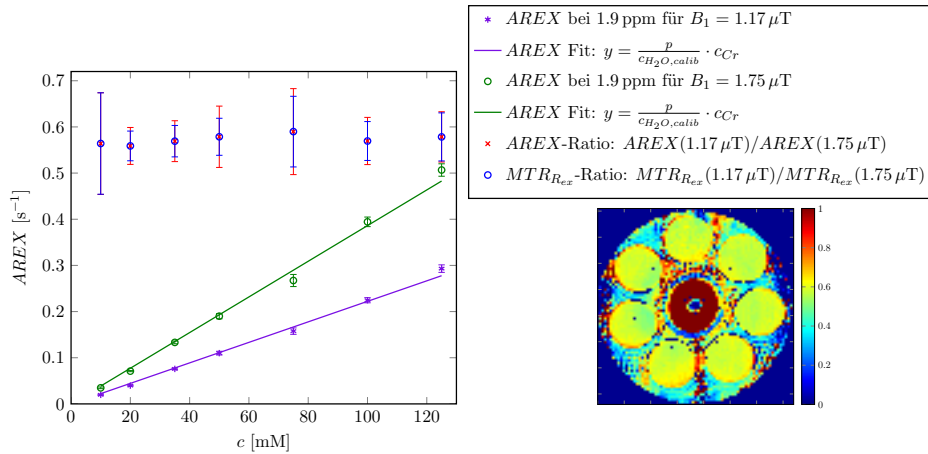


Abbildung 5.17: *AREX* als Funktion der Konzentration c des Multi-Kreatin-Phantom-Sets #2 für $B_1 = 1.17 \mu\text{T}$ und für $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ (vgl. Abb. 5.15) mit den entsprechenden Fitfunktionen. Das Verhältnis der beiden Funktionen ($MTRR_{ex}$ oder *AREX*) ist unabhängig von der Kreatinkonzentration. Dies zeigt auch die $MTRR_{ex}$ -Ratio-Karte unter der Legende.

pH-Gewichtung bei $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ (Abb. 5.14) eine Kalibrierung der pH-Messmethode im Kreatinphantom. Mit der Gleichung von *Görke et al.* [24] für k_b kann die pH-Abhängigkeit wie folgt beschrieben werden:

$$AREX\text{-Ratio} \approx \frac{\omega_{1,1}^2}{\omega_{1,2}^2} \cdot \frac{\omega_{1,2}^2 + (k_{b,eff}(T) \cdot 10^{\text{pH}-\text{p}K_w(T)})^2}{\omega_{1,1}^2 + (k_{b,eff}(T) \cdot 10^{\text{pH}-\text{p}K_w(T)})^2}. \quad (5.3)$$

Diese Funktion ist in Abbildung 5.18 für fünf verschiedene Temperaturen dargestellt. Unter

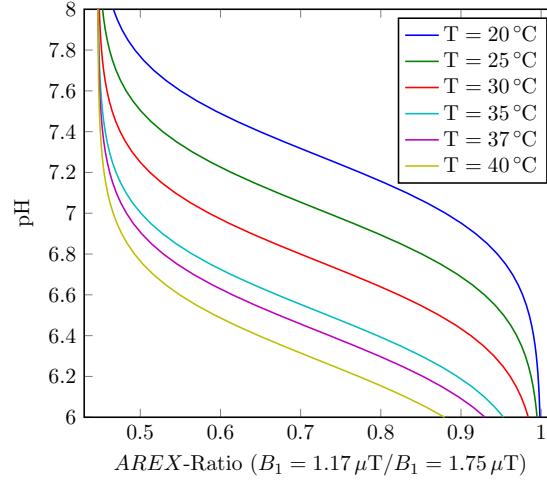


Abbildung 5.18: pH als Funktion des $AREX$ -Ratio (Gl. 5.3) für 5 verschiedene Temperaturen. Um $\text{pH} = 7.0$ ist die Funktion linear.

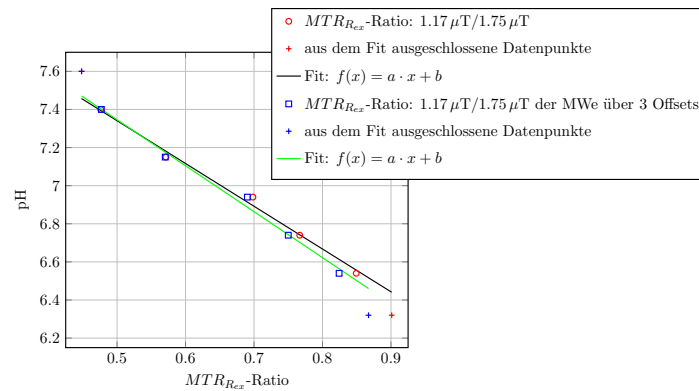
der Annahme, dass $\omega_{1,1}$ und $\omega_{1,2}$ in der Größenordnung von k_b liegen, kann man mit einer Taylorentwicklung 1. Ordnung von Gleichung 5.2 um k_0 zeigen, dass sich das $AREX$ -Ratio in der Nähe des physiologischen pH-Wertes linear verhält:

$$AREX\text{-Ratio} \approx \frac{\omega_{1,1}^2}{\omega_{1,2}^2} \cdot \left[\frac{\omega_{1,2}^2 + k_0^2}{\omega_{1,1}^2 + k_0^2} - \frac{\omega_{1,1}^2 - \omega_{1,2}^2}{(\omega_{1,1}^2 + k_0^2)^2} \cdot 2k_0^2 + \frac{\omega_{1,1}^2 - \omega_{1,2}^2}{(\omega_{1,1}^2 + k_0^2)^2} \cdot 2k_b k_0 \right] \quad (5.4)$$

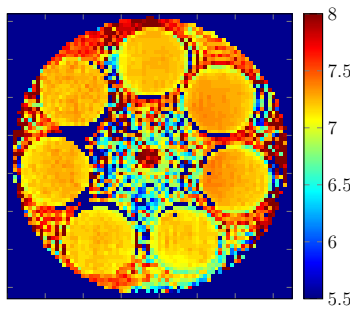
Dieses Verhalten zeigen auch die Verhältnisse von $MTR_{R_{ex}}$ beziehungsweise $AREX$ der Multi-Kreatin-Phantome (Abb. 5.19(a)). Das $MTR_{R_{ex}}$ -Ratio in Abhängigkeit vom pH-Wert lässt sich sehr gut mit einer Geraden anpassen; dabei wurden der niedrigste und höchste pH-Wert in der Kalibrierung vernachlässigt. Der lineare Fit liefert $\text{pH} = -2.55 \cdot AREX\text{-Ratio} + 8.67$. Für ein höheres SNR lässt sich eine Kalibrierung der Methode für Daten, die über drei Offsets gemittelt wurden, erstellen: $\text{pH} = -2.75 \cdot AREX\text{-Ratio} + 8.76$. Eine Anwendung dieser pH-Kalibrierungskurve auf die Multi-Kreatin-Phantome liefert im Rahmen der Fehler den in den Phantomen titrierten pH-Wert. Für das Set #1 ergibt sich ein mittlerer pH-Wert von 7.21 ± 0.10 (Abb. 5.19(b)) und für das Set #2 ist $\overline{\text{pH}} = 7.18 \pm 0.06$ (Abb. 5.19(c)) für alle Fläschchen. In Tabelle 5.2 sind die Ergebnisse der ROI-Analysen der Multi-Kreatin-Phantome im Vergleich mit den titrierten pH-Werten zusammengefasst.

5.8 Bestimmung der Austauschrate mit dem Multi- B_1 -Fit

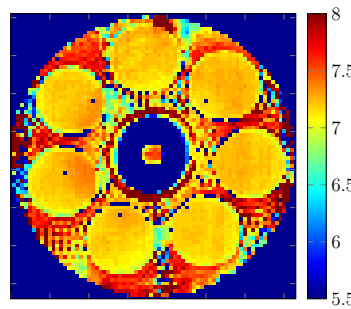
Die Z -Spektren des Multi-Kreatin-Phantoms wurden mit der Multi- B_1 -Fit-Methode (Abschnitt 4.7.5) angewendet auf die analytische und numerische Lösung für den Fall der Sättigung



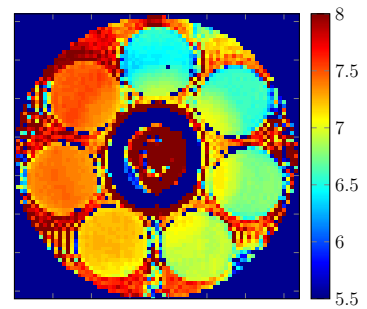
(a) pH-Kalibrierungsfunktion



(b) pH-Karte Set #1



(c) pH-Karte Set #2



(d) pH-Karte Set #3

Abbildung 5.19: Kalibrierungskurve für pH-gewichtete Bildgebung (a). Die schwarze Linie beschreibt den linearen Fit von MTR_{Res} -Verhältnissen (rote Kreise) gemessen jeweils bei 1.17 μ T und 1.75 μ T für verschiedene pH-Werte. Die grüne Linie zeigt den Fit der über drei Offsets gemittelten MTR_{Res} -Verhältnisse (blaue Quadrate). Die Daten (+) für pH-Werte 6.32 und 7.6 sind aus den Fits ausgeschlossen. pH-Karten der Multi-Kreatin-Phantome erstellt mit der Kalibrierung aus (a): Set #1 (b), Set #2 (c) und Set #3 (d). Residuale B_1 -Inhomogenitäten beeinträchtigen die pH-Kalibrierung.

Phantom # / pH		Set #1	Set #2	Set #3
#1	titrierter pH-Wert	7.15 ± 0.01	7.15 ± 0.01	6.32 ± 0.01
	kalibrierter pH-Wert	7.22 ± 0.02	7.19 ± 0.04	6.39 ± 0.03
#2	titrierter pH-Wert	7.15 ± 0.01	7.15 ± 0.01	6.54 ± 0.01
	kalibrierter pH-Wert	7.28 ± 0.02	7.22 ± 0.01	6.56 ± 0.01
#3	titrierter pH-Wert	7.15 ± 0.01	7.15 ± 0.01	6.74 ± 0.01
	kalibrierter pH-Wert	7.24 ± 0.02	7.19 ± 0.02	6.75 ± 0.02
#4	titrierter pH-Wert	7.15 ± 0.01	7.15 ± 0.01	6.94 ± 0.01
	kalibrierter pH-Wert	7.17 ± 0.03	7.17 ± 0.02	6.91 ± 0.04
#5	titrierter pH-Wert	7.15 ± 0.01	7.15 ± 0.01	7.15 ± 0.01
	kalibrierter pH-Wert	7.18 ± 0.03	7.16 ± 0.02	7.22 ± 0.02
#6	titrierter pH-Wert	7.15 ± 0.01	7.15 ± 0.01	7.40 ± 0.01
	kalibrierter pH-Wert	7.19 ± 0.03	7.19 ± 0.01	7.39 ± 0.02
#7	titrierter pH-Wert	7.15 ± 0.01	7.15 ± 0.01	7.60 ± 0.01
	kalibrierter pH-Wert	7.17 ± 0.08	7.17 ± 0.02	7.46 ± 0.03
$\overline{\text{pH}}$ kalibriert		7.21 ± 0.10	7.18 ± 0.06	

Tabelle 5.2: Ermittelte pH-Werte aus der ROI-Analyse der Multi-Kreatin-Phantom-Sets: Kalibrierung mit der Relation $\text{pH} = -2.55 \cdot \text{AREX-Ratio} + 8.67$.

mit Gauß-Pulsen ausgewertet. Da B_0 -Artefakte nicht von der Simulation erfasst werden, wurden für ein stabileres Fitergebnis die Punkte um die Wasserresonanz ausgeschlossen. Um die Korrelation zwischen k_b , f_b und R_{2b} zu verringern, wurden folgende B_1 -Werte für den Fit verwendet: 1.36, 1.56, 1.75, 1.94, 2.33 und 2.72 μT . Die Z -Spektren für $B_1 = 1.17 \mu\text{T}$, $B_1 = 3.11 \mu\text{T}$ und $B_1 = 3.50 \mu\text{T}$ konnten aufgrund der B_1 -Korrektur um 1.75 μT nicht verlässlich korrigiert werden. Der Fit für das Phantom mit 50 mM Kreatin liefert ein Protonenverhältnis $f_b = (0.2150 \pm 0.0003) \%$, was zwar etwas zu hoch, aber dennoch mit dem erwarteten Wert von 0.18 % vereinbar ist. Die Austauschrate $k_b = (778.9 \pm 2.3) \text{s}^{-1}$ passt eher zu der Austauschrate, die *Haris et al.* [28] angeben, ist aber auch in Anbetracht des etwas höheren pH-Wertes zu niedrig. Die in [24] publizierte Austauschrate von Kreatin bei $T = 37^\circ\text{C}$ und $\text{pH} = 7.1$ ist fast doppelt so hoch. Dies könnte aber daran liegen, dass auf diesen Wert durch Extrapolation von Daten, aus Messungen von Kreatinphantomen mit $\text{pH} = 5 - 6.4$ bei $T = 25^\circ\text{C}$ und einer Phantommessung für Temperaturen zwischen 0 und 40°C für den pH-Wert 5.2 [24], geschlossen wurde. Tabelle 5.3 listet die analytisch mit Multi- B_1 -Fit bestimmten Austauschraten der einzelnen Phantome des Set #2 auf. Die Austauschrate der Aminprotonen von Kreatin bei $\text{pH} = 7.15$ und $T = 37^\circ\text{C}$ beträgt nach dem analytischen Multi- B_1 -Fit: $\overline{k_b} = (852.22 \pm 6.98) \text{s}^{-1}$.

c_{Cr} [mM]	k_b [s^{-1}]	c_{Cr} [mM]	k_b [s^{-1}]
10 mM	932.54 ± 3.89	75 mM	746.86 ± 3.06
20 mM	781.95 ± 1.56	100 mM	924.05 ± 2.59
35 mM	843.15 ± 1.96	125 mM	954.09 ± 2.35
50 mM	782.92 ± 2.38		

Tabelle 5.3: Austauschrate k_b der Aminprotonen von Kreatin des Set #2 bei $\text{pH} = 7.15$ und $T = 37^\circ\text{C}$ ermittelt mit Multi- B_1 -Fit anhand der analytischen Lösung der Bloch-McConnell-Gleichungen: $\overline{k_b} = (852.22 \pm 6.98) \text{s}^{-1}$.

5.9 *In-vivo*-Anwendungen

Nach dem Beweis der Gültigkeit der inversen Metrik für Kreatin-Protonen im mittleren Austauschbereich in *In-vitro*-Experimenten wurde diese Methode *in vivo* überprüft. Dabei wurde stets dieselbe Pulssequenz zur *In-vivo*-CEST-MR-Bildgebung an der Wadenmuskulatur von vier gesunden Probanden angewendet. Um höheres SNR zu erhalten, wurden die Ergebnisse der Z -Daten-Auswertungen über drei Frequenz-Offsets ($\overline{\text{Kontrast}} = \text{mean}(\text{Kontrast}(1.7, 1.9, 2.1))$) gemittelt. Mit den gewonnenen Kalibrierungsfunktionen aus den Abschnitten 5.6 und 5.7 wurden Konzentrations- und pH-Karten von Kreatin in der Wadenmuskulatur vor und nach Muskelbelastung berechnet.

5.9.1 Gepulste *In-vivo*-Steady-State-CEST-Messungen an der Wadenmuskulatur – in Ruhe

Die Abbildung 5.21 stellt Karten von MTR_{asym} , MTR_{ReX} und $AREX$ bei 1.9 ppm vor und nach B_1 -Korrektur gegenüber. Es zeigt sich, wie entscheidend die Korrektur des B_1 -Feldes für die inverse Metrik ist – *in vivo* noch viel wichtiger als im Phantom (vgl. Abb. 5.21(b), 5.21(e) und 5.21(c), 5.21(f)). Die geringe Sensitivität der Asymmetrieauswertung auf

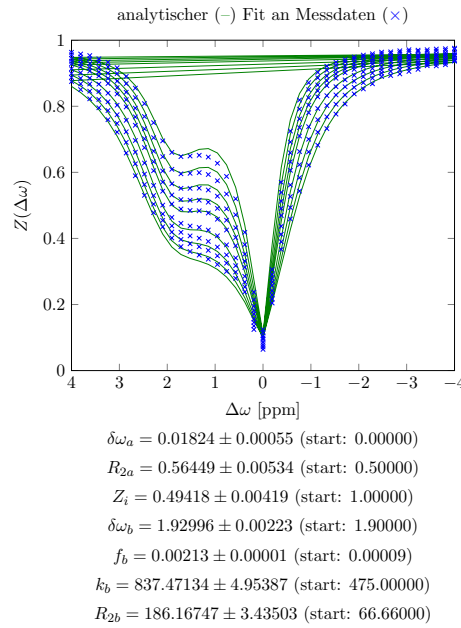
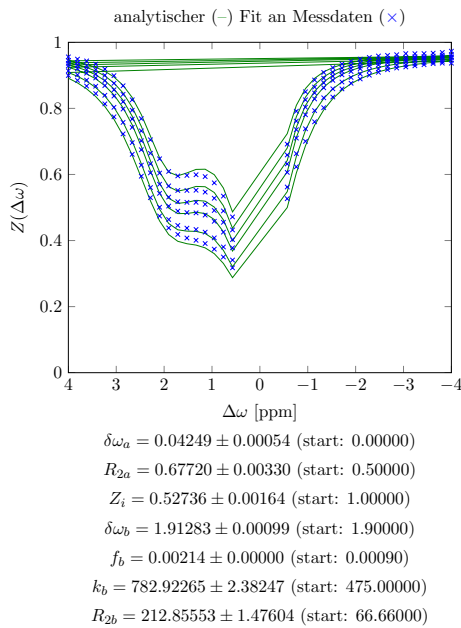
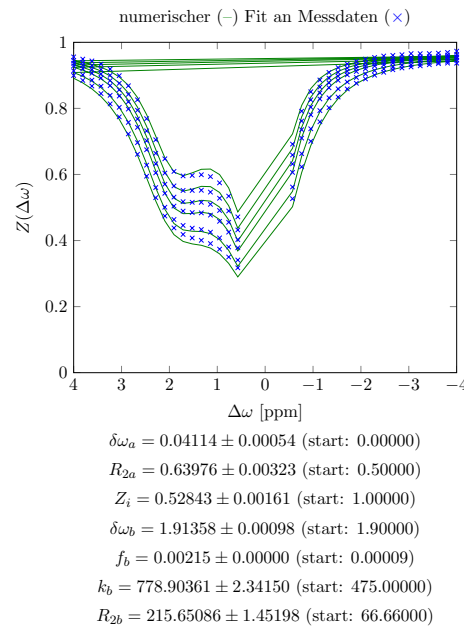
(a) alle Datenpunkte und alle B_1 (b) ohne Punkte um $\Delta\omega = 0$; mit 6 B_1 (c) ohne Punkte um $\Delta\omega = 0$; mit 6 B_1

Abbildung 5.20: Multi- B_1 -Fit der Z -Spektren des Multi-Kreatin-Phantom-Sets #2 (50 mM Kreatin, PBS, pH = 7.15, T = 37 °C). Messparameter: $B_0 = 7$ T, 50 Gauß-Pulse, $t_p = 100$ ms, $DC = 50$ %. Zusätzlich gemessenes $T_1 = (4.28 \pm 0.14)$ s wurde dem Fit-Algorithmus vorgegeben. (a) Analytischer Fit für alle Z -Punkte und alle 9 B_1 (siehe Abschnitt 4.8.2). Ausschluss der kritischen Punkte um $\Delta\omega = 0$ ppm und einiger B_1 -Amplituden, um ein zuverlässigeres Ergebnis zu erhalten. Sowohl der analytische (b), als auch der numerische (c) Fit liefern im Rahmen der Annahmen akzeptable Lösungen für die Parameter.

B_1 -Inhomogenitäten (Abb. 5.21(a)) macht die inverse Metrik aber nicht obsolet. $MTR_{R_{ex}}$ eliminiert erfolgreich die das CEST-Signal überlagernden Effekte wie Spillover und makromolekularen MT und führt zu einem über die gesamte Schicht homogenen und 10 bis 15 mal höheren Kontrast (Abb. 5.21(e)). Residuale B_1 -Inhomogenitäten im Bereich der Tibia verfälschen die Ergebnisse. Die zur *AREX*-Karte korrespondierende Kreatin-Karte (Abb.

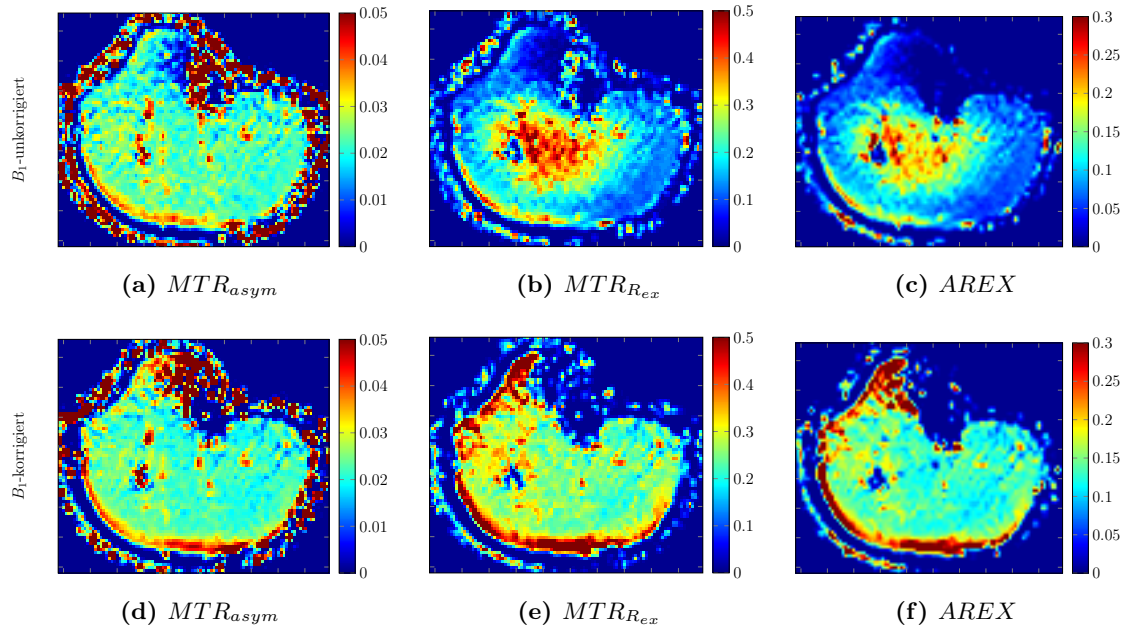


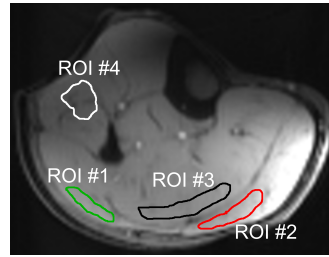
Abbildung 5.21: Proband #1 (männlich, 26 Jahre): Über 3 Offsets (um 1.9 ppm) gemittelte Bilder der Kontraste MTR_{asym} , $MTR_{R_{ex}}$ und *AREX* einer Transversalmessung der rechten Wade, gemessen bei $B_0 = 7\text{ T}$, $B_1 = 1.75\ \mu\text{T}$. Verglichen mit MTR_{asym} (a) beeinflussen starke B_1 -Unterschiede $MTR_{R_{ex}}$ (b) und *AREX* (c). Residuale B_1 -Inhomogenitäten sind im Bereich der Tibia zu sehen.

5.22(b)) liefert in den für die ROI-Analyse ausgewählten Bereichen (Abb. 5.22(a)) eine mittlere Kreatinkonzentration von $(27.61 \pm 10.76)\text{ mM}$, die etwas vom Literaturwert von 15 mM [34] im ruhenden Muskel abweicht. Das pH-Bild der Wade liefert einen für physiologische Verhältnisse deutlich zu hohen mittleren pH-Wert von 7.81 ± 0.48 (Abb. 5.22(c)). Aber auch das war nicht anders zu erwarten, da die Kalibrierungen der Konzentrations- und pH-Kurve anhand der PBS-Kreatinphantome durchgeführt wurden.

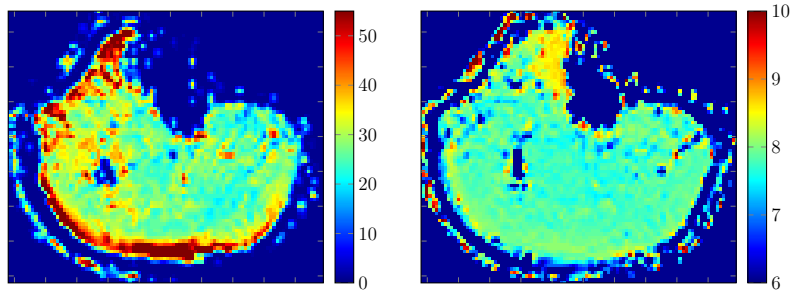
Das Experiment wurde an Probanden #2 wiederholt. Hier wurde eine mittlere Kreatinkonzentration von $(26.18 \pm 12.28)\text{ mM}$ (Abb. 5.23(b)) und ein mittlerer pH-Wert von 7.95 ± 0.70 (Abb. 5.23(c)) in den ausgewerteten ROIs (Abb. 5.23(a)) ermittelt.

5.9.2 Gepulste *In-vivo*-Steady-State-CEST-Messungen an der Wadenmuskulatur – in Ruhe und unter Belastung

Die Belastungsmessungen wurden an 3 Probanden durchgeführt. Auch hier wurden die Daten B_0 - und B_1 -korrigiert und mithilfe der Kalibrierungskurven für die Kreatinkonzentration (Abschnitt 5.6) und pH (Kapitel 5.7) wurden aus den *AREX*- beziehungsweise $MTR_{R_{ex}}$ -Daten Kreatinkonzentrations- und pH-Karten für die beiden Zustände (in Ruhe und unter



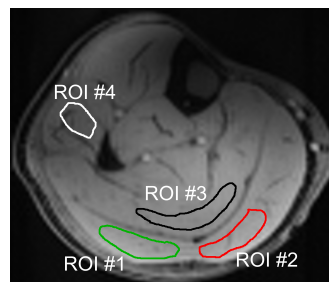
(a) Ausgewertete ROIs



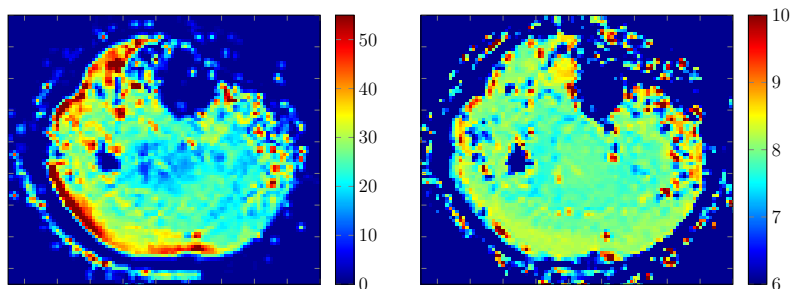
(b) Cr-Konzentration in mM

(c) pH-Karte im Muskel

Abbildung 5.22: Proband #1 (männlich, 26 Jahre): (a) zeigt das M_0 -Bild mit den ausgewerteten ROIs (Tabelle 5.4). Mit der Konzentrationskalibrierungskurve (Gl. 4.9) ergibt sich eine mittlere Kreatinkonzentration von (27.61 ± 10.76) mM in der Wadenmuskulatur (b). Die pH-Kalibrierungskurve (Gl. 4.11) liefert pH-Werte oberhalb des physiologischen: $\overline{\text{pH}} = 7.81 \pm 0.48$ (c).



(a) Ausgewertete ROIs



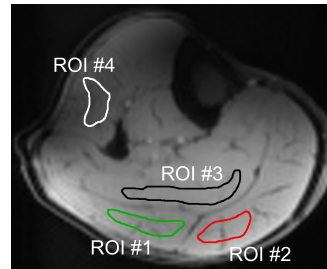
(b) Cr-Konzentration in mM

(c) pH-Karte im Muskel

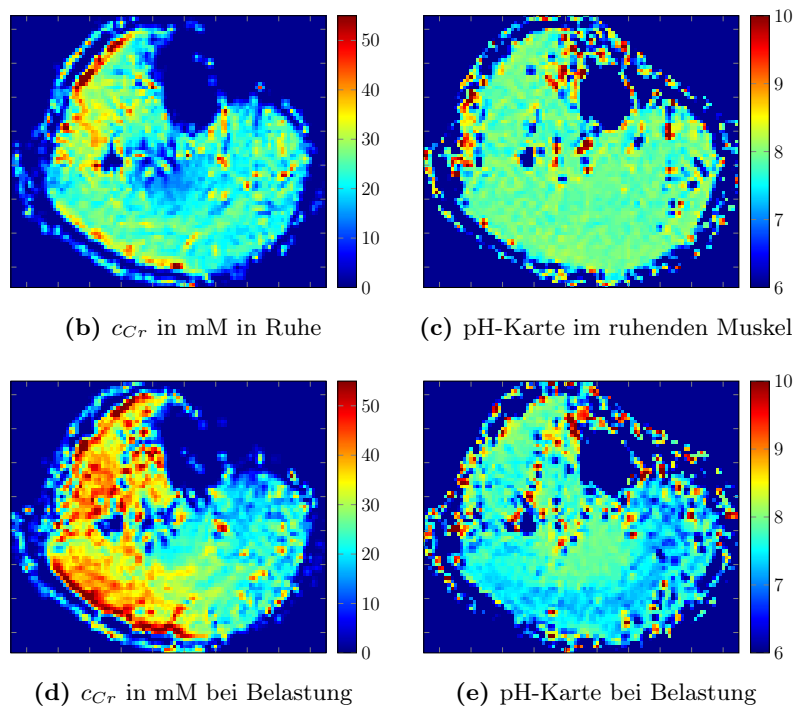
Abbildung 5.23: Proband #2 (männlich, 27 Jahre): (a) zeigt das M_0 -Bild mit den ausgewerteten ROIs (Tabelle 5.4). Kreatinkonzentrations-Karte $\overline{c_{Cr}} = (26.17 \pm 12.28)$ mM (b) und pH-Karte $\overline{\text{pH}} = 7.95 \pm 0.70$ (c) der Wadenmuskulatur in Ruhe.

Belastung) berechnet.

Die Wade des Probanden #1 (Abschnitt 5.9.1) wurde in einer weiteren Messung in Ruhe und unter Belastung (Pedal) gemessen. Als Übung waren kurze, aber intensive Tritte vorgegeben. Das Pedal sollte nie komplett durchgedrückt werden. Die Kreatinkonzentration nimmt im



(a) Ausgewertete ROIs



(b) c_{Cr} in mM in Ruhe

(c) pH-Karte im ruhenden Muskel

(d) c_{Cr} in mM bei Belastung

(e) pH-Karte bei Belastung

Abbildung 5.24: Proband #1 (männlich, 26 Jahre): (a) zeigt das M_0 -Bild mit den ausgewerteten ROIs (Tabelle 5.4). Kreatinkonzentrations-Karte (b, d) und pH-Bild (c, e) der Wadenmuskulatur. Die obere Reihe reflektiert die Situation vor und die untere während der Belastung mit dem Pedal. Im Musculus gastrocnemius und im Musculus fibularis longus ist ein eindeutiger Kreatinkonzentrationsanstieg während der Belastung zu beobachten: $\overline{c_{Cr,rest}} = (25.35 \pm 13.09)$ mM und $\overline{c_{Cr,ex}} = (34.14 \pm 14.41)$ mM. Der pH-Wert nimmt insgesamt ab: $\overline{pH_{rest}} = 7.87 \pm 0.51$ und $\overline{pH_{ex}} = 7.49 \pm 0.68$.

Caput laterale des Musculus gastrocnemius, im Musculus tibialis anterior und im Musculus fibularis longus zu. Im Musculus soleus steigt die Konzentration nur leicht an (Abb. 5.24(d)). Im Musculus tibialis posterior (Zentrum des Querschnitts) war die eingestellte Referenzamplitude zu hoch. Dies resultierte in zu hohen T_1 -Werten, die den *AREX*-Kontrast beeinflussten und damit niedrigere Werte der Kreatinkonzentration in dem oben genannten Muskel erzeugten. Im Einklang mit dem Konzentrationsanstieg um den Faktor 1.35, sank der pH-Wert in diesen

Muskeln im Mittel von $\text{pH} = 7.87 \pm 0.51$ auf $\text{pH} = 7.49 \pm 0.68$.

Die ^{31}P -NMR-Spektroskopie zeigte während der Belastungsübung wie erwartet einen Signalabfall des Phosphokreatins (Abb. 5.25(a) und 5.25(b)) im Musculus gastrocnemius. Dies bestätigt den mit CEST beobachteten Anstieg der Konzentration des Kreatins. Der leichte pH-Anstieg (Abb. 5.25(d) und 5.25(e)) während der Muskelkontraktion ist zwar bekannt [3], stimmt allerdings mit dem aus dem *AREX*-Ratio ermittelten pH-Abfall nicht überein.

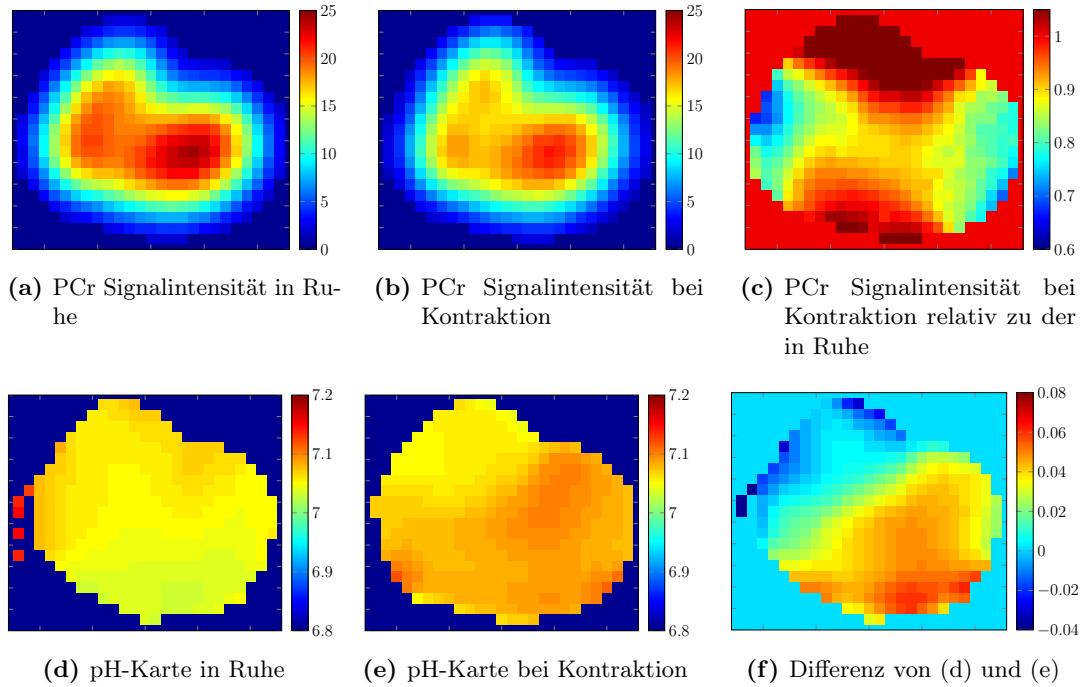
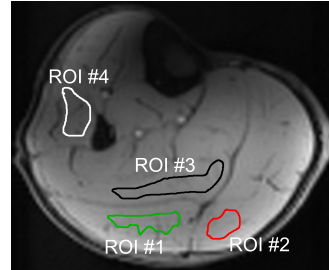


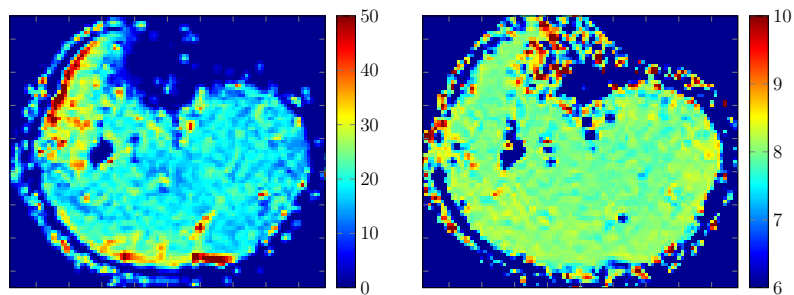
Abbildung 5.25: Proband #1 (männlich, 26 Jahre): PCr-Karten (a) und pH-Karte (d) vor und jeweils während (b) und (e) der Muskelbelastung. (c) zeigt die Differenz der Karten in (a) und (b) und (f) die relative pH-Karte. Ein geringer PCr-Abfall ist erkennbar, während der pH-Wert bei Kontraktion leicht ansteigt.

Der Proband #3 (Abb. 5.26) sollte das Pedal auch periodisch treten, aber nicht ganz durchdrücken. Der Kreatingehalt nahm nur im Musculus gastrocnemius, Musculus tibialis anterior und im Musculus fibularis longus zu. Der Musculus soleus scheint bei dieser Übung nicht übermäßig belastet worden zu sein. Insgesamt ist die Kreatinkonzentration vergleichbar mit der bei Proband #1: $\overline{c_{Cr}} = (21.45 \pm 11.93)$ mM. Der verhältnismäßig geringere Kreatinkonzentrationsanstieg auf $\overline{c_{Cr}} = (26.40 \pm 14.89)$ mM (Abb. 5.26(d)) liegt vermutlich an der individuellen Einschätzung des Kraftaufwands bei jedem Probanden. Im inneren Muskel (Musculus tibialis posterior) bleibt die Konzentration konstant und entspricht der im Ruhezustand. Der pH-Wert reduziert sich im Mittel von $\overline{\text{pH}} = 7.97 \pm 0.49$ auf $\overline{\text{pH}} = 7.85 \pm 0.94$ (Abb. 5.26(e)) unter Belastung.

Bei Proband #4 (Abb. 5.27), der das Pedal komplett durchtreten sollte, um mehr Belastung zu erzeugen, wurde ein mittlerer Kreatingehalt von (19.15 ± 8.94) mM (Abb. 5.27(b)) in den ausgewerteten ROIs bestimmt. Dieser stieg während der Plantarflexion in der ganzen Muskulatur – ganz besonders im Musculus triceps surae – auf (28.53 ± 11.24) mM an. In allen aktiven Muskelgruppen sank der pH-Wert während der Belastung von 8.02 ± 0.54

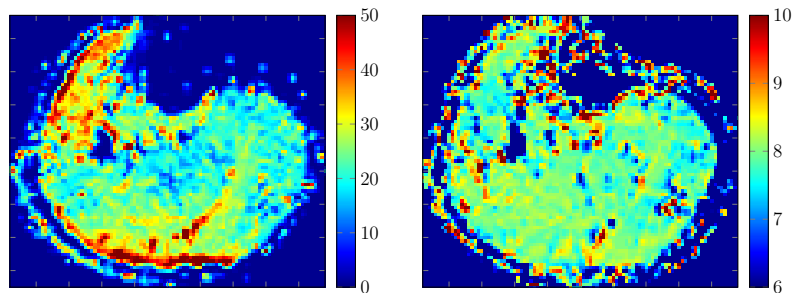


(a) Ausgewertete ROIs



(b) c_{Cr} in mM in Ruhe

(c) pH-Karte im ruhenden Muskel

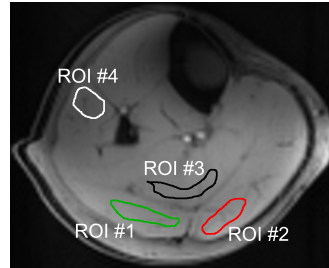


(d) c_{Cr} in mM bei Belastung

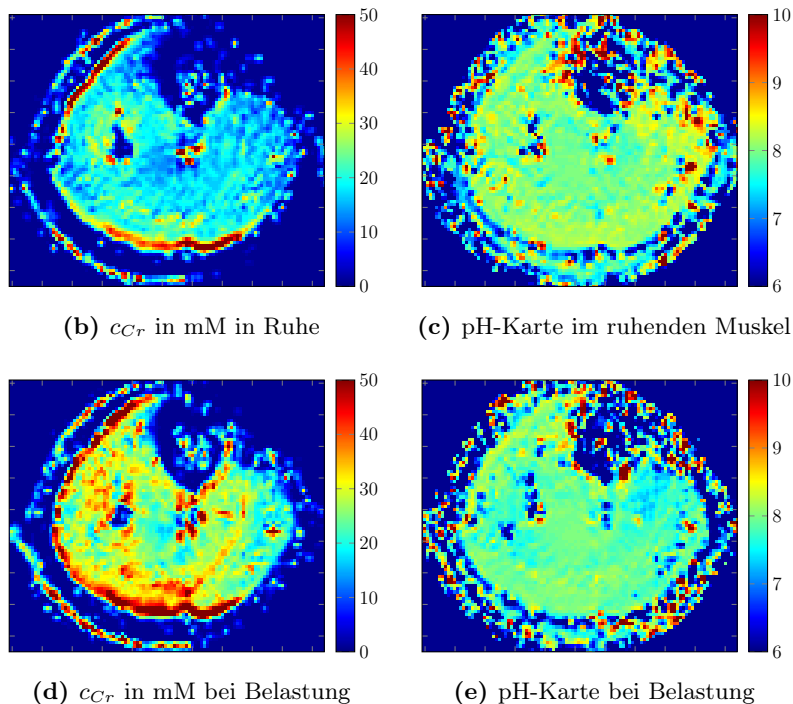
(e) pH-Karte bei Belastung

Abbildung 5.26: Proband #3 (männlich, 29 Jahre): (a) zeigt das M_0 -Bild mit den ausgewerteten ROIs (Tabelle 5.4). Kreatinkonzentrations-Karte (b, d) und pH-Bild (c, e) der Wadenmuskulatur. Die obere Reihe reflektiert die Situation vor und die untere während der Belastung mit dem Pedal. Im Musculus gastrocnemius und im Musculus fibularis longus ist ein deutlicher Kreatinkonzentrationsanstieg während der Belastung zu beobachten: $\overline{c_{Cr,rest}} = (21.45 \pm 11.93)$ mM und $\overline{c_{Cr,ex}} = (26.40 \pm 14.89)$ mM. Der pH-Wert nimmt insgesamt ab: $\overline{pH_{rest}} = 7.97 \pm 0.49$ und $\overline{pH_{ex}} = 7.85 \pm 0.94$.

auf 7.85 ± 0.53 (Abb. 5.27(e)). Die ermittelten Kreatinkonzentrationen stimmen auch hier mit den Literaturwerten im Rahmen der Fehler überein. Die pH-Werte sind, wie schon bei den Probanden #1 und #3, höher als erwartet. Obwohl der pH-Wert nur innerhalb der Fehlergrenzen sinkt, ist doch eine Tendenz zu niedrigeren pH-Werten während der Muskelarbeit erkennbar.



(a) Ausgewertete ROIs

(b) c_{Cr} in mM in Ruhe

(c) pH-Karte im ruhenden Muskel

(d) c_{Cr} in mM bei Belastung

(e) pH-Karte bei Belastung

Abbildung 5.27: Proband #4 (männlich, 25 Jahre): (a) zeigt das M_0 -Bild mit den ausgewerteten ROIs (Tabelle 5.4). Kreatinkonzentrations-Karte (b, d) und pH-Bild (c, e) der Wadenmuskulatur. Die obere Reihe reflektiert die Situation vor und die untere während der Belastung (Pedal treten). In der gesamten Muskulatur, besonders im Musculus gastrocnemius ist ein deutlicher Kreatinkonzentrationsanstieg während der Belastung zu beobachten: $\overline{c_{Cr,rest}} = (19.15 \pm 8.94)$ mM und $\overline{c_{Cr,ex}} = (28.53 \pm 11.24)$ mM. Der pH-Wert nimmt überall ab: $\overline{pH_{rest}} = 8.02 \pm 0.54$ und $\overline{pH_{ex}} = 7.85 \pm 0.53$.

In Tabelle 5.4 sind die Ergebnisse der ROI-Analyse in den aktiven Muskelgruppen zusammengefasst. Die Position der ROIs ist den Abbildungen zu entnehmen. Im Ruhezustand sind die Kreatinkonzentration und der pH-Wert im Muskel konstant. Bei Belastung bestimmter Muskelgruppen steigt der Kreatingehalt, während der pH-Wert in diesen leicht abfällt.

	in Ruhe		bei Belastung	
	c_{Cr} [mM]	pH	c_{Cr} [mM]	pH
Proband #1				
ROI 1	28.71 ± 3.08	7.85 ± 0.17		
ROI 2	27.79 ± 5.49	7.81 ± 0.20		
ROI 3	25.02 ± 4.73	7.76 ± 0.20		
ROI 4	28.93 ± 7.41	7.81 ± 0.35		
Proband #1				
ROI 1	25.22 ± 5.17	7.92 ± 0.23	37.49 ± 6.39	7.33 ± 0.26
ROI 2	24.43 ± 7.99	7.87 ± 0.19	28.30 ± 6.17	7.27 ± 0.28
ROI 3	22.59 ± 5.67	7.85 ± 0.26	30.42 ± 6.31	7.67 ± 0.37
ROI 4	29.17 ± 6.79	7.86 ± 0.33	40.35 ± 9.76	7.68 ± 0.43
Proband #2				
ROI 1	29.34 ± 5.01	8.07 ± 0.22		
ROI 2	22.38 ± 3.64	8.03 ± 0.18		
ROI 3	24.07 ± 6.14	7.84 ± 0.42		
ROI 4	28.92 ± 9.10	7.87 ± 0.47		
Proband #3				
ROI 1	21.20 ± 6.03	8.04 ± 0.26	26.52 ± 5.69	7.94 ± 0.31
ROI 2	17.97 ± 4.55	7.99 ± 0.19	24.96 ± 6.04	7.89 ± 0.30
ROI 3	18.83 ± 4.36	7.94 ± 0.24	21.90 ± 7.19	7.85 ± 0.65
ROI 4	27.78 ± 9.25	7.91 ± 0.29	32.21 ± 10.48	7.73 ± 0.51
Proband #4				
ROI 1	19.35 ± 3.93	8.03 ± 0.24	30.90 ± 3.77	7.93 ± 0.12
ROI 2	18.63 ± 4.10	8.08 ± 0.23	26.53 ± 5.04	7.84 ± 0.19
ROI 3	17.19 ± 3.84	7.91 ± 0.29	25.34 ± 5.70	7.83 ± 0.21
ROI 4	21.44 ± 5.99	8.04 ± 0.32	31.36 ± 7.26	7.81 ± 0.43

Tabelle 5.4: ROI-Analyse nach Messung der Probanden #1 bis #4: Über 3 Offsets gemittelte Kreatinkonzentrationen in mM und pH-Werte in der Wadenmuskulatur vor und während der Belastung. ROI 1=Caput laterale des Musculus gastrocnemius, ROI 2=Caput mediale des Musculus gastrocnemius, ROI 3=Musculus soleus und ROI 4=Musculus fibularis longus. Die Anatomische Zuordnung der Muskeln zeigt die Abbildung 4.5.

Kapitel 6

Diskussion und Ausblick

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass sich die im mittleren Austauschbereich (*intermediate exchange regime*) befindlichen Aminprotonen des Kreatins mit gepulstem Steady-State-CEST sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* indirekt über das Wassersignal detektieren lassen. Des Weiteren konnte der Gültigkeitsbereich der von *Zaiss et al.* [103] entwickelten Auswertemethode auf das *Intermediate-exchange*-Bereich ausgedehnt werden. Eine Anwendung dieser ermöglicht die Beseitigung der im CEST-Signal vorhandenen Spillover- und MT-Effekte und bietet mit der T_1 -kompensierenden Erweiterung – *AREX* – einen Zugang zur quantitativen Evaluation des pH-Wertes und der Kreatinkonzentration. Mit *AREX* wurde ein Kreatinkonzentrationsgewichteter Kontrast (Abschnitt 5.6) und mit dem *AREX*-Verhältnis ein pH-gewichteter Kontrast (Abschnitt 5.7) eingeführt. Bei der Anwendung auf *In-vivo*-Daten lieferten die Methoden mit Literaturangaben verträgliche Werte [34, 42] für die Konzentration des freien Kreatins und die Größe des pH-Wertes im menschlichen Muskel. Bei den Messungen unter Muskelkontraktion konnte mit der neuen Methode eine Erhöhung der Kreatinkonzentration und eine Erniedrigung des pH-Wertes im Gewebe nichtinvasiv gemessen werden.

6.1 Parameteroptimierung

CEST-Effekte hängen stark von der verwendeten B_1 -Amplitude ab. Zusätzlich beeinflussen in gepulsten CEST-Experimenten die Pulsdauer t_p , die Pulsanzahl n und der Duty Cycle DC die Amplitude und Linienbreite der Resonanz der austauschenden Protonen. Vor der Quantifizierung der interessanten Parameter, wie Austauschrate k_b und Protonenverhältnis f_b , welches auf die Konzentration des beobachteten Metaboliten führt, ist eine Optimierung der Sequenzparameter von großer Bedeutung. Simulationen überschätzen oft die benötigten Sequenzeinstellungen, denn der wahre CEST-Effekt wird von direkter Wassersättigung und dem Magnetisierungstransfer beeinflusst. Die berechneten Parameter sind nur Richtwerte und müssen am Tomographen im gemessenen System optimiert werden: Abhängig von der Umgebung, in der sich das austauschende Proton befindet, verschiebt sich das Intensitätsmaximum von MTR_{asym} . *In vivo* sind die optimalen Sequenzparameter anders als *in vitro*. Folgende optimalen Parameter wurden für die *In-vivo*-Transient-State-Messungen in der Wade ermittelt: $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$, $n = 5$, $t_p = 100 \text{ ms}$ und $DC = 50 \%$. Bei dieser Einstellung hat MTR_{asym} ein Maximum bei 1.9 ppm – der Resonanzfrequenz der Aminprotonen von Kreatin. Trotz des Signalverlustes in MTR_{asym} bei einer Messung im Steady-State, ergibt die Auswertung mit der inversen Metrik einerseits einen von Spillover und MT befreiten Kontrast und andererseits die Möglichkeit, die Eigenschaften von Kreatin im Muskel zu studieren. Die Signaloptimierung und Analyse der Daten macht aber nur Sinn, wenn die Inhomogenitäten der Magnetfelder B_0 und B_1 korrigiert werden.

6.2 In vitro-Experimente

Haris et al. [28] waren die ersten, die Kreatin mit CEST bei physiologischen Bedingungen untersucht haben (2012). Ihre Steady-State-Messung mit $t_{sat} = 19.98$ s bestehend aus 20 Hanning-Rechteckpulsen der Länge $t_p = 49$ ms und einer Pause von $t_d = 1$ ms zwischen den Pulsen ist mit dem in dieser Arbeit durchgeführten Experiment vergleichbar. Für 30 mM Kreatin (pH = 7.0, T = 37 °C) erhalten *Haris et al.* [28] mit der von *Liu et al.* [49] publizierte Methode zur Spillover-Korrektur – $MTR_{refnorm}$ – einen CEST-Effekt von 11.5 %. Für ein Phantom dieser Arbeit mit pH = 6.94 und 50 mM Kreatin, gemessen mit Gauß-Pulsen mit $B_1 = 2.33 \mu\text{T}$ bei T = 37 °C, ist $MTR_{refnorm} = 44.7 \pm 0.5$ %, was einem Effekt von 26.8 % für 30 mM Kreatin entspricht, wenn eine Proportionalität in der Konzentration angenommen wird [28]. Dies kann, verglichen mit *AREX*, nicht genau sein, da die austauschabhängige Relaxationsrate R_{ex} nicht nur im Zähler der Gleichung 3.44 zu finden ist. Eine äquivalente Messung dieser Arbeit mit Spin-Lock-Pulsen ergab für das 30-mM-Kreatinphantom ein $MTR_{refnorm}$ von (36.4 ± 0.5) %. Beide Werte sind höher, als jene bei *Haris et al.*, was an der Magnetfeldstärke von $B_0 = 7$ T liegen könnte – *Haris et al.* haben die CEST-Messungen bei 3 T durchgeführt. Mit der inversen Metrik erhält man bei der Messung von 30 mM Kreatin mit Spin-Lock-Pulsen ein $MTR_{R_{ex}}$ von (60.3 ± 1.3) %. Dies ist aber nicht verwunderlich, da $MTR_{refnorm}$ nur eine Spillover-Korrektur 1. Ordnung ist [102]: Sie hängt zwar nicht mehr, wie MTR_{asym} , vom quadratischen R_{eff} ab, wird aber trotzdem noch, wegen dem verbleibenden linearen Wert, stark von MT- und Spillover beeinflusst und ist stark B_1 -abhängig [107]. Eine Proportionalität des $MTR_{refnorm}$ -Kontrastes mit der Kreatinkonzentration wird von *Haris et al.* [28] für 10, 20 und 30 mM Kreatin gezeigt: $y = 0.6 \cdot x - 0.3$. Der y -Achsenabschnitt setzt aber voraus, dass man bei 0 mM Kreatin ein negatives CEST-Signal erhält. Sie vermuten also hier schon, dass zum CEST-Signal von Kreatin ein zusätzliches Signal (Spillover-Rest, MT, NOE und/oder andere Metaboliten) beiträgt. Das prinzipielle Linearitätsverhalten wurde hier widerlegt (Abschnitt 5.6). Auch bei sehr geringen Konzentrationen von Kreatin folgen weder MTR_{asym} , noch $MTR_{refnorm}$ einer Linearität. Dies zeigt Abbildung 6.1 für die nachträglich B_1 -korrigierten Ergebnisse aus Kapitel 5.1 und damit wiederum die Notwendigkeit der B_1 -Korrektur bei der Anwendung der inversen Metrik. Der CEST-Kontrast profitiert von der

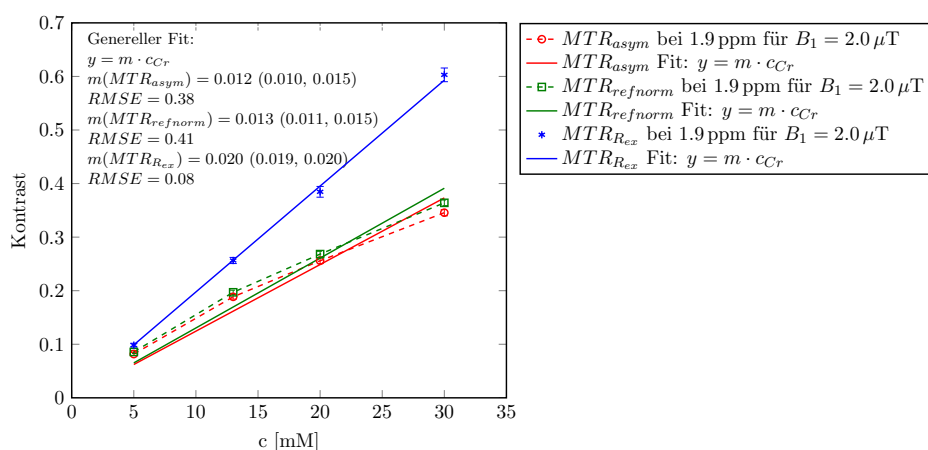


Abbildung 6.1: B_1 -korrigierter CEST-Kontrast von MTR_{asym} , $MTR_{refnorm}$ und $MTR_{R_{ex}}$ als Funktion der Konzentration c des Kreatin-PBS-Phantoms (Abschnitte 4.8.1 und 5.1) für $B_1 = 2.0 \mu\text{T}$ mit der entsprechenden linearen Fitfunktion. Vergleiche Abbildung 5.4.

$MTR_{R_{ex}}$ -Methode. Mit *AREX* erhält man zusätzlich einen T_1 -freien Kontrast, der linear von der Konzentration abhängt und eine Kalibrierung dieser erlaubt. Des Weiteren liefert *AREX* direkt über die austauschabhängige Relaxationsrate R_{ex} die Austauschrate k_b und das Protonenverhältnis f_b . Die für andere Metaboliten postulierte Proportionalität von MTR_{asym} , wie in [27] für die Hydroxylprotonen von myo-Inositol und in [113] von Glykogen und Glucose, oder $MTR_{refnorm}$, wie in [15] für die Amine von Glutamat und in [28] von Kreatin, in der Konzentration des austauschenden Moleküls, könnte in Zukunft mit *AREX* widerlegt werden. Zusätzlich würde die Quantifizierung davon profitieren. Gerade die Hydroxylgruppen, zum Beispiel auch die der Glykosaminoglykane [48], die ihre Resonanzfrequenz nahe an der Wasserresonanzfrequenz haben, brauchen eine verlässliche und effektive Korrektur der direkten Wassersättigung.

Die Resultate der *In-vitro*-Kreatin-CEST-Messungen bei 7 T von *Kogan et al.* [45] lassen sich mit den hier vorgestellten Ergebnissen an Kreatinphantomen nicht vergleichen: Die Messungen wurden durchgeführt mit 5 Hanning-Pulsen der Dauer $t_p = 99.6$ ms und einer Pause zwischen den Pulsen von $t_d = 0.4$ ms, was einer Gesamtsättigungszeit von $t_{sat} = 500$ ms entspricht. Dies erfüllt keine Steady-State-Bedingungen.

Des Weiteren konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die Sättigungseffizienz von Kreatin stark vom pH-Wert und der HF-Amplitude abhängt. $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ wurde als B_1 -Wert identifiziert, welcher ein nahezu pH-unabhängiges CEST-Signal für pH = 6.94 bis 7.15 liefert und somit reine konzentrationsgewichtete CEST-Bildgebung erlaubt.

Der Vergleich der Simulationen mit den Spektren der CEST-Messungen mit Spin-Lock-Pulsen ergab für die Austauschrate k_b von Aminprotonen des Kreatins mit dem Wasser $(690 \pm 50) \text{ s}^{-1}$. Der Multi- B_1 -Fit, basierend auf der analytischen Lösung der Bloch-McConnell Gleichungen, ergab für das Multi-Kreatin-Phantom-Set #2 ein mittleres k_b von $(852.22 \pm 6.98) \text{ s}^{-1}$. Das Ergebnis passt gut zu der in [28] mit $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bei $B_0 = 9.4$ T ermittelten Austauschrate von $(950 \pm 100) \text{ s}^{-1}$. Die *In-vitro*-Studie von *Görke et al.* untersuchte den Austausch der Guanidiniumprotonen von Kreatin mit *water-exchange (WEX) spectroscopy* für acht pH-Werte zwischen 5 und 6.4 bei $T = 25^\circ\text{C}$ und für acht Temperaturwerte zwischen 0 und 40°C beim pH-Wert 5.2 [24]. Mit CEST analysierten *Görke et al.* Kreatinphantome mit pH = 6.2 – 7.1 bei pH = 21°C . Mithilfe der Arrhenius-Gleichung wurden extrapolierte Austauschraten $k_b(\text{pH}, T)$ von Kreatin bei höheren pH-Werten und Temperaturen berechnet: Für pH = 7.0 und pH = 7.1 bei $T = 37^\circ\text{C}$ sind die jeweiligen Austauschraten $k_b = 1190 \text{ s}^{-1}$ und $k_b = 1499 \text{ s}^{-1}$ vergleichsweise höher. Die Austauschraten des Kreatins im langsamen Austauschbereich wurden in [24] mit CEST-Experimenten und in [107] mit zusätzlicher Auswertung mithilfe der $1/Z$ -Methode bestätigt. Die hohen Abweichungen von k_b bei physiologischen Bedingungen zu den oben genannten Werten sind sehr wahrscheinlich mit der starken Ungenauigkeit durch die Extrapolation in [24] zu erklären.

Die inverse Metrik wird nicht nur von B_0 -, sondern auch stark von B_1 -Feldinhomogenitäten beeinflusst. Die Korrektur nach [94] liefert sehr gute Ergebnisse und korrigiert schon mit 3 verschiedenen B_1 zuverlässig. Die $1/Z$ -Methode benötigt aber im Unterschied zur Isolierung von R_{ex} von $R_{1\rho}$, die von *Jin et al.* [38] vorgeschlagen wurde, oder zu der Spillover-Korrektur von *Sun et al.* [82], keine T_2 -Messung, um Spillover zu korrigieren.

Mit der T_1 -kompensierenden Metrik – *AREX* – wurde in dieser Arbeit eine Kalibrierungskurve für Kreatin, welches in Modelllösungen bei physiologischen Bedingungen (pH = 7.15 und $T = 37^\circ\text{C}$) und dem dafür optimalen $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ gemessen wurde, erstellt. Diese lineare Abhängigkeit gilt für alle B_1 und die Steigung wächst mit der HF-Amplitude. Eine

Konzentrationskalibrierung für andere Austauschraten kann somit entsprechend angepasst werden und erfordert nur die Identifizierung der optimalen B_1 -Amplitude.

Mit der inversen Metrik war es auch möglich, absolute pH-Karten zu berechnen. Im Gegensatz zum pH-Algorithmus von *Sun et al.* [82] benötigt die hier entwickelte Methode keine weiteren Kenntnisse der Relaxationskonstanten oder Protonenkonzentrationen von Wasser und den austauschenden Protonen.

6.3 *In vivo*-Studie

6.3.1 pH-unabhängige Cr-Konzentration

Die derzeit bekannten CEST-Studien der Wadenmuskulatur (in Ruhe und auch wie hier unter Belastung) stammen von *Kogan et al.* bei 3 T [44] und bei 7 T [45]. Die Ergebnisse beider *In-vivo*-Kreatin-CEST-Messungen lassen sich mit den hier vorgestellten Resultaten nicht vergleichen: Die Messungen bei $B_0 = 7$ T wurden mit 5 Hanning-Pulsen der Dauer $t_p = 99.6$ ms und einer Pause $t_d = 0.4$ ms zwischen den Pulsen durchgeführt. Die Sättigung bei $B_0 = 3$ T bestand aus 5 Hanning-Pulsen der Dauer $t_p = 96$ ms und einer Pause $t_d = 4$ ms zwischen den Pulsen. Bei beiden Messungen entsprach die Gesamtsättigungszeit jeweils $t_{sat} = 500$ ms. Dies erfüllt keine Steady-State-Bedingungen. Verglichen mit [45] ($B_{1,opt} = 2.9 \mu\text{T}$) wurde in dieser Arbeit ein optimales B_1 von $1.75 \mu\text{T}$ für den Transient-State und den Steady-State ermittelt. Diese HF-Amplitude ist zwar niedriger als bei *Kogan et al.*, aber ausreichend groß, um im Steady-State noch genug Signal zu haben, da der Spillover hier stärkeren Einfluss hat als im Transient-State. *Kogan et al.* geben für $B_0 = 3$ T einen Kreatinanstieg nur im Musculus gastrocnemius um den Faktor 1.2 bis 2.0 und für $B_0 = 7$ T um den Faktor 1.1 bis 1.6, abhängig vom Probanden, an. In dieser Arbeit konnten Kreatinkonzentrationsunterschiede beobachtet werden, die in Abhängigkeit von der Belastungsstärke des Muskels auftraten. Zusätzlich dazu konnte die Beanspruchung bestimmter Muskeln bei der Plantarflexion anatomisch lokalisiert werden: Beim Probanden #4 stieg die Kreatinkonzentration aufgrund intensiver Pedalbetätigung in allen vier untersuchten Muskeln um den Faktor 1.5 an. Proband #3 wies aufgrund kurzer Trittübungen geringere Konzentrationsunterschiede auf – die Kreatinkonzentration stieg verstärkt im Musculus gastrocnemius und Musculus fibularis longus. Ergebnisse der ruhenden Muskulatur des Probanden #1 konnten in einer zweiten Messung bestätigt werden. Der Konzentrationsanstieg und der pH-Abfall bei Muskelkontraktion ist verglichen mit den Daten von Proband #3 trotz gleicher Übungsanweisungen größer. Da sich die Trittstärke nicht wie bei [44, 45] mechanisch regulieren ließ, sind Unterschiede in der Übungsausführung sehr wahrscheinlich. Der allgemein während der Muskelarbeit beobachtete Konzentrationsanstieg des freien Kreatins korreliert sehr gut mit der Signalreduktion von Phosphokreatin. Da keine ^1H -MRS durchgeführt wurde, konnte nicht zusätzlich überprüft werden, ob die Intensität des Peaks von *total creatine* ($t\text{Cr} = \text{Cr} + \text{PCr}$) vor und während der Belastung konstant geblieben ist. Insgesamt sind die Werte für die Konzentration des freien Kreatins höher als in [34].

6.3.2 Konzentrationsunabhängige pH-Wert-Bestimmung

Für viele pathologische Veränderungen und Krankheitsprozesse wie Krebs und Schlaganfall ist die pH-Wert-Änderung ein sehr wichtiger Gewebeparameter. Die Bestimmung dieser Änderungen in *In-vivo*-Situationen ist eine Herausforderung: Der pH-Wert hängt von der

Temperatur, dem Wassergehalt, der Konzentration der labilen Protonen und der oft unbekannt chemischen Umgebung des austauschenden Protons ab. Für die Bestimmung vom pH-Wert mit CEST ist zusätzlich die Kenntnis des T_1 des Wassers und die Optimierung der Sättigungsparameter relevant.

Mit *AREX* und der hier entwickelten pH-Bestimmungsmethode ist die Realisierung eines von den obigen Einflüssen freien pH-Kontrastes gelungen. Dieser Ansatz lieferte aber insgesamt zu hohe pH-Werte, was zeigt, dass die Kalibrierung der pH-Messmethode in Phantomen nicht direkt auf die Situation *in vivo* übertragbar ist. Die Methode liefert zwar keine absoluten Werte, sie zeigt aber einen pH-gewichteten Kontrast. Im Gegensatz zu den Studien von *Kogan et al.* mit ^{31}P -MRS konnten hier während der Belastung pH-Unterschiede festgestellt werden. Ihre Übungen bestanden aus leichter Belastung [44, 45], so dass sich der Energiemetabolismus der Muskulatur im Steady-State [64] befand. In diesem Gleichgewicht wird kein H^+ oder P_i akkumuliert. Mit der implementierten *AREX*-Ratio-Methode wurde ein leichter pH-Abfall während der Muskelarbeit beobachtet. Die hier durchgeführte Übung pro Proband dauerte insgesamt, einschließlich der Aufwärmphase von 1 bis 2 min, ungefähr 15 bis 17 min mit sehr kurzen Pausen für die Signalauslese, und könnte anstrengend genug gewesen sein, um eine Glykolyse auszulösen, die mit der Produktion von Laktat und der ATP-Hydrolyse den pH senkt [64] oder einen kurzen pH-Anstieg verursacht [3]. Ein pH-Abfall würde die

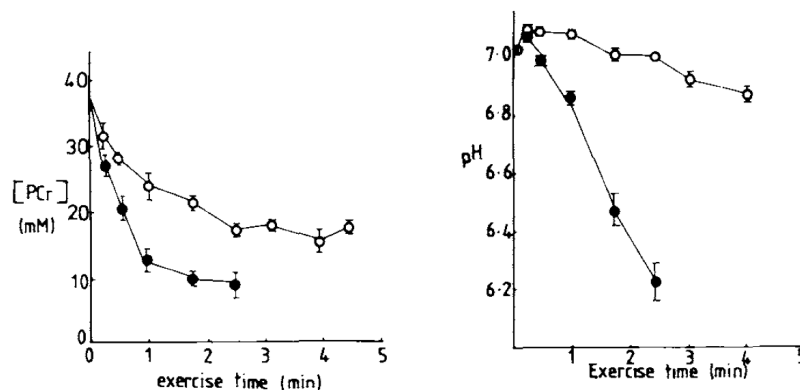


Abbildung 6.2: Änderungen in PCr (a) und pH (b) während einer Belastungsübung. Offene Kreise entsprechen leichten Übungen und geschlossene Kreise anstrengenden Übungen. Bestimmung von Konzentrationen und intrazellulären pH-Werten wurde in [3] erklärt. (Abbildung übernommen mit freundlicher Genehmigung von Copyright © *Arnold et al.* Magn Reson Med. 1984 Sep;1(3):307-15 [3].)

Austauschrate zwischen den Kreatinaminprotonen und den Wasserprotonen senken. Dies würde zu einem niedrigerem CEST-Kontrast führen, der hier nicht beobachtet wurde, da bei einem pH-unabhängigen B_1 gemessen wurde (Abb. 5.14). Die mit der ^{31}P -NMR-Spektroskopie ermittelten pH-Karten vor und während der Belastung in einem Probanden zeigten im Widerspruch zu den *AREX*-Ratio-pH-Karten einen Anstieg des pH-Wertes um 0.04 im *Musculus gastrocnemius*. Diese Beobachtung passt zu der von *Arnold et al.* [3]: Während die PCr Konzentration sofort nach Beginn der Muskelarbeit anfängt zu sinken, steigt der pH-Wert im Muskel leicht über den neutralen Wert und hält sich bei leichten, nicht anstrengenden Übungen länger über dem pH-Wert in Ruhe als bei anstrengenden Muskelaktivitäten (Abb. 6.2). Der beobachtete Anstieg des *AREX*-Ratios und der somit ermittelte pH-Abfall könnte auch eine fehlinterpretierte Temperaturzunahme im Muskel (ausgelöst durch die Muskelarbeit) sein. Abbildung 6.3 widerlegt aber diese Hypothese: Wäre die Temperatur im Muskel angestiegen,

würde man ein niedrigeres *AREX*-Ratio während der Muskelkontraktion messen. Auch ein pH-Anstieg und somit eine Zunahme der Austauschrate und eine gleichzeitige Temperaturzunahme führen zu einem niedrigeren *AREX*-Verhältnis. Das *AREX*-Ratio war aber während der Muskelkontraktion höher als im ruhenden Muskel. Die widersprüchlichen pH-Werte müssen also eine andere Ursache haben, die bislang nicht ergründet werden konnte. Am wahrscheinlichsten sind Beiträge von NOE oder asymmetrischem MT, die einen direkten Vergleich mit den Phantommessungen nicht zulassen.

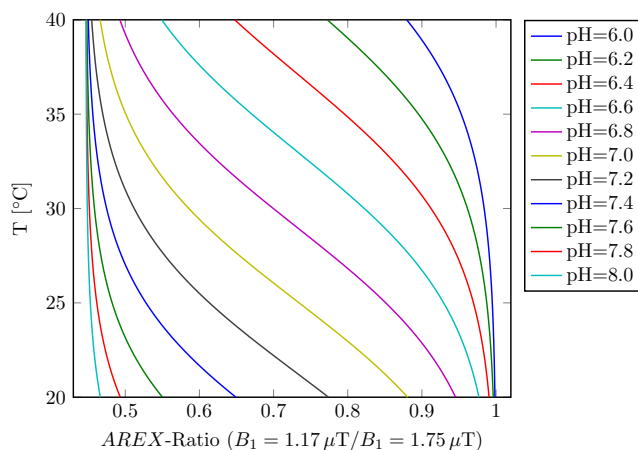


Abbildung 6.3: Temperatur als Funktion des *AREX*-Ratios für pH-Werte von 6 bis 8 in 0.2-Schritten.

6.3.3 Einfluss anderer Metaboliten auf den CrCEST-Kontrast

Die an der Creatin-Kinase-Reaktion beteiligten Metaboliten PCr, ATP und ADP sind mögliche Kandidaten, die das CEST-Signal bei 1.9 ppm beeinflussen könnten. *Haris et al.* [28] haben mit der ^1H -NMR-Spektroskopie bei $B_0 = 9.4\text{ T}$ herausgefunden, dass die Resonanzfrequenzen der Aminprotonen der oben genannten Moleküle in der Nähe von 1.9 ppm liegen (Tabelle 3.1). Ihre Austauschraten bei physiologischem pH und Temperatur sind aber zu niedrig ($< 140\text{ s}^{-1}$), um den CEST-Kontrast von Kreatin signifikant beeinflussen zu können. Würden die Aminprotonen des PCr zum beobachteten Kontrast beitragen, dann hätte man eine Signalreduktion gesehen da mit der ^{31}P -MRS ein Konzentrationsabfall von PCr nachgewiesen wurde. Das ATP-Signal zeigte in Ruhe und bei Kontraktion keine Veränderungen. Aufgrund sehr geringer Konzentration von ADP im Muskel (μM) ist seine Detektion mit CEST praktisch unmöglich.

Amidprotonen resonieren bei 3.5 ppm und somit außerhalb des aufgenommenen Frequenz-Offsets. Mit den verwendeten Sequenzparametern wäre deren Detektion sehr unwahrscheinlich, da ihre Austauschrate zu niedrig ist ($< 50\text{ s}^{-1}$) [98, 109, 112].

6.3.4 Einfluss der Perfusion auf den CEST-Effekt

Zheng et al. [108] zeigten 2013, dass Blut einen breiten CEST-Effekt zeigt. Das Maximum von MTR_{asym} in einer Arterie eines Wadenmuskels liegt bei einer Sättigung bei $B_0 = 3\text{ T}$ mit $t_{sat} = 500\text{ ms}$ und $B_1 = 3.5\ \mu\text{T}$ (optimales B_1 aus den *In-vitro*-Experimenten) bei 3 ppm und ist

mit 12 % viel höher als der CEST-Kontrast im Muskel- oder Hirngewebe. Prinzipiell vermuten die Autoren, dass sich der Kontrast durch chemischen Austausch von $-\text{OH}$, $-\text{NH}$, $-\text{NH}_2$ und NOE zusammensetzt. Auch in meiner Arbeit wurde bei den verwendeten Parametern beobachtet, dass sich die Arterien durch einen höheren Kontrast stark von der Muskulatur abgrenzen, eine ROI-Analyse ist aber fehlerbehaftet. In der *AREX*-Karte ist der Blutkontrast aufgrund der viel höheren longitudinalen Relaxationszeit T_1 geringer. Prinzipiell lassen sich Arterien und Muskeln optisch gut voneinander trennen – eine versehentliche ROI-Analyse in einer Arterie ist daher unwahrscheinlich. Da der Muskel aber von Kapillaren durchdrungen ist, könnte der CEST-Effekt von Blut zum beobachteten CEST-Kontrast im Muskel beitragen und zu einer Fehlinterpretation des CrCEST-Effekts führen. Das bedeutet, dass Blut als weiterer CEST-Pool den CEST-Effekt von Kreatin überlagern könnte. *AREX* bietet dafür keine Korrektur. Als ein Artefakt würde es zu einem höherem CEST-Effekt bei 1.9 ppm führen und so die etwas zu hohen Konzentrationswerte, die hier ermittelt wurden, erklären. Das *AREX*-Ratio liefert dementsprechend durch die Überlagerung von mehreren CEST-Effekten bei 1.9 ppm auch einen verfälschten pH-Wert.

Es ist bekannt, dass Muskelbelastung die Perfusion im Muskel erhöht. Aus diesem Grund wird auch spekuliert, dass der CEST-Kontrast während der Übung vom Blut stark beeinflusst wird. Im schlimmsten Fall korreliert der beobachtete CEST-Kontrast mit der Perfusion und nicht mit dem Kreatingehalt. Tatsächlich haben *Kogan et al.* [46] ihre CrCEST-Messungen mit Arterial-Spin-Labeling-Messungen (ASL) verglichen, in denen jeweils der Verlauf einer Hyperämie nach einer Blutstauung beobachtet wurde (PCr- und Cr-Konzentrationen blieben dabei konstant). Sie konnten keine signifikanten Unterschiede ($< 1\%$) zwischen den $MTR_{refnorm}$ -Kontrasten im Muskel während des Hyperämieverlaufs und dem $MTR_{refnorm}$ -Kontrast in der Wade vor und während der Stauung erkennen. Dies würde bedeuten, dass die Durchblutung unter Belastung wenig Einfluss auf die Veränderung des CrCEST-Kontrastes hat. Jedoch zeigen ihre CrCEST-Karten immer noch eine Änderung während der Blutstauung und der Hyperämie. Durch die inverse Metrik würden die in [46] beobachteten Unterschiede zudem vergrößert werden, weshalb für mögliche *AREX*-Studien die Perfusion mitbeobachtet werden sollte.

Bis jetzt wurde angenommen, dass der CEST-Pool vom Blut unter Belastung nur seine Volumengröße, also f_b , ändert, aber die Austauschrate konstant bleibt. Bei Muskelkontraktion sinkt aber der pH-Wert im Blut, was damit verbunden auch zu einer Änderung der Austauschrate führt. Aufgrund der möglichen Überlagerung des CEST-Effekts von Kreatin durch den BlutCEST-Effekt und des höheren pH-Wertes vom Blut (pH = 7.4 in Ruhe, der bei Belastung bis pH = 6.9 abfallen kann [32]), könnte das berechnete *AREX*-Ratio unter Belastung eine pH-Senkung im Muskel suggerieren. Damit könnte die Diskrepanz der Ergebnisse der hier zur pH-Bestimmung verwendeten Methoden (*AREX*-Ratio und ^{31}P -MRS) erklärt werden: Während mit der ^{31}P -MRS der intrazelluläre pH-Wert, der zuerst leicht basisch wird [3], beobachtet wird, könnte aufgrund der Überlagerung der CEST-Effekte von Blut und Kreatin auch ein „überlagerter“ pH-Wert bestimmt worden sein.

Eine wichtige Schlussfolgerung des erhöhten *AREX*-Ratio bleibt aber trotz vieler Hypothesen bestehen: Die Austauschrate nimmt ab und mit dieser auch der pH-Wert.

6.4 Limitationen der CrCEST-Messung

Es ist wichtig, einige potenzielle Limitationen der *In-vivo*-Studie zu benennen. Die verwendete Sequenz hat noch keine Fettsignalunterdrückung. Um direkte Sättigung der Fettprotonen

zu vermeiden, wurden die Messungen mit der In-Phase-Einstellung des Wasser- und Fettsignals durchgeführt. Außerdem wurde ein schmalere Frequenz-Offset gewählt, um nicht auf der Resonanzfrequenz der Methylenketten der freien Fettsäuren zu sättigen. Bei einer Fettsignalunterdrückung könnte man ein größeres Frequenzintervall erfassen. Ein positiver Nebeneffekt dieser Einstellungen war die kürzere Messzeit. Eine radiale k -Raum-Auslese würde die Scanzeit zusätzlich deutlich reduzieren. Auch wenn die B_1 -Korrektur von [94] mit der Aufnahme von nur drei CEST-Messungen mit unterschiedlichen HF-Amplituden und den dazugehörigen drei weiteren B_1 -Karten sehr gut funktioniert, würde eine Korrektur der Magnetfeldinhomogenitäten mit nur einer Messung oder ein *Parallel-RF-Transmission*-System [41] die CEST-Technik besser anwendbar machen. Trotz einer doppelresonanten ^{31}P - ^1H -Spule mussten die CEST-Messungen mit einer ^1H -Kniespule durchgeführt werden, da die ^{31}P - ^1H -Spule hauptsächlich auf die ^{31}P -NMR optimiert ist. Die Daten konnten also aufgrund des Spulenwechsels nicht gleichzeitig aufgenommen werden. Die Positionierung der Wade nach dem Spulenwechsel und die Schichtauswahl waren aber aufgrund der sehr viel größeren Voxelgröße von ^{31}P -CSI, verglichen mit jener der CEST-MR-Bildgebung, unkritisch.

6.5 Ausblick

Die in dieser Arbeit vorgestellten Messungen wurden alle bei $B_0 = 7\text{ T}$ durchgeführt. Klinische Tomographen haben aber eine Magnetfeldstärke von 3 Tesla und geringer. Aufgrund der Austauschrate von Kreatin im mittleren Austauschbereich wird die Trennung der Resonanzlinien bei niedrigeren Magnetfeldstärken noch schwieriger. Nicht nur die Sequenzparameter müssen neu angepasst werden – neue Sättigungspulse sollten auch untersucht werden, die zwar eine effektive Sättigung des CEST-Pools und eine brauchbare R_{1a} liefern, aber geringe direkte Wassersättigung bewirken [66]. In *In-vivo*-Studien wird auch 3D-Bildgebung verlangt. Dies verlängert die Messzeit einer Steady-State-Messung, die minimales $t_{sat} \approx T_1$ voraussetzt, enorm. Zusätzlich kann die Signalauslese durch einen gemeinsamen Steady-State von Auslese und Sättigung oder durch eine kurze Transient-State-Sättigung und eine beispielsweise radiale Signalauslese beschleunigt werden.

Die ersten Ergebnisse einer *In-vivo*-CrCEST-Messung an der Wade sind in Abbildung 6.4 dargestellt. Die CEST-Kontraste wurden nicht auf B_1 -Inhomogenitäten korrigiert. Der $MTR_{R_{ex}}$ -

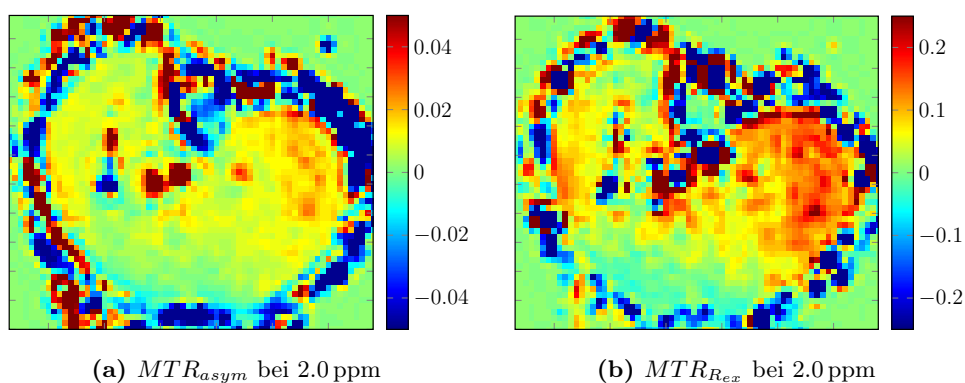


Abbildung 6.4: Proband #1 (männlich, 26 Jahre): CEST-Messung der Wade bei $B_0 = 3\text{ T}$. Sättigungs- und Bildgebungsparameter sind Kapitel 4.9.2 zu entnehmen. Diese 3D-Messung hat trotz der Kompromissen in der Sättigungszeit und Abtastung eine Stunde gedauert.

Kontrast ist zwar, wie bekannt, stärker B_1 -abhängig als MTR_{asym} , liefert aber nach der Korrektur mit der inversen Metrik auch bei $B_0 = 3\text{ T}$ einen verglichen mit MTR_{asym} signifikanten Kontrast.

Nicht nur in der Wadenmuskulatur ist CrCEST von großem Interesse. Die Metaboliten der Creatin-Kinase-Reaktion lassen sich auch im Myocard detektieren. *Haris et al.* [30] haben zum ersten Mal Aminprotonen des Kreatins in CEST-Tierexperimenten *ex vitro* und *ex vivo* an gesunden Herzen und an Infarkt Herzen detektiert. Mit den Sättigungseinstellungen des Transient-State ($t_{sat} = 250\text{ ms}$ und $B_1 = 3.6\text{ }\mu\text{T}$) wurde bei $B_0 = 3\text{ T}$ ein Signalabfall von $MTR_{refnorm}$ bei 2.0 ppm im kranken Muskelgewebe beobachtet. Eine schnelle Sättigung ist für eine Cardio-CEST-Messung notwendig. Mit der hohen B_1 -Amplitude, die man wegen der schnellen Austauschrate der Aminprotonen benötigt, beeinflusst auch die direkte Wassersättigung den CEST-Kontrast sehr stark. Zusätzlich deutet das schmalere Z -Spektrum des Infarktmuskels in [30] auf eine T_1 -Reduktion hin. Alle diese Störfaktoren des CEST-Kontrastes können nur mit der inversen Metrik korrigiert werden. Diese kann aber zur Auswertung der Daten im Transient-State nicht angewendet werden. Steady-State-Messungen am schlagenden Herzen sind wünschenswert. In der Nähe des Steady-States ($t_{sat} \approx T_1$) lässt sich die inverse Metrik auch als Näherung verwenden [102] und mit einer EKG-Synchronisation oder mit einer radialen Signalauslese und einem iterativen Rekonstruktionsverfahren [90] könnten CEST-Messungen am Herzen realisiert werden. Für *Real-time*-Messungen ist es der Normalfall im Steady-State zu messen. Somit ist meine Studie auch eine Machbarkeitsstudie für Kreatinmessungen mit schnellen Steady-State-Sequenzen.

Cai et al. [14] haben gesundes und neoplastisches Hirngewebe von fünf Ratten bei $B_0 = 9.4\text{ T}$ durch Analyse der mit Lorentz-Funktionen gefitteten Z -Spektren [106] untersucht. Durch Vergleich der gefitteten Integrale beobachten sie einen Signalabfall bei 2.0 ppm im Tumor. Diese Resonanzfrequenz ordneten sie den Aminprotonen des Kreatins zu. Diese Beobachtung eröffnet der Steady-State-CrCEST-Messung und der Auswertung mit der inversen Metrik ein neues Anwendungsfeld: Die in Tumor- und Schlaganfallstudien beobachteten T_1 -Unterschiede im Vergleich zum T_1 im gesunden Gewebe [99, 102] müssen, zusätzlich zu Spillover und MT, unbedingt korrigiert werden, wenn die Quantifizierung genau sein soll. Des Weiteren kann die Auswertung mit AREX durch einen vorhergehenden Lorentz-Fit [21, 106] von mehreren Pools verbessert werden. Mit den hier entwickelten Methoden zur Konzentrations- und pH-Bestimmung ließen sich darüber hinaus Aussagen über k_b und f_b machen.

Kapitel 7

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde das Guanidinderivat Kreatin (Cr) – ein ubiquitärer Metabolit des Energiestoffwechsels der Zelle – mit der *Chemical Exchange Saturation Transfer* (CEST)-Methode untersucht.

Das Ziel der Arbeit war die Beobachtung des CrCEST-Kontrastes in der Wadenmuskulatur des Menschen. Dazu wurden folgende Teilaufgaben gelöst:

- Detektion des CrCEST-Kontrastes *in vitro*
- Optimierung der Sättigungs- und Bildgebungsparameter zur Signalintensitäts- und Signalselektivitätsmaximierung *in vitro* für Transient-State- und Steady-State-Messungen
- Analyse von CrCEST im mittleren Austauschbereich, um ähnliche Situationen *in vivo* zu modellieren
- Test der Anwendbarkeit der inversen Metrik auf Protonenaustauschprozesse im *Intermediate-exchange*-Bereich
- Übertragung des gewonnenen Wissens auf *In-vivo*-Messungen an der Wadenmuskulatur
- Optimierung der Sättigungs- und Bildgebungsparameter zur Signalintensitäts- und -Signalselektivitätsmaximierung *in vivo* für Transient-State- und Steady-State-Messungen
- Anwendung der inversen Metrik auf *In-vivo*-Daten
- Quantifizierung von Cr und pH in Modelllösungen und *in vivo*

Die Phantommessungen und CEST-MRI der Wade lieferten für Transient-State- und Steady-State-Messungen bei $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ den optimalen Cr-Kontrast. Es zeigte sich, dass der Kontrast bei dieser HF-Leistung fast pH-unabhängig ist, was sich für die Kalibrierung der Konzentrationsmessung als nützlich erwies. Die Korrektur der Magnetisierungstransfer-Effekte, der direkten Wassersättigung und des Einflusses der longitudinalen Relaxationszeit der Wasserprotonen mit der inversen Metrik lieferte einen homogenen Cr-Kontrast in allen Phantomen. Die Evaluationsmethode *AREX* (*apparent exchange-dependent relaxation*) der $1/Z$ -Metrik erwies sich als sehr nützlich zur Entwicklung einer allgemeinen Kalibrierungsmethode für die Konzentrationsmessung und die pH-Wert-Messmethode des untersuchten Metaboliten. Der pH-unabhängige Kontrast bei $B_1 = 1.75 \mu\text{T}$ ermöglichte aufgrund der linearen Abhängigkeit von *AREX* von der Konzentration die Kalibrierung. Das Verhältnis zweier *AREX*-Kontraste bei unterschiedlicher HF-Leistung zeigte ein lineares Verhalten im pH-Wert bei physiologischen Bedingungen. Die Kalibrierungsgleichungen für Cr wurden an Phantomen erfolgreich bestätigt. Der CrCEST-Kontrast wurde bei allen gemessenen Probanden beobachtet und mit der inversen Metrik erfolgreich korrigiert. Auch hier wurde festgestellt, dass nicht nur eine Korrektur des statischen Magnetfeldes, sondern auch des Hochfrequenz-Feldes für die CEST-Messungen von essenzieller Bedeutung ist. Um den Energiemetabolismus verfolgen zu können, bestanden die

Messungen an der Wade aus zwei Teilen: Messungen in Ruhe und während Muskelkontraktion. Hierfür wurde ein MR-kompatibles Pedal entworfen. Die Anwendung der Konzentrations- und pH-Wert-Bestimmungsmethoden lieferte jeweils pH-unabhängige Konzentrationskarten und konzentrationsunabhängige pH-gewichtete Karten des Kreatins in der Wade. Während der Muskelkontraktion wurde ein Anstieg des Kreatingehalts und ein leichter pH-Abfall beobachtet.

Die entwickelten Methoden und Ergebnisse waren Teil einer Machbarkeitsstudie und sind trotz ihrer Einfachheit wichtige Grundsteine in der Weiterentwicklung und Optimierung von CEST-Messungen im menschlichen Körper. Die verwendete $1/Z$ -Methode korrigierte erfolgreich Störeffekte auch für Austauschprozesse im mittleren Austauschbereich und ermöglichte Kalibrierungen der Konzentrations- und der pH-Wert-Messung, die auch auf andere austauschende Protonen und in allen Geweberegionen angewendet werden können. Dies erlaubt nicht nur die Erforschung der Creatin-Kinase-Reaktion bei Muskelerkrankungen, sondern generell die indirekte Bildgebung und nichtinvasive Quantifizierung von austauschenden Protonen in pathologischen Gewebeveränderungen.

Anhang

Einige Abschnitte dieser Arbeit wurden von mir schon in [60, 61, 62, 63] publiziert.

Abbildungsverzeichnis

2.1	Zeeman-Effekt	4
2.2	Zeitlicher Verlauf des FID-Signals mit Relaxation	7
2.3	^1H -NMR-Spektrum des Gehirns einer Ratte <i>in vivo</i>	8
3.1	Schema eines 2-Pool-Modells	11
3.2	Energielevel-Schema eines dipolar gekoppelten 2-Spin-Systems $ I, S\rangle$	12
3.3	Beispiel eines <i>In-vivo</i> -Z-Spektrums	16
3.4	Magnetisierungstransferprozesse eines Proteins	17
3.5	Abhängigkeit des CEST-Effekts von den Sättigungsparametern	19
3.6	Einfluss von Spillover-, MT- und T_1 -Effekten auf das Z-Spektrum	20
3.7	Strukturformeln der Edukte und Produkte der Creatin-Kinase-Reaktion	24
4.1	Sequenzschema	28
4.2	Sättigungsmethoden	29
4.3	Phantomhalterungen und Thermosbehälter	35
4.4	Anatomische Darstellung des rechten Arms	38
4.5	Anatomische Darstellung der Wade	40
5.1	Spin-Lock-Kreatin-Phantom-Messung im Vergleich mit den Simulationen: B_1, k_b	44
5.2	Spin-Lock-Kreatin-Phantom-Messung im Vergleich mit den Simulationen: B_1, f_b	45
5.3	Inhomogenitäten der Magnetfelder und ihre Folgen	45
5.4	MTR_{asym} und $MTR_{R_{ex}}$ als Funktion der Konzentration des Kreatin-PBS-Phantoms	46
5.5	Optimierung der Pulsanzahl für <i>in vivo</i> Messungen	47
5.6	Optimierung der B_1 -Amplitude für <i>in vivo</i> Messungen	48
5.7	Steady-State versus nicht Steady-State-CEST-Messungen	48
5.8	Steady-State-CEST-Messung vom Unterarm	49
5.9	CEST-Spektren des Agar-Multi-Kreatin-Phantoms	51
5.10	CEST-Bilder des Agar-Multi-Kreatin-Phantoms	52
5.11	CEST-Kontraste als Funktion von B_1	53
5.12	CEST-Spektren des Konzentration-Multi-Kreatin-Phantoms	54
5.13	CEST-Spektren des pH-Multi-Kreatin-Phantoms	55
5.14	$AREX$ als Funktion von pH	56
5.15	MTR_{asym} und $AREX$ als Funktion der Konzentration des Konzentration-Multi-Kreatin-Phantoms	57
5.16	$AREX$ als Funktion der Konzentration für verschiedene B_1	58
5.17	$AREX$ -Ratio	58
5.18	pH als Funktion des $AREX$ -Ratio	59
5.19	pH-Kalibrierung	60
5.20	Multi- B_1 -Fit des Konzentration-Multi-Kreatin-Phantoms	63
5.21	Proband #1: CEST-Karten	64

5.22	Proband #1: Kreatin- und pH-Karten	65
5.23	Proband #2: Kreatin- und pH-Karten	65
5.24	Proband #1: Kreatin- und pH-Karten vor und während der Belastung	66
5.25	Proband #1: Phosphokreatin- und pH-Karten	67
5.26	Proband #3: Kreatin- und pH-Karten vor und während der Belastung	68
5.27	Proband #4: Kreatin- und pH-Karten vor und während der Belastung	69
6.1	B_1 -korrigierte MTR_{asym} , $MTR_{refnorm}$ und $MTR_{R_{ex}}$ als Funktion der Konzentration des Kreatin-PBS-Phantoms	72
6.2	Temperatur als Funktion von $AREX$ -Ratio	75
6.3	Temperatur als Funktion des $AREX$ -Ratios	76
6.4	Steady-State-CEST bei $B_0 = 3\text{ T}$	78

Tabellenverzeichnis

2.1	Typische T_1 - und T_2 -Relaxationszeiten im Körper des Menschen bei $B_0 = 3\text{ T}$	7
3.1	Chemische Verschiebungen der chemischen Gruppen von Kreatin (Cr), Phosphokreatin (PCr) und Adenosin-5'-Triphosphat (ATP), die Austauschraten der Aminogruppen und die Konzentrationen im menschlichen Muskel	25
4.1	Allgemeine Simulationsparameter	27
4.2	Zusammensetzung der Sets der Multi-Kreatin-Phantome	36
5.1	Simulationsparameter für das 2-Pool-Kreatin-Phantom	43
5.2	pH-Werte in Multi-Kreatin-Phantomen ermittelt mit der pH-Kalibrierungskurve	61
5.3	Mit Multi- B_1 -Fit ermittelte Austauschraten der Aminprotonen von Kreatin im Konzentration-Multi-Kreatin-Phantom	62
5.4	Kreatin-Konzentrationen und -pH-Werte vor und während der Belastung in der Wadenmuskulatur	70

Literaturverzeichnis

- [1] ABERGEL, D. ; 3RD, A. G. P.: Approximate Solutions of the Bloch–McConnell Equations for Two-Site Chemical Exchange. In: *ChemPhysChem* 5 (2004), Juni, Nr. 6, 787 - 793. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15253305> (Zitiert auf Seite 19.)
- [2] ABRAGAM, A.: *The Principles of Nuclear Magnetism*. New York : Oxford University Press, 1961. – XVI, 599 S. <http://de.scribd.com/doc/75401377/Abragam-The-Principles-of-Nuclear-Magnetism> (Zitiert auf Seite 3.)
- [3] ARNOLD, D. L. ; MATTHEWS, P. M. ; RADDI, G. K.: Metabolic recovery after exercise and the assessment of mitochondrial function in vivo in human skeletal muscle by means of ^{31}P NMR. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 1 (1984), September, Nr. 3, 307–315. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6571561> (Zitiert auf den Seiten 67, 75 und 77.)
- [4] BACHERT, P. ; BELLEMANN, M. E. ; LAYER, G. ; KOCH, T. ; SEMMLER, W. ; LORENZ, W. J.: In vivo ^1H , ^{31}P - ^1H and ^{13}C - ^1H magnetic resonance spectroscopy of malignant histiocytoma and skeletal muscle tissue in man. In: *NMR in Biomedicine* 5 (1992), Juli, Nr. 4, 161–170. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/nbm.1940050402/abstract> (Zitiert auf Seite 13.)
- [5] BALABAN, R. S. ; CHESNICK, S. ; HEDGES, K. ; SAMAHA, F. ; HEINEMAN, F. W.: Magnetization transfer contrast in MR imaging of the heart. In: *Radiology* 180 (1991), September, Nr. 3, 671–675. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1871277> (Zitiert auf Seite 2.)
- [6] BAX, J. J. ; ROOS, A. de ; DER WALL, E. E.: Assessment of myocardial viability by MRI. In: *Journal of magnetic resonance imaging: JMRI* 10 (1999), September, Nr. 3, 418–422. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10508304> (Zitiert auf Seite 2.)
- [7] BAX, J. J. ; VISSER, F. C. ; LINGEN, A. van ; CORNEL, J. H. ; FIORETTI, P. M. ; WALL, E. E. d.: Metabolic imaging using ^{18}F -fluorodeoxyglucose to assess myocardial viability. In: *International Journal of Cardiac Imaging* 13 (1997), April, Nr. 2, 145–155; discussion 157–160. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9110194> (Zitiert auf Seite 2.)
- [8] BAX, J. J. ; WALL, E. E. V.: Assessment of myocardial viability: guide to prognosis and clinical management. In: *European Heart Journal* 21 (2000), Juni, Nr. 12, 961–963. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10901505> (Zitiert auf Seite 2.)
- [9] BEEK, A. M. ; KÜHL, H. P. ; BONDARENKO, O. ; J. W. R. TWISK, Jos ; HOFMAN, M. B. M. ; DOCKUM, W. G. ; VISSER, C. A. ; ROSSUM, A. C.: Delayed contrast-enhanced magnetic resonance imaging for the prediction of regional functional improvement after acute myocardial infarction. In: *Journal of the American College of Cardiology* 42 (2003), September, Nr. 5, 895–901. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12957439> (Zitiert auf Seite 2.)

- [10] BEER, M. ; SEYFARTH, T. ; SANDSTEDTE, J. ; LANDSCHÜTZ, W. ; LIPKE, C. ; KÖSTLER, H. ; KIENLIN, M. von ; HARRE, K. ; HAHN, D. ; NEUBAUER, S.: Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied, and failing human myocardium measured noninvasively with $(31)\text{P}$ -SLOOP magnetic resonance spectroscopy. In: *Journal of the American College of Cardiology* 40 (2002), Oktober, Nr. 7, 1267–1274. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12383574> (Zitiert auf Seite 2.)
- [11] BERGSTRÖM, J. ; GUARNIERI, G. ; HULTMAN, E.: Carbohydrate metabolism and electrolyte changes in human muscle tissue during heavy work. In: *Journal of Applied Physiology* 30 (1971), Januar, Nr. 1, 122–125. <http://jap.physiology.org/content/30/1/122> (Zitiert auf den Seiten 32 und 57.)
- [12] BLOCH, F. ; HANSEN, W. W. ; PACKARD, M.: The nuclear induction experiment. In: *Physical Review* 70 (1946), Oct, Nr. 7-8, 474–485. <http://journals.aps.org/pr/abstract/10.1103/PhysRev.70.474> (Zitiert auf den Seiten 1 und 6.)
- [13] BLOEMBERGEN, N. ; PURCELL, E. M. ; POUND, R. V.: Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption. In: *Physical Review* 73 (1948), Apr, 679–712. <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.73.679> (Zitiert auf Seite 13.)
- [14] CAI, K. ; SINGH, A. ; POPTANI, H. ; LI, W. ; YANG, S. ; LU, Y. ; HARIHARAN, H. ; ZHOU, X. J. ; REDDY, R.: CEST signal at 2 ppm (CEST@2ppm) from Z-spectral fitting correlates with creatine distribution in brain tumor. In: *NMR in biomedicine* (2014), Oktober. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25295758> (Zitiert auf den Seiten 1 und 79.)
- [15] CAI, K. ; SINGH, A. ; ROALF, D. R. ; NANGA, R. P. R. ; HARIS, M. ; HARIHARAN, H. ; GUR, R. ; REDDY, R.: Mapping glutamate in subcortical brain structures using high-resolution GluCEST MRI. In: *NMR in Biomedicine* (2013), 1278-1284. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23553932> (Zitiert auf den Seiten 1 und 73.)
- [16] CHAN, K. W. Y. ; MCMAHON, M. T. ; KATO, Y. ; LIU, G. ; BULTE, J. W. M. ; BHUJWALLA, Z. M. ; ARTEMOV, D. ; ZIJL, P. C. M.: Natural D-glucose as a biodegradable MRI contrast agent for detecting cancer. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 68 (2012), Nr. 6, 1764–1773. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23074027> (Zitiert auf Seite 1.)
- [17] COLEMAN, T. ; LI, Y.: An interior trust region approach for nonlinear minimization subject to bounds. In: *SIAM Journal on Optimization* 6 (1996), Nr. 2, 418-445. <http://dx.doi.org/10.1137/0806023> (Zitiert auf Seite 33.)
- [18] COLEMAN, T. F. ; LI, Y.: On the convergence of interior-reflective Newton methods for nonlinear minimization subject to bounds. In: *Mathematical Programming* 67 (1994), Oktober, Nr. 1-3, 189–224. <http://link.springer.com/article/10.1007/BF01582221> (Zitiert auf Seite 33.)
- [19] CRANE, P. ; LALIBERTÉ, R. ; HEMINWAY, S. ; THOOLEN, M. ; ORLANDI, C.: Effect of mitochondrial viability and metabolism on technetium-99m-sestamibi myocardial retention. In: *European Journal of Nuclear Medicine* 20 (1993), Januar, Nr. 1, 20–25. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7678396> (Zitiert auf Seite 2.)

- [20] DENNIS, Jr. J. ; MORÉ, J.: Quasi-Newton Methods, Motivation and Theory. In: *SIAM Review* 19 (1977), Nr. 1, 46-89. <http://dx.doi.org/10.1137/1019005> (Zitiert auf Seite 33.)
- [21] DESMOND, K. L. ; MOOSVI, F. ; STANISZ, G. J.: Mapping of amide, amine, and aliphatic peaks in the CEST spectra of murine xenografts at 7 T. In: *Magnetic Resonance in Medicine* (2013), Juni. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23801344> (Zitiert auf Seite 79.)
- [22] DULA, A. N. ; ARLINGHAUS, L. R. ; DORTCH, R. D. ; DEWEY, B. E. ; WHISENANT, J. G. ; AYERS, G. D. ; YANKEELOV, T. E. ; SMITH, S. A.: Amide proton transfer imaging of the breast at 3 T: establishing reproducibility and possible feasibility assessing chemotherapy response. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 70 (2013), Juli, Nr. 1, 216–224. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22907893> (Zitiert auf Seite 1.)
- [23] DZEJA, P. P. ; REDFIELD, M. M. ; BURNETT, J. C. ; TERZIC, A.: Failing energetics in failing hearts. In: *Current Cardiology Reports* 2 (2000), Mai, Nr. 3, 212–217. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10980895> (Zitiert auf Seite 2.)
- [24] GOERKE, S. ; ZAISS, M. ; BACHERT, P.: Characterization of creatine guanidinium proton exchange by water-exchange (WEX) spectroscopy for absolute-pH CEST imaging in vitro. In: *NMR in Biomedicine* 27 (2014), Nr. 5, 507–518. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24535718> (Zitiert auf den Seiten 15, 25, 27, 43, 46, 53, 59, 62 und 73.)
- [25] GRAAF, R. A.: *In vivo NMR spectroscopy*. 2. ed. Chichester [u.a.] : Wiley, 2007. – XXI, 570 S. (Zitiert auf den Seiten 3, 8, 13 und 25.)
- [26] HAACKE, E. M. ; BROWN, R. W. ; THOMPSON, M. R. ; VENKATESAN, R.: *Magnetic resonance imaging*. New York [u.a.] : Wiley-Liss, 1999. – XXVII, 914 S.. – Includes bibliographical references and index (Zitiert auf Seite 3.)
- [27] HARIS, M. ; CAI, K. ; SINGH, A. ; HARIHARAN, H. ; REDDY, R.: In vivo mapping of brain myo-inositol. In: *NeuroImage* 54 (2011), Februar, Nr. 3, 2079–2085. <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6WNP-517J286-2/f4c4cc311647469a2cf870cb02e0c3e4> (Zitiert auf den Seiten 1 und 73.)
- [28] HARIS, M. ; NANGA, R. P. R. ; A.SINGH ; CAI, K. ; KOGAN, F. ; HARIHARAN, H. ; REDDY, R.: Exchange rates of creatine kinase metabolites: Feasibility of imaging creatine by chemical exchange saturation transfer MRI. In: *NMR in Biomedicine* 25 (2012), Nr. 11, 1305–1309. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22431193> (Zitiert auf den Seiten 1, 18, 25, 27, 44, 46, 56, 62, 72, 73 und 76.)
- [29] HARIS, M. ; NATH, K. ; CAI, K. ; SINGH, A. ; CRESCENZI, R. ; KOGAN, F. ; VERMA, G. ; REDDY, S. ; HARIHARAN, H. ; MELHEM, E. R. ; REDDY, R.: Imaging of glutamate neurotransmitter alterations in Alzheimer’s disease. In: *NMR in biomedicine* 26 (2013), April, Nr. 4, 386–391. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23045158> (Zitiert auf Seite 1.)
- [30] HARIS, M. ; SINGH, A. ; CAI, K. ; KOGAN, F. ; MCGARVEY, J. ; DEBROSSE, C. ; ZSIDO, G. A. ; WITSCHHEY, W. R. T. ; KOOMALSINGH, K. ; PILLA, J. J. ; CHIRINOS, J. A. ; FERRARI, V. A. ; GORMAN, J. H. ; HARIHARAN, H. ; GORMAN, R. C. ; REDDY, R.: A

- technique for in vivo mapping of myocardial creatine kinase metabolism. In: *Nature Medicine* 20 (2014), Februar, Nr. 2, 209–214. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24412924> (Zitiert auf den Seiten 2 und 79.)
- [31] HENKELMAN, R. M. ; HUANG, X. ; XIANG, Q. S. ; STANISZ, G. J. ; SWANSON, S. D. ; BRONSKILL, M. J.: Quantitative interpretation of magnetization transfer. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 29 (1993), Juni, Nr. 6, 759–766. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8350718> (Zitiert auf Seite 16.)
- [32] HERMANSEN, L. ; OSNES, J. B.: Blood and muscle pH after maximal exercise in man. In: *Journal of applied physiology* 32 (1972), März, Nr. 3, 304–308. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5010039> (Zitiert auf Seite 77.)
- [33] HOFFMANN, S.: *Charakterisierung des 1H - 1H -Magnetisierungstransfers an Agarose-Gelen und Nachweis des Amidprotonentransfers an Carnosin.*, Universität Heidelberg, Diplomarbeit, 2008 (Zitiert auf Seite 13.)
- [34] HULTMAN, E. ; SÖDERLUND, K. ; TIMMONS, J. A. ; CEDERBLAD, G. ; GREENHAFF, P. L.: Muscle creatine loading in men. In: *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 81 (1996), Juli, Nr. 1, 232–237. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8828669> (Zitiert auf den Seiten 25, 64, 71 und 74.)
- [35] JIA, G. ; ABAZA, R. ; WILLIAMS, J. D. ; ZYNGER, D. L. ; ZHOU, J. ; SHAH, Z. K. ; PATEL, M. ; SAMMET, S. ; WEI, L. ; BAHNSON, R. R. ; KNOPP, M. V.: Amide proton transfer MR imaging of prostate cancer: a preliminary study. In: *Journal of magnetic resonance imaging: JMRI* 33 (2011), März, Nr. 3, 647–654. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21563248> (Zitiert auf Seite 1.)
- [36] JIN, T. ; KIM, S.-G.: Quantitative chemical exchange sensitive MRI using irradiation with toggling inversion preparation. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 68 (2012), Oktober, Nr. 4, 1056–1064. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22887701> (Zitiert auf Seite 21.)
- [37] JIN, T. ; KIM, S. G.: In vivo saturation transfer imaging of nuclear Overhauser effect from aromatic and aliphatic protons: implication to APT quantification. In: *Proceedings of the Annual Meeting of the ISMRM* (2528, 2013) (Zitiert auf Seite 17.)
- [38] JIN, T. ; WANG, P. ; ZONG, X. ; KIM, S.-G.: Magnetic resonance imaging of the Amine-Proton EXchange (APEX) dependent contrast. In: *NeuroImage* 59 (2012), Januar, Nr. 2, 1218–1227. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21871570> (Zitiert auf Seite 73.)
- [39] JIN, T. ; WANG, P. ; ZONG, X. ; KIM, S.-G.: MR imaging of the amide-proton transfer effect and the pH-insensitive nuclear overhauser effect at 9.4 T. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 69 (2013), März, 760–770. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3419318/> (Zitiert auf Seite 17.)
- [40] JONES, C. K. ; HUANG, A. ; XU, J. ; EDDEN, R. A. E. ; SCHÄR, M. ; HUA, J. ; OSKOLKOV, N. ; ZACÀ, D. ; ZHOU, J. ; MCMAHON, M. T. ; PILLAI, J. J. ; ZIJL, P. C. M.: Nuclear Overhauser enhancement (NOE) imaging in the human brain at 7 T. In: *NeuroImage* 77 (2013), August, 114–124. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23567889> (Zitiert auf den Seiten 1 und 17.)

- [41] KATSCHER, U. ; BÖRNERT, P.: Parallel RF transmission in MRI. In: *NMR in biomedicine* 19 (2006), Mai, Nr. 3, 393–400. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16705630> (Zitiert auf Seite 78.)
- [42] KEMP, G. J. ; MEYERSPEER, M. ; MOSER, E.: Absolute quantification of phosphorus metabolite concentrations in human muscle in vivo by ^{31}P MRS: a quantitative review. In: *NMR in biomedicine* 20 (2007), Oktober, Nr. 6, 555–565. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17628042> (Zitiert auf den Seiten 25 und 71.)
- [43] KIM, M. ; GILLEN, J. ; LANDMAN, B. A. ; ZHOU, J. ; ZIJL, P. C. M.: Water saturation shift referencing (WASSR) for chemical exchange saturation transfer (CEST) experiments. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 61 (2009), Nr. 6, 1441–1450. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19358232> (Zitiert auf Seite 31.)
- [44] KOGAN, F. ; HARIS, M. ; DEBROSSE, C. ; SINGH, A. ; NANGA, R. P. R. ; CAI, K. ; HARIHARAN, H. ; REDDY, R.: In vivo chemical exchange saturation transfer imaging of creatine (CrCEST) in skeletal muscle at 3 T. In: *Journal of magnetic resonance imaging: JMIR* (2013), Oktober. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24925857> (Zitiert auf den Seiten 1, 2, 74 und 75.)
- [45] KOGAN, F. ; HARIS, M. ; SINGH, A. ; CAI, K. ; DEBROSSE, C. ; NANGA, R. P. R. ; HARIHARAN, H. ; REDDY, R.: Method for high-resolution imaging of creatine in vivo using chemical exchange saturation transfer. In: *Magnetic Resonance in Medicine* (2013), 164–172. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23412909> (Zitiert auf den Seiten 1, 2, 73, 74 und 75.)
- [46] KOGAN, F. ; STAFFORD, R. B. ; HARIS, M. ; ENGLUND, E. K. ; SINGH, A. ; CAI, K. ; DEBROSSE, C. ; NANGA, R. P. R. ; HARIHARAN, H. ; DETRE, J. A. ; REDDY, R.: Contribution of tissue perfusion to the CEST effect from creatine in skeletal muscle. In: *Proceedings of the Annual Meeting of the ISMRM* (2554, 2013) (Zitiert auf Seite 77.)
- [47] KORZOWSKI, A.: *Aufbau der Phosphor-31-Kernspinresonanzspektroskopie an einem experimentellen 7-T- Ganzkörper-NMR-Tomographen.*, Universität Heidelberg, Diplomarbeit, 2011 (Zitiert auf Seite 9.)
- [48] LING, W. ; REGATTE, R. R. ; NAVON, G. ; JERSCHOW, A.: Assessment of glycosaminoglycan concentration in vivo by chemical exchange-dependent saturation transfer (gagCEST). In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (2008), Februar, Nr. 7, 2266–2270. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18268341> (Zitiert auf den Seiten 1 und 73.)
- [49] LIU, G. ; GILAD, A. A. ; BULTE, J. W. M. ; ZIJL, Peter P. C. M. v. ; MCMAHON, M. T.: High-throughput screening of chemical exchange saturation transfer MR contrast agents. In: *Contrast media & molecular imaging* 5 (2010), Juni, Nr. 3, 162–170. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2898906/> (Zitiert auf den Seiten 23 und 72.)
- [50] MALYARENKO, D. I. ; ZIMMERMANN, E. M. ; ADLER, J. ; SWANSON, S. D.: Magnetization transfer in lamellar liquid crystals. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 72 (2014), nov, Nr. 5, 1427–1434. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24258798> (Zitiert auf Seite 17.)

- [51] MCCONNELL, H. M.: Reaction rates by nuclear magnetic resonance. In: *The Journal of Chemical Physics* 28 (1958), Nr. 3, 430. <http://link.aip.org/link/JCPSA6/v28/i3/p430/s1&Agg=doi> (Zitiert auf den Seiten 11 und 14.)
- [52] METZLER, B. ; SCHOCKE, M. F. H. ; STEINBOECK, P. ; WOLF, C. ; JUDMAIER, W. ; LECHLEITNER, M. ; LUKAS, P. ; PACHINGER, O.: Decreased high-energy phosphate ratios in the myocardium of men with diabetes mellitus type I. In: *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance: Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance* 4 (2002), Nr. 4, 493–502. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12549236> (Zitiert auf Seite 2.)
- [53] MILOUSHEV, V. Z. ; 3RD, A. G. P.: $R_{1\rho}$ relaxation for two-site chemical exchange: General approximations and some exact solutions. In: *Journal of Magnetic Resonance* 177 (2005), Nr. 2, 221 - 227. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16143548> (Zitiert auf Seite 19.)
- [54] MOON, R. B. ; RICHARDS, J. H.: Determination of intracellular pH by ^{31}P magnetic resonance. In: *The Journal of Biological Chemistry* 248 (1973), oct, Nr. 20, 7276–7278. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4743524> (Zitiert auf Seite 9.)
- [55] NAKAE, I. ; MITSUNAMI, K. ; OMURA, T. ; YABE, T. ; TSUTAMOTO, T. ; MATSUO, S. ; TAKAHASHI, M. ; MORIKAWA, S. ; INUBUSHI, T. ; NAKAMURA, Y. ; KINOSHITA, M. ; HORIE, M.: Proton magnetic resonance spectroscopy can detect creatine depletion associated with the progression of heart failure in cardiomyopathy. In: *Journal of the American College of Cardiology* 42 (2003), November, Nr. 9, 1587–1593. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14607443> (Zitiert auf Seite 2.)
- [56] OVERHAUSER, A. W.: Paramagnetic Relaxation in Metals. In: *Phys. Rev.* 89 (1953), Feb, 689–700. <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.89.689> (Zitiert auf Seite 13.)
- [57] PURCELL, E. M. ; TORREY, H. C. ; POUND, R. V.: Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. In: *Phys. Rev.* 69 (1946), Jan, Nr. 1-2, 37–38. <http://journals.aps.org/pr/abstract/10.1103/PhysRev.70.474> (Zitiert auf Seite 1.)
- [58] REISER, M. (Hrsg.) ; HRICAK, H. (Hrsg.) ; SEMMLER, W. (Hrsg.): *Magnetic resonance tomography*. Berlin, Heidelberg : Springer, 2008. – XXVII, 1511 S. (Zitiert auf Seite 3.)
- [59] RENTROP, T.: *Untersuchung des Protonenaustauschs zwischen Metaboliten und Wasser durch Messung der Spin-Gitter-Relaxation im rotierenden Koordinatensystem.*, Universität Heidelberg, Diplomarbeit, 2011 (Zitiert auf den Seiten 29 und 30.)
- [60] RERICH, E.: *Experimenteller Nachweis des Sättigungstransfers der Hydroxylprotonen von Cholin und seiner Derivate bei 3 T.*, Universität Heidelberg, Diplomarbeit, 2011 (Zitiert auf den Seiten 2, 3 und 83.)
- [61] RERICH, E. ; ZAISS, M. ; BACHERT, P.: In vitro Bestimmung der Austauschrate labiler Aminprotonen von Kreatin bei physiologischem pH-Wert und Temperatur mit gepulstem Spinlock bei 7 Tesla und Vergleich mit Simulationen. In: *Abstractband der 44. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Medizinische Physik* (2013), September (Zitiert auf den Seiten 2, 43 und 83.)

- [62] RERICH, E. ; ZAISS, M. ; BACHERT, P.: Spillover Correction for Creatine in Muscle. In: *Proceedings of Annual Meeting of the ESMRMB* (2013), Oktober (Zitiert auf den Seiten 2, 43 und 83.)
- [63] RERICH, E. ; ZAISS, M. ; BACHERT, P.: Steady-state pulsed chemical exchange saturation transfer imaging of creatine in human calf muscle followed by spillover correction evaluation. In: *Proceedings of Joint Annual Meeting of the ISMRM & ESMRMB* (2014), Mai (Zitiert auf den Seiten 2, 43 und 83.)
- [64] ROBERGS, R. A. ; GHIASVAND, F. ; PARKER, D.: Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. In: *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 287 (2004), September, Nr. 3, R502–516. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15308499> (Zitiert auf Seite 75.)
- [65] SAHLIN, K. ; HARRIS, R. C. ; NYLIND, B. ; HULTMAN, E.: Lactate content and pH in muscle obtained after dynamic exercise. In: *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology* 367 (1976), Dezember, Nr. 2, 143–149. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13343> (Zitiert auf Seite 2.)
- [66] SANTYR, G. E. ; FAIRBANKS, E. J. ; KELCZ, F. ; SORENSON, J. A.: Off-resonance spin locking for MR imaging. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 32 (1994), Juli, Nr. 1, 43–51. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8084236> (Zitiert auf den Seiten 46 und 78.)
- [67] SCHMITT, B.: *Selektive NMR-Bildgebung am Menschen mittels des Protonenaustauschs zwischen Metaboliten und Wasser.*, Universität Heidelberg, Dissertation, 2011. <http://archiv.ub.uni-heidelberg.de/volltextserver/11871/> (Zitiert auf den Seiten 18 und 30.)
- [68] SCHMITT, B. ; ZAISS, M. ; ZHOU, J. ; BACHERT, P.: Optimization of pulse train presaturation for CEST imaging in clinical scanners. In: *Magnetic Resonance in Medicine* (2010). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21337418> (Zitiert auf den Seiten 29 und 30.)
- [69] SCHMITT, B. ; ZAMECNIK, P. ; ZAISS, M. ; RERICH, E. ; SCHUSTER, L. ; BACHERT, P. ; SCHLEMMER, H. P.: A new contrast in MR mammography by means of chemical exchange saturation transfer (CEST) imaging at 3 Tesla: preliminary results. In: *RöFo: Fortschritte Auf Dem Gebiete Der Röntgenstrahlen Und Der Nuklearmedizin* 183 (2011), November, Nr. 11, 1030–1036. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22034086> (Zitiert auf Seite 1.)
- [70] SCHMITT, B. ; ZBÝN, S. ; STELZENEDER, D. ; JELLUS, V. ; PAUL, D. ; LAUER, L. ; BACHERT, P. ; TRATTNIG, S.: Cartilage quality assessment by using glycosaminoglycan chemical exchange saturation transfer and ^{23}Na MR imaging at 7T. In: *Radiology* 260 (2011), Juli, Nr. 1, 257–264. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21460030> (Zitiert auf Seite 1.)
- [71] SCHRÖDER, L.: *Quantenmechanische Feinstruktur und molekulare Dynamik gekoppelter Spin-1/2-Systeme in der In-vivo-NMR-Spektroskopie.*, Universität Heidelberg, Dissertation, 2003 (Zitiert auf Seite 24.)

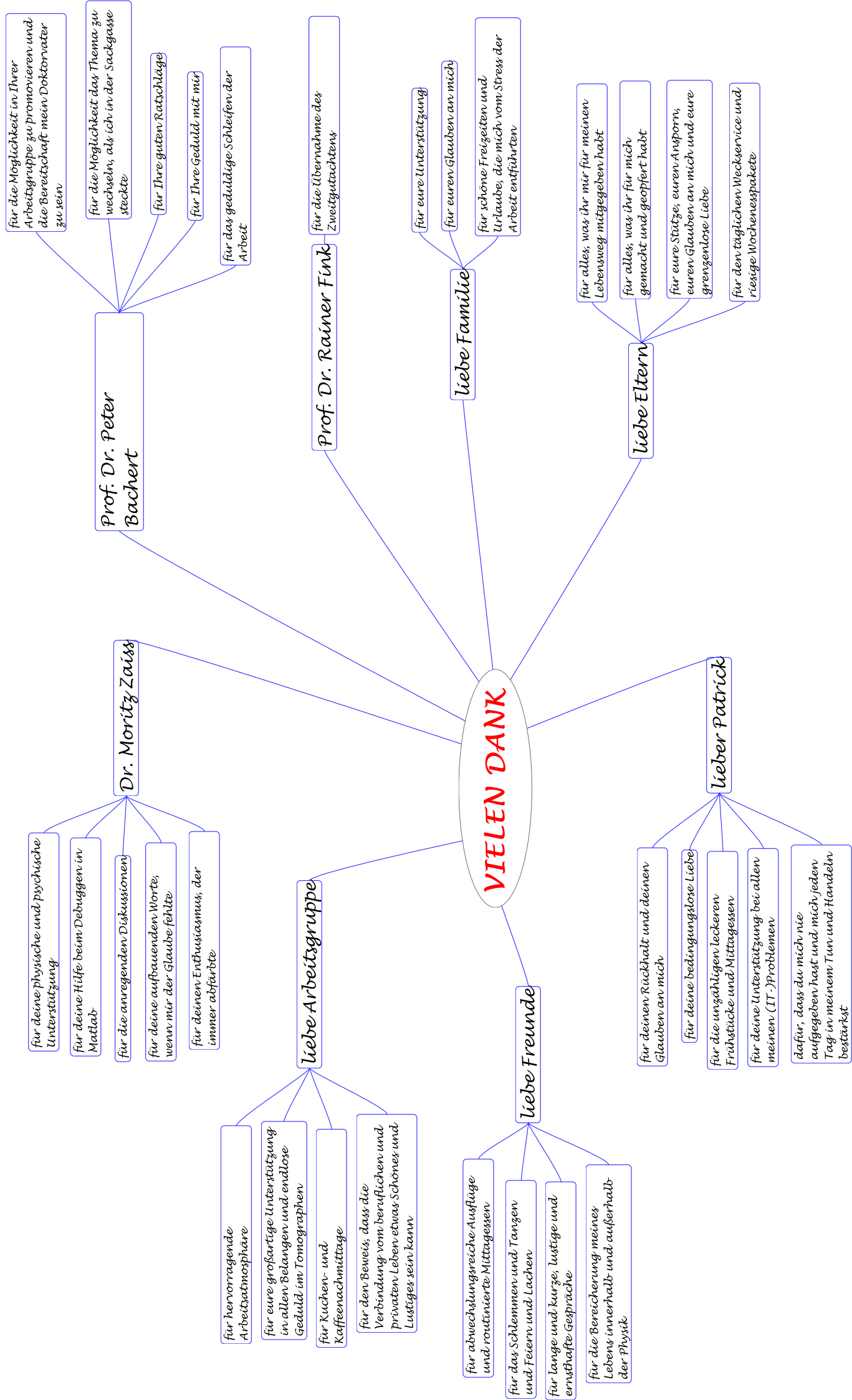
- [72] SCHÜNKE, M. ; SCHULTE, E. ; SCHUMACHER, U. Ill. von Voll M. ; K., Wesker: *Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem*. Georg Thieme Verlag KG, 2014. – XV, 613 S. <http://www.thiemebilddatenbankanatomie.de/> (Zitiert auf den Seiten 38 und 40.)
- [73] SHERRY, A. D. ; WOODS, M.: Chemical Exchange Saturation Transfer Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging. In: *Annual review of biomedical engineering* 10 (2008), 391–411. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18647117> (Zitiert auf Seite 1.)
- [74] SINGH, A. ; CAI, K. ; HARIS, M. ; HARIHARAN, H. ; REDDY, R.: On B_1 inhomogeneity correction of in vivo human brain glutamate chemical exchange saturation transfer contrast at 7 T. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 69 (2013), Nr. 3, 818–824. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22511396> (Zitiert auf Seite 1.)
- [75] SINGH, A. ; HARIS, M. ; CAI, K. ; HARIHARAN, H. ; REDDY, R.: Chemical exchange transfer imaging of creatine. In: *Proceedings of the Annual Meeting of the ISMRM* (Poster 4619, 2011). http://www.mmrrcc.upenn.edu/mediawiki/images/e/eb/Anup_CrCEST_4619_RegularPoster_2011.pdf (Zitiert auf Seite 56.)
- [76] SINGH, A. ; HARIS, M. ; CAI, K. ; KASSEY, V. B. ; KOGAN, F. ; REDDY, D. ; HARIHARAN, H. ; REDDY, R.: Chemical exchange saturation transfer magnetic resonance imaging of human knee cartilage at 3 T and 7 T. In: *Magnetic resonance in medicine* 68 (2012), August, Nr. 2, 588–594. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22213239> (Zitiert auf Seite 1.)
- [77] SJØGAARD, G. ; SALTIN, B.: Extra- and intracellular water spaces in muscles of man at rest and with dynamic exercise. In: *The American Journal of Physiology* 243 (1982), Nr. 3, R271–280. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3970234> (Zitiert auf den Seiten 32 und 57.)
- [78] SLICHTER, C. P.: *Principles of magnetic resonance*. Berlin : Springer, 1989 (Zitiert auf Seite 3.)
- [79] SOLOMON, I.: Relaxation processes in a system of two spins. In: *Physical Review* 99 (1955), Juli, Nr. 2, 559. <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.99.559> (Zitiert auf den Seiten 11 und 12.)
- [80] STANISZ, G. J. ; ODRUBINA, E. E. ; PUN, J. ; ESCARAVAGE, M. ; GRAHAM, S. J. ; BRONSKILL, M. J. ; HENKELMAN, R. M.: T_1 , T_2 relaxation and magnetization transfer in tissue at 3 T. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 54 (2005), September, Nr. 3, 507–512. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16086319> (Zitiert auf den Seiten 7, 16 und 27.)
- [81] SUN, P. Z. ; BENNER, T. ; KUMAR, A. ; SORENSEN, A. G.: Investigation of optimizing and translating pH-sensitive pulsed-chemical exchange saturation transfer (CEST) imaging to a 3 T clinical scanner. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 60 (2008), Nr. 4, 834–841. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18816867> (Zitiert auf Seite 2.)
- [82] SUN, P. Z. ; SORENSEN, A. G.: Imaging pH using the chemical exchange saturation transfer (CEST) MRI: Correction of concomitant RF irradiation effects to quantify CEST MRI for chemical exchange rate and pH. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 60 (2008), Nr. 2, 390–397. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18666128> (Zitiert auf den Seiten 73 und 74.)

- [83] SUN, P. Z. ; WANG, E. ; CHEUNG, J. S. ; ZHANG, X. ; BENNER, T. ; SORENSSEN, A. G.: Simulation and optimization of pulsed radio frequency irradiation scheme for chemical exchange saturation transfer (CEST) MRI-demonstration of pH-weighted pulsed-amide proton CEST MRI in an animal model of acute cerebral ischemia. In: *Magnetic resonance in medicine* 66 (2011), Oktober, Nr. 4, 1042–1048. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21437977> (Zitiert auf Seite 1.)
- [84] SUN, P. Z. ; ZHOU, J. ; HUANG, J. ; ZIJL, P. van: Simplified quantitative description of amide proton transfer (APT) imaging during acute ischemia. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 57 (2007), Nr. 2, 405–410. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17260362> (Zitiert auf Seite 1.)
- [85] SUN, P. Z. ; ZIJL, P. C. M. ; ZHOU, J.: Optimization of the irradiation power in chemical exchange dependent saturation transfer experiments. In: *Journal of Magnetic Resonance* 175 (2005), August, Nr. 2, 193–200. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15893487> (Zitiert auf Seite 18.)
- [86] SWANSON, S. D. ; PANG, Y.: MT is Symmetric but Shifted with Respect to Water. In: *Proceedings of the Annual Meeting of the ISMRM* (2003) (Zitiert auf Seite 17.)
- [87] TROTT, O. ; 3RD, A. G. P.: $R_{1\rho}$ relaxation outside of the fast-exchange limit. In: *Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif.: 1997)* 154 (2002), Januar, Nr. 1, 157–160. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11820837> (Zitiert auf den Seiten 19 und 20.)
- [88] TROTT, O. ; 3RD, A. G. P.: Theoretical study of $R_{1\rho}$ rotating-frame and R_2 free-precession relaxation in the presence of n-site chemical exchange. In: *Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif.: 1997)* 170 (2004), September, Nr. 1, 104–112. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15324763> (Zitiert auf den Seiten 19 und 20.)
- [89] TROTT, O. ; ABERGEL, D. ; 3RD, A. G. P.: An average-magnetization analysis of $R_{1\rho}$ relaxation outside of the fast exchange limit. In: *Molecular Physics* 101 (2003), Nr. 6, S. 753–763 (Zitiert auf Seite 19.)
- [90] UECKER, M. ; ZHANG, S. ; VOIT, D. ; KARAU, A. ; MERBOLDT, K.-D. ; FRAHM, J.: Real-time MRI at a resolution of 20 ms. In: *NMR in biomedicine* 23 (2010), Oktober, Nr. 8, 986–994. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20799371> (Zitiert auf Seite 79.)
- [91] WALKER-SAMUEL, S. ; RAMASAWMY, R. ; TORREALDEA, F. ; REGA, M. ; RAJKUMAR, V. ; JOHNSON, S. P. ; RICHARDSON, S. ; GONÇALVES, M. ; PARKES, H. G. ; ÅRSTAD, E. ; THOMAS, D. L. ; PEDLEY, R. B. ; LYTHGOE, M. F. ; GOLAY, X.: In vivo imaging of glucose uptake and metabolism in tumors. In: *Nature Medicine* 19 (2013), August, Nr. 8, 1067–1072. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23832090> (Zitiert auf Seite 1.)
- [92] WARD, K. M. ; ALETRAS, A. H. ; BALABAN, R. S.: A new class of contrast agents for MRI based on proton chemical exchange dependent saturation transfer (CEST). In: *Journal of Magnetic Resonance* 143 (2000), März, Nr. 1, 79–87. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10698648> (Zitiert auf Seite 1.)
- [93] WARD, K. M. ; BALABAN, R. S.: Determination of pH using water protons and chemical exchange dependent saturation transfer (CEST). In: *Magnetic resonance in medicine* 44

- (2000), November, Nr. 5, 799–802. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11064415> (Zitiert auf Seite 2.)
- [94] WINDSCHUH, J. ; ZAISS, M. ; MEISSNER, J.-E. ; BACHERT, P.: B_1 -correction of isolated, spillover-corrected CEST-effects at 7 T. In: *Proceedings of Joint Annual Meeting of the ISMRM & ESMRMB* (2014), Mai (Zitiert auf den Seiten 31, 73 und 78.)
- [95] WOESSNER, D. E. ; ZHANG, S. ; MERRITT, M. E. ; SHERRY, A. D.: Numerical solution of the Bloch equations provides insights into the optimum design of PARACEST agents for MRI. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 53 (2005), Nr. 4, 790–799. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15799055> (Zitiert auf Seite 21.)
- [96] WOLFF, S. D. ; BALABAN, R. S.: Magnetization transfer contrast (MTC) and tissue water proton relaxation in vivo. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 10 (1989), Nr. 1, 135–144. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrm.1910100113/abstract> (Zitiert auf Seite 16.)
- [97] WOLFF, S. D. ; BALABAN, R. S.: NMR imaging of labile proton exchange. In: *Journal of Magnetic Resonance (1969)* 86 (1990), Nr. 1, 164–169. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022236490902204> (Zitiert auf Seite 1.)
- [98] XU, J. ; YADAV, N. N. ; BAR-SHIR, A. ; JONES, C. K. ; CHAN, K. W. Y. ; ZHANG, J. ; WALCZAK, P. ; MCMAHON, M. T. ; ZIJL, P. C. M.: Variable delay multi-pulse train for fast chemical exchange saturation transfer and relayed-nuclear overhauser enhancement MRI. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 71 (2014), Mai, Nr. 5, 1798–1812. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23813483> (Zitiert auf Seite 76.)
- [99] XU, J. ; ZAISS, M. ; ZU, Z. ; LI, H. ; XIE, J. ; GOCHBERG, D. F. ; BACHERT, P. ; GORE, J. C.: On the origins of chemical exchange saturation transfer (CEST) contrast in tumors at 9.4 T. In: *NMR in Biomedicine* (2014), Januar, 406–416. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24474497> (Zitiert auf Seite 79.)
- [100] YADAV, N. N. ; JONES, C. K. ; XU, J. ; BAR-SHIR, A. ; GILAD, A. A. ; MCMAHON, M. T. ; ZIJL, P. C. M.: Detection of rapidly exchanging compounds using on-resonance frequency-labeled exchange (FLEX) transfer. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 68 (2012), Oktober, Nr. 4, 1048–1055. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22837066> (Zitiert auf Seite 18.)
- [101] ZAISS, M.: *Ein neues Modell zur Auswertung von NMR-Sättigungstransferexperimenten unter chemischem Austausch.*, Universität Heidelberg, Diplomarbeit, 2010 (Zitiert auf den Seiten 18 und 30.)
- [102] ZAISS, M.: *Chemical exchange saturation transfer in a biophysical context.*, Universität Heidelberg, Dissertation, 2014 (Zitiert auf den Seiten 2, 16, 19, 23, 27, 28, 29, 30, 33, 46, 48, 72 und 79.)
- [103] ZAISS, M. ; BACHERT, P.: Exchange-dependent relaxation in the rotating frame for slow and intermediate exchange – modeling off-resonant spin-lock and chemical exchange saturation transfer. In: *NMR in Biomedicine* 26 (2012), März, Nr. 5, 507–518. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23281186> (Zitiert auf den Seiten 14, 19, 20, 23, 27, 49 und 71.)

- [104] ZAISS, M. ; BACHERT, P.: Chemical exchange saturation transfer (CEST) and MR Z-Spectroscopy in vivo: A review of theoretical approaches and methods. In: *Physics in Medicine and Biology* 58 (2013), Nr. 22, R221. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24201125> (Zitiert auf den Seiten 18, 19, 20, 22, 28, 29 und 53.)
- [105] ZAISS, M. ; KUNZ, P. ; GOERKE, S. ; RADBRUCH, A. ; BACHERT, P.: MR imaging of protein folding in vitro employing Nuclear-Overhauser-mediated saturation transfer. In: *NMR in Biomedicine* (2013), 1815–1822. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24115020> (Zitiert auf Seite 17.)
- [106] ZAISS, M. ; SCHMITT, B. ; BACHERT, P.: Quantitative separation of CEST effect from magnetization transfer and spillover effects by lorentzian-line-fit analysis of Z-Spectra. In: *Journal of Magnetic Resonance* 211 (2011), Nr. 2, 149–155. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21641247> (Zitiert auf Seite 79.)
- [107] ZAISS, M. ; XU, J. ; GOERKE, S. ; KHAN, I. S. ; SINGER, R. J. ; GORE, J. C. ; GOCHBERG, D. F. ; BACHERT, P.: Inverse Z-spectrum analysis for spillover-, MT-, and T_1 -corrected steady-state pulsed CEST-MRI – application to pH-weighted MRI of acute stroke. In: *NMR in Biomedicine* 27 (2014), Nr. 3, 240–252. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24395553> (Zitiert auf den Seiten 2, 16, 23, 27, 32, 50, 53, 72 und 73.)
- [108] ZHENG, S. ; BOM, I. M. J. d. ; ZU, Z. ; LIN, G. ; ZHAO, Y. ; GOUNIS, M. J.: Chemical exchange saturation transfer effect in blood. In: *Magnetic Resonance in Medicine* (2013), Mai. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23661508> (Zitiert auf Seite 76.)
- [109] ZHOU, J. ; LAL, B. ; WILSON, D. A. ; LATERRA, J. ; ZIJL, P. C. M.: Amide proton transfer (APT) contrast for imaging of brain tumors. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 50 (2003), Nr. 6, 1120–1126. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14648559> (Zitiert auf den Seiten 1 und 76.)
- [110] ZHOU, J. ; PAYEN, J.-F. ; WILSON, D. A. ; TRAYSTMAN, R. J. ; ZIJL, P. C. M.: Using the amide proton signals of intracellular proteins and peptides to detect pH effects in MRI. In: *Nature medicine* 9 (2003), August, Nr. 8, 1085–1090. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12872167> (Zitiert auf den Seiten 1, 18 und 23.)
- [111] ZHOU, J. ; WILSON, D. A. ; SUN, P. Z. ; KLAUS, J. A. ; ZIJL, P. C. M.: Quantitative description of proton exchange processes between water and endogenous and exogenous agents for WEX, CEST, and APT experiments. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 51 (2004), Nr. 5, 945–952. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15122676> (Zitiert auf Seite 23.)
- [112] ZHOU, J. ; ZIJL, P. C. M.: Chemical exchange saturation transfer imaging and spectroscopy. In: *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 48 (2006), Mai, Nr. 2-3, 109–136. <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6THC-4JRVFR9-2/2/42f5f96c12df40ba01850bd3fbbf4fc8> (Zitiert auf Seite 76.)
- [113] ZIJL, P. C. M. ; JONES, C. K. ; REN, J. ; MALLOY, C. R. ; SHERRY, A. D.: MRI detection of glycogen in vivo by using chemical exchange saturation transfer imaging (glycoCEST). In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (2007), März, Nr. 11, 4359–4364. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17360529> (Zitiert auf den Seiten 1 und 73.)

- [114] ZIJL, P. C. M. ; ZHOU, J. ; MORI, N. ; PAYEN, J.-F. ; WILSON, D. ; MORI, S.: Mechanism of magnetization transfer during on-resonance water saturation. A new approach to detect mobile proteins, peptides, and lipids. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 49 (2003), März, Nr. 3, 440–449. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12594746> (Zitiert auf Seite 13.)
- [115] ZIJL P. C. van ; N., Yadav N.: Chemical exchange saturation transfer (CEST): what is in a name and what isn't? In: *Magnetic resonance in medicine: official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 65 (2011), April, Nr. 4, 927–948. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21337419> (Zitiert auf Seite 17.)



Erklärung

Ich versichere, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Heidelberg, den 8. Dezember 2014
