

**Aus dem Institut für Röntgendiagnostik  
der Universität Würzburg  
Direktor: Prof. Dr. med. D. Hahn**

**31-P-Magnetresonanztomographie der menschlichen Leber**

**Inaugural – Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der**

**Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

**Katrin Schubert  
aus Schwarzenbach/Saale**

**Würzburg, Februar 2006**

**Referent: Prof. Dr. med. D. Hahn**

**Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. H. Lührs**

**Dekan: Prof. Dr. med. G. Ertl**

**Tag der mündlichen Prüfung: 11.07.2006**

**Die Promovendin ist Ärztin**

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Einleitung</b>	
1.1. Leberzirrhose	1
1.1.1. Anatomie und Physiologie der Leber	2
1.1.2. Definition der Leberzirrhose	2
1.1.3. Ätiologie der Leberzirrhose	3
1.1.4. Pathogenese der alkoholtoxischen Leberzirrhose	3
1.1.5. Formen der Leberzirrhose nach der WHO-Systematik	4
1.1.6. Symptome der Leberzirrhose	5
1.1.7. Folgen und Komplikationen	5
1.1.8. Bisherige diagnostische Möglichkeiten	6
1.2. Neue Möglichkeit: <sup>31</sup> P Magnetresonanzspektroskopie	7
1.2.1. Geschichtliches	7
1.2.2. Physikalische Grundlagen	8
1.2.3. <sup>31</sup> P Magnetresonanzspektroskopie	9
1.2.3.1. Chemische Verschiebung am Beispiel des Phosphorspektrums der menschlichen Leber	9
1.2.3.2. Lokalisierte Magnetresonanzspektroskopie	12
<b>2. Material und Methoden</b>	
2.1. Hardware	15
2.1.1. Ganzkörpertomograph	15
2.1.2. Spulensystem	15
2.2. Vorbereitung der Messung	15
2.3. Verwendete Sequenzen und Aufnahmetechniken	16
2.4. Software	16
2.4.1. Konventionelle Auswerteverfahren: AMARES	16
2.4.2. Absolute Quantifizierung: SLOOP	17
2.5. Probanden und Patienten	19
2.5.1. Probandenstudie	19
2.5.1.1. Spezielle Einschluss-/Ausschlusskriterien	19
2.5.1.2. Probandenkollektiv	19
2.5.1.3. Einfluss der Ernährungslage	19
2.5.1.4. Inter-/Intraobservervariabilität für SLOOP	19
2.5.2. Patientenstudie	20
2.5.2.1. Spezielle Einschluss-/ Ausschlusskriterien	20
2.5.2.2. Patientenkollektiv	20
2.6. Statistische Auswertung	20
<b>3. Ergebnisse</b>	
3.1. Bestimmung des Einflusses der Ernährungslage	21
3.2. Bestimmung der Normalwerte	22
3.2.1. AMARES	22
3.2.2. SLOOP	25
3.3. Vergleich der mittels AMARES und SLOOP ermittelten Metabolitenverhältnisse	28
3.4. Bestimmung der Signal-zu-Rausch-Verhältnisse	29
3.4.1. Probanden	29
3.4.2. Patienten	30
3.5. Bestimmung der Intra-/Interobservervariabilitäten	31
3.5.1. Intraobservervariabilität	31

3.5.2. Interobservervariabilität	32
3.6. Bestimmung des Energiestoffwechsels bei Leberzirrhose	33
3.6.1. AMARES	34
3.6.2. SLOOP	35
<b>4. Diskussion</b>	
4.1. Methoden zur Erfassung einer Leberzirrhose – allgemein	37
4.2. Verwendete spektroskopische Technik	38
4.2.1. Lokalisationstechnik (3D-CSI)	38
4.2.2. Quantifizierungsprogramme	39
4.2.2.1. AMARES	39
4.2.2.2. SLOOP	40
4.3. Leberstoffwechsel bei Gesunden	42
4.3.1. Diskussion des Einflusses der Ernährungslage	42
4.3.2. Normalwerte-Bestimmung mittels unterschiedlicher Quantifizierungsprogramme	43
4.3.2.1. AMARES	43
4.3.2.2. SLOOP	44
4.4. Energiestoffwechsel bei Leberzirrhose	45
4.5. Zusammenfassung und Ausblick	48
<b>5. Literatur</b>	50-57

## **Abkürzungsverzeichnis**

## **Danksagung**

## **Lebenslauf**

## 1. Einleitung

### 1.1. Leberzirrhose

Mit 1,5 kg Gewicht stellt die Leber das größte Organ des menschlichen Organismus dar. Obwohl die Leber nur insgesamt 2-3% der Körpermasse ausmacht, ist sie mit bis zu 30% am Sauerstoffverbrauch beteiligt. Sie erfüllt wichtige Aufgaben, ohne die menschliches Leben nicht denkbar wäre, wie die Aufnahme von Nahrungsbestandteilen, die Entgiftung von toxischen Stoffen, die Versorgung des Organismus mit Metaboliten, sowie die Exkretion von Stoffen mit der Galle. Durch die veränderten Lebensgewohnheiten des „modernen“ Menschen, wie übermäßiger Alkoholkonsum, Drogenmissbrauch, ungesunde Ernährungsgewohnheiten und nicht zuletzt auch durch die Medizin selbst (Medikamente, Transfusionszwischenfälle, u.s.w.), gerät das Gleichgewicht zwischen diesem lebenswichtigen Organ und dem Organismus immer häufiger ins Wanken.

Dies sind Gründe dafür, dass diffuse Lebererkrankungen, wie die Leberzirrhose, eine immer wichtigere Rolle spielen. Demgegenüber sind gegenwärtige diagnostische Methoden dadurch limitiert, dass erst späte Stadien der Erkrankung erfasst werden und oft nur indirekte und unspezifische Aussagen über den Leberstoffwechsel möglich sind.

Eine neue Perspektive eröffnet hier das Verfahren der <sup>31</sup>P-Magnet-Resonanz-Spektroskopie. Mit Hilfe dieses Verfahrens ist es möglich, energiereiche Phosphate der Leber zu erfassen und so Aussagen zum Energiehaushalt der Leber zu treffen. Letzterer spielt eine zentrale Rolle bei der Pathogenese unterschiedlicher Lebererkrankungen.

Ziel dieser Arbeit war es daher, den Einfluss der Ernährung auf den Energiehaushalt der Leber und zusätzlich Veränderungen bei alkoholtoxischer Leberzirrhose zu erfassen. Des Weiteren wurden die Vor- und Nachteile zweier zur Verfügung stehender Auswerteprogramme (AMARES, SLOOP) näher untersucht.

### 1.1.1. Anatomie und Physiologie der Leber

Im rechten Oberbauch gelegen, lassen sich ein rechter und ein linker Leberlappen unterscheiden. Zur genaueren Einteilung ist eine Unterteilung in die Segmente I-VIII im klinischen Alltag gebräuchlich.

Die Leber übernimmt eine Vielzahl von Stoffwechselfunktionen. Im Kohlehydratstoffwechsel ist sie für die Umwandlung von Glukose in Glykogen (zur Speicherung), die Glukoneogenese (die Synthese von Glukose aus Nichtzuckern, wie Milchsäure, Aminosäuren und Glycerin) und die Glykogenolyse (der Abbau von Glykogen zu Glukose) zuständig.

Durch Bildung von Albuminen und den Gerinnungsfaktoren Prothrombin und Fibrinogen ist sie am Eiweißstoffwechsel beteiligt. Auch der Fettstoffwechsel wäre ohne die in der Leber stattfindende Lipogenese (Aufbau körpereigener Fette aus Fettsäuren und Glukose) und Lipolyse (Freisetzung von freien Fettsäuren aus den Fettzellen) nicht möglich.

Eine weitere wichtige Aufgabe der Leber ist die Entgiftung. Verschiedene endogen entstandene und exogen zugeführte Giftstoffe werden metabolisiert, dadurch unschädlich gemacht, um dann ausgeschieden werden zu können – darunter natürlich auch der Alkohol.

Ethanol wird durch die Alkohol-Dehydrogenase zu Ethanal (Acetaldehyd) dehydriert und weiter durch die Aldehyd-Dehydrogenase zu Acetat. Dieses wird mit Hilfe der Acetat-CoA-Ligase (Thiokinase) unter ATP-Verbrauch in Acetyl-CoA überführt, wodurch der Anschluss an den Intermediärstoffwechsel vollzogen ist. Neben der cytoplasmatischen Alkohol-Dehydrogenase tragen auch die Katalase und eine induzierbare, mikrosomale Alkohol-Oxidase zum Ethanolabbau bei.

Außerdem ist die Leber Bildungsort der Hormone Angiotensinogen und Erythropoetin und Abbauort für Östrogen und Erythrozyten. Sie ist am Bilirubinkreislauf beteiligt und bildet täglich 600-800 ml Galle, welche vor allem für die Verdauung von Fetten benötigt wird.

### 1.1.2. Definition der Leberzirrhose

Als Leberzirrhose bezeichnet man einen chronischen bindegewebig-narbigen Umbau der Leber, der mit einer Zerstörung der Läppchenstruktur (mit meist knotigen Regenerationsprozessen) und mit einer Störung der intrahepatischen Zirkulation einhergeht. Die Zerstörung der Läppchenstruktur muss nicht die gesamte Leber umfassen, sollte aber prinzipiell gegeben sein, um der Definition 'Leberzirrhose' gerecht zu werden.

### 1.1.3. Ätiologie der Leberzirrhose

Mit 60% der Fälle ist die häufigste Ursache der Leberzirrhose in Europa der Alkoholabusus, gefolgt von der chronischen Virushepatitis mit 30%. Weitere Ursachen sind: Autoimmunhepatitis, primäre biliäre Zirrhose, primär sklerosierende Cholangitis, medikamenteninduzierte Leberschäden, Chemikalienschäden, kardiale Zirrhose, Stoffwechselkrankheiten, Budd-Chiari-Syndrom und Tropenerkrankungen.

### 1.1.4. Pathogenese der alkoholtoxischen Leberzirrhose

Neben der Fettleberhepatitis ist die alkoholtoxische Leberzirrhose eine der häufigsten Folgen chronischen Alkoholabusus. Sie entwickelt sich jedoch erst nach langjährigem Missbrauch mit einer Latenz von 15-25 Jahren. Das Auftreten korreliert mit Ausmaß und Dauer der Alkoholaufnahme, wobei prädisponierende Faktoren noch weitgehend ungeklärt sind.

Die toxische Alkoholgrenze ist individuell verschieden und abhängig von Mangel- und Fehlernährungen, Vorerkrankungen und vom Geschlecht (die Kapazität der Alkoholdehydrogenase ist bei Frauen wesentlich kleiner als bei Männern). Die toxische Grenze liegt für Männer bei 40g Äthylalkohol täglich, für Frauen bei nur zirka 20g/d. Bei chronischen Alkoholkonsum über diesem Grenzwert entwickeln 30% der Betroffenen eine Fettleberhepatitis und das Risiko für Leberzirrhose ist 6-fach erhöht.

Durch erhöhten Alkoholkonsum über Jahre hinweg werden in der Leber durch die Ethanolbedingten hohen Spiegel an NADH und Acetyl-CoA der Citrat-Cyclus und die Ketogenese verlangsamt und die Synthese von Neutralfetten und Cholesterol angeregt. Es kommt zur Induktion des Cytochrom-P<sub>450</sub>-abhängigen mikrosomalen ethanolydierenden Systems (MEOS). Der Alkoholabbau erfolgt dadurch nicht nur über die Alkoholdehydrogenase, sondern zunehmend über MEOS. Der gesteigerte O<sub>2</sub>-Verbrauch durch MEOS führt zu läppchenzentraler Hypoxie. Der beim Alkoholabbau entstehende Azetaldehyd wirkt zudem direkt leberzelltoxisch. Eine erhöhte Speicherung der Lipide, infolge einer verminderten Oxidierung von Fettsäuren führt zur Fettleber, welche meist noch reversibel ist. Das Stadium der Leberzirrhose ist jedoch irreversibel. Hier kommt es zu Parenchymnekrosen, die wiederum zu einer Zerstörung der Läppchen und einer Fibrosierung des Lebergewebes führen. Daraus folgt die Bildung bindegewebiger Septen. Durch diese Septen wird bei der Leberregeneration die Wiederherstellung der ursprünglichen Läppchenstruktur verhindert und es bilden sich knotige Regenerate, sogenannte Pseudolobuli. Es entstehen Kurzschlussverbindungen zwischen den interlobulären Pfortaderästen und den Zentralvenen, die eine Verschlechterung der Läppchendurchblutung und somit eine erhöhte Vulnerabilität

der Zellen zu Folge haben. So führen schon leichte Stoffwechselbelastungen oder Durchblutungsstörungen, welche für die gesunde Leber keine Folgen haben, zum Untergang von Hepatozyten und erhalten so den zirrhotischen Prozess weiter aufrecht. Durch Kompression angrenzender Gefäße und die Aufhebung der Läppchenstruktur - das heißt die Zellen werden nur noch über die Arteria hepatica und nicht mehr über die Pfortader mit Blut versorgt - treten in den Hepatozyten der Regeneratknoten zusätzliche Durchblutungsstörungen auf, welche zur Aufrechterhaltung dieses Circulus vitiosus beitragen.

Infolge der fortschreitenden narbig-bindegewebigen Umwandlung der Leber kommt es zu einer zunehmenden Einengung der Pfortaderstrombahn und dadurch zur portalen Hypertension und Pfortaderstauung sowie zu Aszites durch Transsudation der Mesenterialvenen (bis zu 15 Liter/Tag und mehr). Zwischen Pfortader- und Vena-cava-System bilden sich Kollateralen und Anastomosen. Ösophagusvarizen entstehen über die Vena coronaria ventriculi, äußere Hämorrhoiden über den Plexus hämorrhoidalis und das Caput medusae über longitudinal verlaufende Kollateralen unter der Bauchhaut.

#### 1.1.5. Formen der Leberzirrhose nach der WHO-Systematik

Nach der WHO werden verschiedenen Formen der Leberzirrhose unterschieden:

- Mikronoduläre Leberzirrhose  
Die Regeneratknoten haben einen Durchmesser bis zu 3 mm und sind Ausdruck einer über lange Zeit konstanten Leberschädigung mit Drosselung der Regeneration und gleichmässiger Bindegewebswucherung. Diese Zirrhoseform findet man vorwiegend beim chronischen Alkoholabusus.
- Makronoduläre Leberzirrhose  
Der Durchmesser der Regeneratknoten variiert zwischen 3 mm und 3 cm. Diese Form entsteht immer dann, wenn die Schädigung der Leber schubweise erfolgt und immer wieder von Ruhephasen unterbrochen wird, in denen eine Parenchymregeneration erfolgen kann. Man findet sie am häufigsten bei der rezidivierend verlaufenden chronischen Hepatitis.
- Gemischtknotige Leberzirrhose  
Es kommen unter und über 3mm große Regeneratknoten vor, unter der Voraussetzung kontinuierlicher und phasenhafter Leberläsionen. Eine Aussage zur Ätiologie ist somit nicht mehr möglich.



#### 1.1.6. Symptome der Leberzirrhose

Die alkoholtoxisch bedingte Leberzirrhose kann lange Zeit klinisch stumm bleiben. Tatsächlich werden 10% der Fälle nur zufällig bei Laparatomien oder Autopsien entdeckt [72]. Meistens treten Symptome schleichend über Wochen und Monate auf. Anfangs stehen subjektive Symptome, wie Müdigkeit, Übelkeit, Obstipation, Flatulenz, Fettintoleranz und Druck unter dem rechten Rippenbogen im Vordergrund. Mit zunehmendem Zirrhosegrad kommt es zur Ausbildung sogenannter Leberhautzeichen: Spider naevi, Palmar- und Plantarerythem, Weissnägel, Juckreiz, Lackzunge, Dupuytren´Kontraktur, Hautatrophie ("Geldscheinhaut") mit Teleangiektasien. Leber und Milz können palpatorisch vergrößert und verhärtet sein. Des weiteren können hormonelle Störungen auftreten, welche beim Mann zum Verlust der männlichen Sekundärbehaarung, Potenzstörungen, Hodenatrophie und Gynäkomastie führen, bei der Frau zu Menstruationsstörungen und eventuell sekundärer Amenorrhoe.

#### 1.1.7. Folgen und Komplikationen

Folgen der Leberzirrhose sind die hepatozelluläre Stoffwechselstörung und die portale Hypertension mit Aszites, Ösophagusvarizen, Ödemen und Hypersplenismus.

Mögliche Komplikationen sind Varizenblutungen, Ikterus, Malnutrition und Kachexie, hämorrhagische Diathese, hepatische Enzephalopathie und Leberausfallkoma und als Spätfolge das primäre Leberzellkarzinom.

### 1.1.8. Bisherige diagnostische Möglichkeiten

Da die Leber über hohe Funktionsreserven verfügt, wird die Leberzirrhose oft erst spät durch Dekompensation klinisch manifest. Zur Diagnostik stehen heute verschiedene Möglichkeiten zu Verfügung:

Nicht – invasiv:

- Anamnese, klinisches Bild
- Laborparameter
  - Indikatoren einer verminderten Syntheseleistung:
    - Cholinesterase ↓
    - Vitamin K-abhängige Gerinnungsfaktoren ↓ ⇒ Quickwert ↓
    - Antithrombin III ↓
    - Albumin i.S. ↓
  - Hypergammaglobulinämie
  - Thrombozytopenie bei Hypersplenismus
  - bei hepatischer Enzephalopathie: Ammoniak ↑
  - Anstieg von Leberenzymen infolge Parenchymuntergang:
    - Transaminasen (GPT, GOT) ↑
    - GLDH,  $\gamma$ -GT ↑
  - Anstieg der cholestaseanzeigenden Enzyme:
    - Alkalische Phosphatase (AP) ↑
    - Leuzin-Aminopeptidase (LAP) ↑
    - $\gamma$ -GT ↑
    - eventuell Bilirubin ↑
  - bei virusbedingter Leberzirrhose:
    - Hepatitisserologie
- Bildgebende Verfahren:
  - Sonographie
  - Computertomographie
  - Magnetresonanztomographie (Darstellung des Leberparenchyms, MRCP, Angiographie)

invasiv:

- Biopsie

Die genannten Laborparameter sind unspezifisch und einzeln betrachtet nur wenig aussagekräftig. Daher ist man im klinischen Alltag dazu übergegangen den Schweregrad einer Zirrhose mittels der Child-Pugh-Kriterien zu ermitteln.

	<b>1 Punkt</b>	<b>2 Punkte</b>	<b>3 Punkte</b>
Albumin i. S. (g/dl)	> 3,5	2,8 – 3,5	<2,8
Bilirubin i. S. (mg/dl)	< 2,0	2,0 – 3,0	> 3,0
Quick (%)	> 70	40 – 70	< 40
Aszites (Sono)	kein	leicht	mittelgradig
Enzephalopathie	keine	I - II	III - IV

Tab. 1: Child-Pugh-Klassifikation

Addition der Punkte: Child A = 5 – 6  
 Child B = 7 – 9  
 Child C = 10 – 15

Die nicht-invasiven Methoden, greifen meist zu spät, sind unspezifisch und erfassen meist nur die sekundären Auswirkungen.

Bislang bietet nur die Biopsie als invasive Methode eine zuverlässige diagnostische Möglichkeit, ist aber aufgrund des Komplikationsrisikos nicht als Screening- oder Routinemethode nutzbar.

## 1.2. Neue Möglichkeit: 31P-Magnetresonanzspektroskopie

Eine neue Möglichkeit zur Diagnostik globaler Lebererkrankungen ergibt sich durch die Anwendung der <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopie, welche nicht-invasiv einen Einblick in den Leberstoffwechsel ermöglicht.

### 1.2.1. Geschichtliches

Rabi et al. beschrieben das magnetische Resonanzphänomen erstmals im Jahre 1939, als sie beobachtet hatten, dass sich ein Strahl von Wasserstoffmolekülen in einem Magnetfeld durch hochfrequente elektromagnetische Wechselfelder ablenken lässt [74].

Die entscheidende Leistung der Arbeitsgruppen um Felix Bloch [11] und Edward Purcell [73] bestand darin, dass ihnen unabhängig voneinander die ersten kernmagnetischen Resonanzexperimente an kondensierter Materie – nämlich Paraffin und Wasser- gelangen und sie somit die zugrundeliegenden Zusammenhänge des Kernspins und der Larmorfrequenz entdeckten. 1952 wurden beide für ihre Arbeiten mit dem Nobelpreis ausgezeichnet.

Während diese Erkenntnisse in der Folgezeit in der Chemie und der Physik für experimentelle Studien herangezogen und vor allem durch die Technik der Magnetresonanzspektroskopie zu

einem unerlässlichen Werkzeug wurden, ermöglichte in der Medizin Lauterbur [49] die Verwendung der Magnetresonanz als bildgebendes Verfahren, indem er das Problem der Ortskodierung löste.

Leistungsfähigere MR-Systeme und verbesserte Nachbearbeitungsmöglichkeiten führten dazu, dass die Magnetresonanztomographie (MRT), durch Bildgebung (MRI - Magnetresonanz Imaging) und Spektroskopie (MRS – Magnetresonanz Spektroskopie) zu einem der wichtigsten diagnostischen Verfahren in der Medizin geworden ist.

### 1.2.2. Physikalische Grundlagen

Wenn Elementarteilchen wie Protonen und Neutronen in ungerader Zahl vorkommen, besitzen sie Grundeigenschaften, zu denen der Eigendrehimpuls (=Spin) und das magnetische Moment gehören. Hat ein Kern eine ungerade Nukleonenzahl, so besitzt er einen resultierenden Kernspin und damit ein magnetisches Moment [1].

Atomkerne, die neben Ladung und Masse durch solch einen Kern(netto)spin gekennzeichnet sind, stellen deshalb Elementarmagnete dar. Fast alle Elemente des Periodensystems haben Isotope, die einen solchen Kernspin aufweisen. Allerdings ist die natürliche Häufigkeit einiger dieser Isotope im Körper so gering, dass sie für biologische oder medizinische Fragestellungen nicht nutzbar sind. In der MR-Bildgebung werden wegen ihrer Häufigkeit und ihrer günstigen physikalischen Eigenschaften die Protonen im Gewebwasser und -fett verwendet. In der MR-Spektroskopie interessiert man sich auch für andere Kerne in biochemisch wichtigen, aber in der Regel niedriger konzentrierten Verbindungen.

Element	Gehalt im menschlichen Körper (%)	MRS-sensitives Isotop	Natürliche Häufigkeit (%)	MRS-(Lamor-) Frequenz im Feld von 1,5T (MHz)
Wasserstoff	63	<sup>1</sup> H	99,98	63,86
Stickstoff	3,4	<sup>15</sup> N	0,36	4,61
Phosphor	1,2	<sup>31</sup> P	100	25,85
Kalium	0,27	<sup>39</sup> K	93,08	2,98

Tab.2: wichtige Elemente und ihre MR relevanten Parameter [38]

Unter Einfluss eines äußeren, starken statischen Magnetfeldes  $B_0$  kommt es zu einer Orientierung der Kernspins. Idealerweise sollte die Ausrichtung parallel oder antiparallel erfolgen, in realiter kommt es zu einer Präzessionsbewegung um die Richtung des äußeren Magnetfeldes, ähnlich einem Kreisel.

Die Frequenz, mit der ein Kern um die Feldlinien rotiert, wird als Präzessions- bzw. Lamor-Frequenz bezeichnet. Sie ist direkt proportional zur Stärke des äußeren Magnetfeldes.

Durch ein kurzzeitig wirkendes, intensives hochfrequentes Magnetfeld (einem sogenannten Anregungspuls), dessen Frequenz der Resonanzfrequenz der magnetischen Momente der untersuchten Kerne in dem statischen äußeren Feld entspricht, werden die Präzessionsbewegungen dieser Kernmomente so beeinflusst, dass eine Magnetisierung in der Ebene der Empfängerspule entsteht. Dieses Phänomen der Anregung eines Spins durch einen Anregungspuls wird als magnetische Resonanz bezeichnet. Nach Abschalten des Hochfrequenzfeldes induzieren die präzedierenden transversalen Komponenten der Magnetisierung (d.h. die Komponenten in der Spulenebene) in der Empfängerspule eine mit der Zeit abklingende Spannung, welche als abfallende Sinusschwingung mit der Larmorfrequenz gesehen werden kann, der sogenannte freie induzierte Zerfall ( FID, free induction decay). Das Kernresonanzspektrum lässt sich in diesem Fall berechnen durch die Zerlegung des zeitabhängigen Spannungssignals (=FID bzw. Zeitdomäne) in seine einzelnen Frequenzanteile (=Resonanzfrequenzspektrum – RFS). Die Bestimmung der Frequenzanteile erfolgt im allgemeinen durch die sogenannte Fourier-Transformation (FT). Das Flächenintegral unter den einzelnen Peaks des RFS ist proportional zu der Anzahl der angeregten Kerne dieser speziellen Larmorfrequenz.

### 1.2.3. <sup>31</sup>P Magnetresonanzspektroskopie

Im Vergleich zu Wasserstoff (<sup>1</sup>H), welche die am häufigsten vorkommende MR empfindliche Kernsorte in vivo darstellt und somit die relative Empfindlichkeit 1 erhält, besitzt <sup>31</sup>P eine Empfindlichkeit von 0,06.

#### 1.2.3.1. Chemische Verschiebung am Beispiel des Phosphorspektrums der menschlichen Leber

Gleiche Kerne weisen in unterschiedlichen Molekülen gering von einander abweichende Larmorfrequenzen auf, da es, je nach Molekülstruktur, zu einer Änderung des am Ort des Kern wirkenden Magnetfeldes kommt. Diese Resonanzfrequenzunterschiede entsprechen der sogenannten chemischen Verschiebung und werden in dem, durch Fourier-Transformation ermittelten Resonanzspektrum in ppm (parts per million bzw. Vielfaches von 10<sup>-6</sup>) und somit relativ gegenüber einer externen oder internen Referenz, angegeben. In der in vivo <sup>31</sup>P-Spektroskopie dient zumeist Phosphokreatin (PCr) als Referenzsubstanz.

Der Vorteil einer solchen frequenzunabhängigen Skala gegenüber einer Skala, welche den Frequenzunterschied in Hz angibt, liegt darin, dass auch bei verschiedenen Feldstärken aufgenommene Spektren die gleiche chemische Verschiebung aufweisen. Dadurch wird es

möglich, unterschiedliche Molekülstrukturen zu identifizieren. In einem mittels MRS akquiriertem Phosphorspektrum der gesunden menschlichen Leber, erhält man auf diesem Wege 10 voneinander unterscheidbare Resonanzlinien (Peaks), welche von links nach rechts gelesen werden (Abb. 1.1).

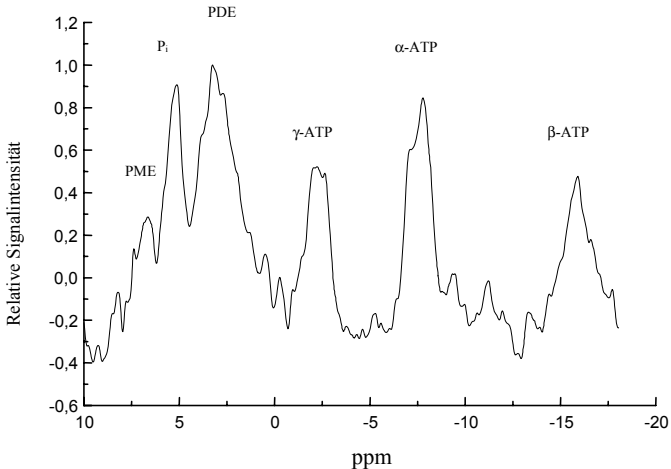


Abb.1.1 Phosphorspektrum der menschlichen Leber

- Phosphomonoester (PME)

Phosphomonoester sind Metabolite, in denen das Phosphat mittels einer Esterbindung an einen Molekülrest gebunden ist. Die *in vivo* gemessene Resonanz liegt bei 6,1 – 7,5 ppm. Beim Gesunden entspricht die PME-Resonanz vor allem Phosphoethanolamin (PEA) und Phosphocholin (PCH) – Ausgangsprodukten der Zellmembransynthese.

- Anorganisches Phosphat ( $P_i$ )

Im physiologischen pH-Bereich (7,5 – 6,8) hängt die chemische Verschiebung des anorganischen Phosphats annähernd linear vom pH-Wert ab und lässt somit Rückschlüsse auf den pH-Wert zu [34; 60]. Da chemische Bestimmungen wesentlich höhere intrazelluläre  $P_i$ -Konzentrationen ergaben als Konzentrationsmessungen durch  $^{31}P$ -Spektroskopie, ist davon auszugehen, dass gebundenes  $P_i$  im Spektrum unsichtbar bleibt und somit bei in vivo Untersuchungen vor allem das im Zytosol gelöste anorganische Phosphat zum Signal beiträgt [41]. Die in vivo gemessene Resonanz liegt bei 4,5 – 5,3 ppm.

- Phosphodiester (PDE) und Membranlipide

Metabolite, bei denen das Phosphat über zwei Esterbindungen an Molekülreste gebunden ist, nennt man Phosphodiester. Sie kommen in der Zelle typischerweise als Membranlipide und Membranabbauprodukte vor. Die in vivo beobachteten Signale liegen zwischen 3,9 und 2,1 ppm. An Leberbiopsiematerial wurden, mit Hilfe der Hochauflösungsspektroskopie, vier verschiedene Resonanzen beobachtet, von denen drei als Glycerophosphocholin, Glycerophosphoethanolamin und Phosphoenolpyruvat identifiziert werden konnten [10;23].

- Anhydrid-Phosphatgruppen ( $\gamma$ -ATP)

Die  $\gamma$ -Phosphatgruppe besitzt eine Anhydridbindung über die zwei Phosphatgruppen miteinander gekoppelt sind. Bei ausreichender Auflösung ist in vivo ein Duplettsignal bei –2 bis –4 ppm zu beobachten. Die Aufspaltung in zwei Resonanzlinien ist durch Spin-Spin-Kopplung mit der benachbarten  $\beta$ -Phosphatgruppe verursacht. Unter Spin-Spin-Kopplung versteht man die Aufspaltung des Resonanzsignals durch die Wechselwirkung benachbarter Atomkerne.

- Ester-Anhydrid-Phosphatgruppen ( $\alpha$ -ATP)

Die  $\alpha$ -Phosphatgruppe besitzt zum einen eine Säureanhydridbindung an der eine weitere Phosphatgruppe gebunden ist, zum anderen eine Esterbindung zu einem organischen Molekül. Die chemische Verschiebung liegt zwischen  $-7,5$  und  $-8,3$  ppm. Zur Resonanzlinie tragen in vivo nicht nur die  $\alpha$ -Phosphatgruppen der Nucleosiddi- und Nucleosidtriphosphate bei, sondern auch Dinucleotidderivate ( $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADH}$ ), so dass bei der Quantifizierung Korrekturen notwendig werden [18].

- Di-Anhydrid-Phosphatgruppen ( $\beta$ -ATP)

Phosphate, welche mit zwei Anhydridgruppen an weitere Phosphate gebunden sind, werden als Di-Anhydrid-Phosphatgruppen bezeichnet. Die chemische Verschiebung liegt typischerweise bei  $-16$  ppm. Durch die benachbarten  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Phosphatgruppen kommt es zu einer Aufspaltung in drei Peaks, welche im Verhältnis 1:2:1 zueinander stehen.

#### 1.2.3.2. Lokalisierte Magnetresonanztomographie

Gradientenspulen erlauben es ortsabhängig das einwirkende Magnetfeld zu verändern. Hierdurch wird dem gemessenen Signal eine Ortsinformation hinzugefügt, welche die Grundlage der Ortskodierung ist und somit eine lokalisierte Magnetresonanztomographie erst möglich macht. Unabhängig von der Lokalisierungstechnik gibt es zwei Faktoren, welche die räumliche Information des erhaltenen Frequenzspektrums verfälschen können. Zum einen kann das untersuchte Volumen (Voxel) auch Anteile von anderen anatomischen Strukturen enthalten (sogenannter Partialvolumeneffekt), zum anderen ist eine Kontamination des Zielvoxelsignals mit Signalanteilen aus anderen Voxeln möglich ("voxel-bleeding").

Um diese Probleme weitestgehend zu vermeiden, wurden verschiedene Lokalisierungstechniken entwickelt, welche sich in Einzelvolumen und Mehrvolumentechniken unterteilen lassen.

Da Einzelvolumentechniken darauf beruhen, nur aus einem bestimmten Zielvolumen Signal zu erhalten und somit das akquirierte Volumen dem später ausgewerteten Volumen entspricht, ohne die Möglichkeit der räumlichen Nachbearbeitung, soll hier nur kurz auf die wichtigsten Messtechniken eingegangen werden:



- Depth Resolved Surface coil Spectroscopy (DRESS)  
(Kimmich 1987)

Durch die Kombination von HF-Pulsen mit  $B_0$ -Gradienten soll die Kontamination des Spektrums durch Signale von Oberflächenstrukturen vermindert werden. Dazu verwendet DRESS den  $B_0$ -Gradienten zur schichtselektiven Anregung des Zielvolumens [45].

Da bei diesem Verfahren der HF-Puls durch die Spuleneigenschaft festgelegt ist, hängt die Volumenselektion in kritischer Weise von der Positionierung der Spule ab.

- Stimulated Echo Acquisition Mode (STEAM)  
(Frahm 1985)
- Volume selective multipulse spin-echo Spectroscopy (VOSY)  
(Kimmich 1987)
- Point Resolved Spectroscopy (PRESS)  
(Gordon 1984)

Bei allen drei oben aufgeführten Techniken, beruht die Ortselektion auf einer Schichtselektion über drei  $B_0$ -Feld Gradienten. Das Signal kommt somit aus dem Schnittvolumen der drei angeregten Schichten und ist somit stark von der Lagerung des Patienten abhängig.

Während bei STEAM und VOSY stimulierte Echos ausgelesen werden [33; 46], werden bei PRESS Spin-Echos ausgelesen, woraus längere Echo-Zeiten, aber auch eine um 50% gesteigerte Sensitivität resultieren [36].

- Image Selected In-Vivo Spectroscopy (ISIS)  
(Ordridge 1986)

Das ISIS-Verfahren stellt ein sogenanntes Kompensationsverfahren dar. In einem ersten Teilschritt wird die interessierende Schicht mit Hilfe eines Feldgradienten selektiert und invertiert, und dann das MR-Signal aus dem gesamten Bereich gemessen. In dem darauf folgenden Telexperiment erfolgt die Messung des gesamten Bereiches ohne Inversion. Durch Subtraktion der so erhaltenen Signale voneinander, reduzieren sich die Signale aus den nicht selektierten Volumen auf 0, während sich die Signale der selektierten Schicht addieren und somit lediglich das Signal aus dem interessierenden Volumen übrigbleibt [32; 70]. Die Nachteile von ISIS sind, dass nur große Messvolumina (>50 ml) akquiriert werden können und die hohe Anfälligkeit des Verfahrens für Patientenbewegungen.

Ein großer Vorteil, den Mehrvolumentechniken gegenüber den Einzelvolumentechniken bieten, besteht in der möglichen Nachbearbeitung der Voxelposition, d. h. eine präzise Definition des interessierenden Bereiches im Vorfeld verliert an Bedeutung.

Für die  $^{31}\text{P}$  Spektroskopie ist vor allem das Chemical Shift Imaging - Verfahren von Bedeutung:

- Chemical Shift Imaging (CSI)  
(Brown 1982)

CSI benutzt Phasenkodierungsgradienten in verschiedenen Raumrichtungen um dem Signal eine Ortsabhängigkeit aufzuprägen, das Signal wird anschließend über Fouriertransformation aufgelöst. Je nach Anzahl der Phasenkodierrichtungen (Dimensionen) unterscheidet man 1D, 2D und 3D-CSI. Da für jede Phasenkodierrichtung je eine Fouriertransformation durchgeführt werden muss und die Frequenzdomäne ebenfalls über FT aufgelöst werden muss, sind für ein CSI mit 3 Dimensionen der Phasenkodierung (3D-CSI) vier Fouriertransformationen nötig. Bei jeweils acht Phasenkodierschritten in jede Raumrichtung umfasst die Datenmatrix  $8 \times 8 \times 8 = 512$  Datenpunkte. Durch diese große Anzahl von notwendigen Anregungen erscheint dieses Verfahren vor allem für  $^{31}\text{P}$  sinnvoll, das aufgrund seiner geringen Empfindlichkeit sowieso mehrere Mittelungen benötigt um ein ausreichendes Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR = signal to noise) zu erhalten. Unter Inkaufnahme von Untersuchungszeiten zwischen 25 und 30 Minuten ist es mit 3D-CSI möglich Spektren in allen drei Raumrichtungen zu lokalisieren, wobei hier, im Vergleich zu Einzelvolumentechniken das  $B_0$  Feld über ein größeres Volumen optimiert werden muss.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Hardware

#### 2.1.1. Ganzkörpertomograph

Alle Untersuchungen wurden an einem 1,5 Tesla MR-System Magnetom VISION (Siemens Medizintechnik, Erlangen) durchgeführt. Das UNIX Computersystem Sun Ultra-Sparc 20 (SUN Microsystems, Grasbrunn) stellte die Basis für Betriebssystem und Benutzersoftware dar.

Sende- und Empfangssystem waren für den breitbandigen Betrieb ausgelegt und somit sowohl für Protonen- als auch für Phosphoruntersuchungen geeignet [4; 43; 48; 52; 54].

#### 2.1.2. Spulensystem

Es wurde für sämtliche MRS-Messungen dieselbe, kommerziell erhältliche Oberflächenspule ( $^{31}\text{P}/^1\text{H}$  heart-liver Siemens, Medizintechnik, Erlangen) verwendet. Die doppeltresonante  $^{31}\text{P}/^1\text{H}$ -Spule bestand aus einer quadratischen Spule (Kantenlänge 28 cm) für die Anregung von  $^{31}\text{P}$  und  $^1\text{H}$ , wie auch zum Empfang des  $^1\text{H}$ -Signals. Die Detektion des  $^{31}\text{P}$ -Signals erfolgte mittels einer Quadraturspule (Durchmesser 12 cm) [52; 54]. Durch die Erstellung einer  $B_1$ -Karte, welche die ortsabhängige Empfindlichkeit des Spulensystems angibt, war es möglich den Flipwinkel im gesamten Empfindlichkeitsbereich der Spule zu bestimmen [52]. Um den Abstand zwischen Spulensystem und Probanden-/Patientenleber bestimmen zu können, wurde in das Spulengehäuse ein 2mm dickes Lokalisationsgitter aus Silikon-gefüllten Kunststoffschläuchen eingebracht. Als externe Referenz diente ein Röhrchen, gefüllt mit 3,4M Phenylphosphorsäure [PPA], welche keine Interferenz mit den interessierenden Signalamplituden von PME,  $P_i$ , PDE und ATP aufwies [52].

### 2.2. Vorbereitung der Messung

Die verwendete Oberflächenspule wurde nach rechts aus der Mittellinie verschoben auf dem Untersuchungstisch positioniert, um der Leberposition des Probanden/Patienten besser zu entsprechen. Um atembedingte Thoraxbewegungen zu minimieren, wurde die Untersuchungsperson in standardisierter Bauchlage positioniert.

### 2.3. Verwendete Sequenzen und Aufnahmetechniken

Die anatomischen Aufnahmen ( $^1\text{H}$ -Bilder) wurden mittels 2D Gradienten-Echo-Sequenzen (128x256 Matrix,  $T_E = 2,3$  msec,  $T_R = 670$  msec, Bildfeld 400x400 mm, dark blood preparation, 4 Mittelungen) akquiriert. Über Übersichtsbilder (Scout) wurde die Position des Probanden/Patienten zur Spule überprüft und optimiert. Es folgten Aufnahmen in allen drei Raumrichtungen (sagittal, horizontal, transversal), wobei durchschnittlich 24 Bilder pro Raumrichtung ausreichend waren. Die Homogenisierung des  $B_0$ -Feldes wurde mit dem eingebauten phasensensitiven map-shim Programm erreicht, wobei auf manuelle Korrektur verzichtet wurde, um lokales Shimming auf spulennahe Regionen zu vermeiden. Der im Referenzröhrchen bestimmte Flipwinkel (onresonante, unlokalisierete  $^{31}\text{P}$  FID Sequenz mit der Frequenz von PPA und 10 HF-Pulsamplituden), ermöglichte in der Nachbearbeitung die Flipwinkelbestimmung an jedem beliebigen Punkt im Empfindlichkeitsbereich der Spule über die  $B_1$ -Karte. Im Anschluss wurde ein 3D-CSI Datensatz (Field of View [FOV] = 200x200x320, Phasenkodierschritte = 8x8x8,  $T_R = 1500$  msec) aufgenommen. Abschließend wurde eine zweite Flipwinkelbestimmung durchgeführt [43; 48; 52; 54].

### 2.4. Software

Die Auswertung der Daten erfolgte direkt am MR-Tomographen oder auf der externen Sun Sparc Station 20. Für sämtliche Patienten- und Probandengruppen standen sowohl ein konventionelles Auswerteverfahren (AMARES), mit dem Metabolitenverhältnissen bestimmt wurden, als auch ein Verfahren zur absoluten Quantifizierung der Metabolitenkonzentrationen (SLOOP) zur Verfügung [7].

#### 2.4.1. Konventionelle Auswerteverfahren: AMARES

Bei dem hier verwendeten konventionellen Auswerteverfahren handelte es sich um das halbautomatische Fitprogramm "AMARES" [83], welches - wie alle anderen Verfahren zur relativen Quantifizierung - die n-dimensionale Phasenkodierung über n-fache Fouriertransformation (FT) auflöste. Das lokalisierte FID des 3D-CSI besaß eine 4-dimensionale Kodierung, d.h. es waren 4 FT notwendig, um das FID über die Zeitdomäne in die Frequenzdomäne zu überführen und somit das Resonanzfrequenzspektrum zur Darstellung zu bringen. "AMARES" basiert auf einer Auswertung in der Zeitdomäne. Dies ermöglicht eine Anpassung von frequenzkodierten Resonanzlinien an das FID (FID-Fit) [4; 5; 48]. Zunächst erfolgte die Selektion eines Volumens (Voxel), dessen Position mittels eines dreidimensionalen Gitters im vorderen Drittel des rechten Leberlappens festgelegt wurde.



Abb.2.1. Voxelposition bei Amares

Vor Beginn der Auswertung wurde dem Programm eine standartisierte Vorwisseninformation (prior knowledge information) hinzugefügt, welche Angaben über Multiplettaufspaltungen und die Position der zu erwartenden Peaks enthielt.

Es wurden manuell Startwerte für Amplitude und Halbwertsbreite der Peaks festgelegt (Frequenzdomäne) um dann die Fitalgorithmen in der Zeitdomäne durchzuführen.

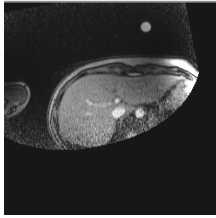
Auf eine Sättigungskorrektur konnte aufgrund der langen Repetitionszeit ( $T_R = 1500\text{ms}$ ) und der Verwendung kleiner Flipwinkel verzichtet werden.

#### 2.4.2. Absolute Quantifizierung: SLOOP

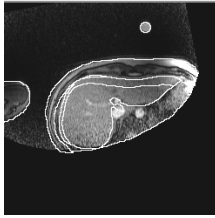
Das auf 3D-CSI Datensätzen beruhende Auswerteverfahren SLOOP ( **S**patial **L**ocalization with **O**ptimal **P**ointsread Funktion) [44] machte es möglich absolute Metabolitenkonzentration zu bestimmen [44; 48; 54].

Manuell wurden, auf der Basis der zuvor akquirierten Kurzachsenbilder, mehrere Kompartimente segmentiert. Es reichten durchschnittlich 6 Kompartimente aus, um die anatomischen Strukturen weitgehend festzulegen.

Abb. 2.2. Segmentation mittels SLOOP



1H Bild der Leber



in Kompartimente segmentiertes Bild



räumliche Information für "SLOOP"

Es waren dies: Leber, Bauchwand, Bauchorgane, Arm, Referenz und ein Streifen zwischen Leber und Bauchwand um mit noch größerer Sicherheit kontaminationsfreie Spektren zu erhalten.

"SLOOP" nutzte die räumliche Information als Vorwissen (prior knowledge) für die Rekonstruktion der Spektren, wobei die Flipwinkel in den einzelnen Kompartimenten über die  $B_1$ -Karte und die Signale der Referenz berechnet wurden. Die Sättigungskorrektur war hier bereits in der Software integriert.

Durch inhärente Phasenauslöschung war das resultierende Integral aller nicht interessierenden Kompartimente gleich 0, während die lokale Antwortfunktion (spatial response function, SFR – bezeichnet für jedes Kompartiment, inwieweit jeder Punkt im Raum zum korrespondierenden Spektrum beiträgt [44]) im interessierenden Kompartiment, hier der Leber, hoch war. Durch die so gelungene Anpassung der Voxelposition an anatomische Strukturen wurde es möglich theoretisch kontaminationsfreie Spektren zu erhalten.

Die Auswertung des somit lokalisiert aus der Leber stammenden FID erfolgte jeweils für die einzelnen Phosphormetaboliten (PME,  $P_i$ , PDE,  $\gamma$ -ATP,  $\alpha$ -ATP,  $\beta$ -ATP) mittels "AMARES" (Zeitdomäne). Unter Nutzung des Wissens über den Zusammenhang zwischen Signalintensität und Konzentration, konnten mit Hilfe des unlokalisierten Signals der Referenzlösung die Absolutkonzentrationen der energiereichen Phosphate berechnet werden.

Die ATP-Konzentration ergab sich aus dem Mittelwert der einzelnen Komponenten ( $\gamma$ -ATP,  $\alpha$ -ATP,  $\beta$ -ATP).

## 2.5. Probanden und Patienten

Alle durchgeführten Untersuchungen waren von der Ethikkommission der Universität Würzburg genehmigt.

Die Probanden und Patienten wurden vor der Untersuchung über den Untersuchungsvorgang und dessen eventuelle Risiken aufgeklärt. Es wurde ihre schriftliche Zustimmung zur Untersuchung eingeholt. Unabhängig von der Art der Studie galten generelle Ausschlusskriterien:

- Ferromagnetische Materialien im und am Körper
- Implantierte elektronische Geräte
- Schwangerschaft
- Klinisch instabiler Zustand
- Platzangst

### 2.5.1. Probandenstudie

#### 2.5.1.1. Spezielle Einschluß-/ Ausschlußkriterien

Anamnestisch wurden Lebererkrankungen ausgeschlossen. Die Probanden waren 4 Stunden vor der Untersuchung nüchtern.

#### 2.5.1.2. Probandenkollektiv

Es wurden insgesamt 13 gesunde Probanden untersucht ( $26,9 \pm 2,1$  Jahre (Alter  $\pm$  SD)) (8x8x8er Datenmatrix, konventionelles/für "SLOOP" optimiertes 3D-CSI, 4 Mittelungen). Ziel der Untersuchung war die Bestimmung der Verhältnisse der einzelnen Phosphormetaboliten mittels "AMARES" und die Bestimmung der absoluten Phosphorkonzentrationen in mmol/kg Nassgewicht in der Leber mittels "SLOOP".

#### 2.5.1.3. Einfluss der Ernährungslage

Aus oben genannten Probandenkollektiv wurden 3 Probanden ( $25 \pm 1$  Jahre (Alter  $\pm$  SD)) nüchtern und direkt nach Nahrungsaufnahme untersucht und mit den beiden zu Verfügung stehenden Auswerteprogrammen ausgewertet.

#### 2.5.1.4. Inter-/Intraobservervariabilität für SLOOP

5 Probanden wurden mehrmals ausgewertet um die Inter- und Intraobservervariabilität von "SLOOP" zu bestimmen.

## 2.5.2. Patientenstudie

Die Patientenstudie umfasste 10 Patienten, die aus der gastroenterologischen Abteilung der internistischen Universitätsklinik Würzburg rekrutiert wurden.

### 2.5.2.1. Spezielle Ein-/Ausschlusskriterien

Bei allen untersuchten Patienten wurde eine alkoholtoxische Leberzirrhose diagnostiziert. Die Patienten waren 4 Stunden vor der Untersuchung nüchtern.

### 2.5.2.2. Patientenkollektiv

Es wurden insgesamt 10 Patienten untersucht ( $60,8 \pm 8,2$  Jahre (Alter  $\pm$  SD)) (8x8x8er Datenmatrix, 3D-CSI, 4 Mittelungen).

Neben der klinischen Anamnese wurde eine eingehende körperliche Untersuchung durchgeführt und für alle Patienten der Krankheitsgrad nach Child-Pugh bestimmt.

Geschlecht	Albumin i.S. (g/dl)	Bilirubin i.S. (mg/dl)	Quick (%)	Aszites	Enzephalo- pathie	Gesamt- punktzahl	Zirrhose- grad
<b>M</b>	3,3	2,7	72	0	0	7	B
<b>M</b>	3	2,9	49	0	0	8	B
<b>W</b>	3,5	0,9	91	mittelgradig	0	8	B
<b>M</b>	2,9	1,3	63	mittelgradig	0	9	B
<b>W</b>	3,3	2,1	91	mittelgradig	0	9	B
<b>M</b>	3	2,3	73	leicht	leicht- schwer	9	B
<b>M</b>	3,1	1,4	41	mittelgradig	0	9	B
<b>W</b>	3,2	4,6	53	leicht	0	10	C
<b>M</b>	2,6	2	53	mittelgradig	0	11	C
<b>M</b>	2,3	4,1	53	leicht	schwer	13	C

Tab 2.1. Klinische Parameter und Child-Pugh-Klassifikation des Patientenkollektivs

## 2.6. Statistische Auswertung

Alle gezeigten Daten wurden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Für die statistische Analyse wurde der Mann-Whitney-U-Test benutzt, um Unterschiede zwischen Probanden und Patienten zu identifizieren. Ein Wert von  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant angenommen.



### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Bestimmung des Einflusses der Ernährungslage

Um den Einfluss der Ernährungslage zu bestimmen, wurden 3 Probanden (2 Frauen, 1 Mann), mittleres Alter  $25 \pm 1$  Jahre (Lebensalter  $\pm$  SD), einmal in nüchternem Zustand und ein zweites Mal direkt nach Nahrungsaufnahme untersucht.

Die Abbildung 3.1 gibt die mittels AMARES ermittelten Werte wieder.

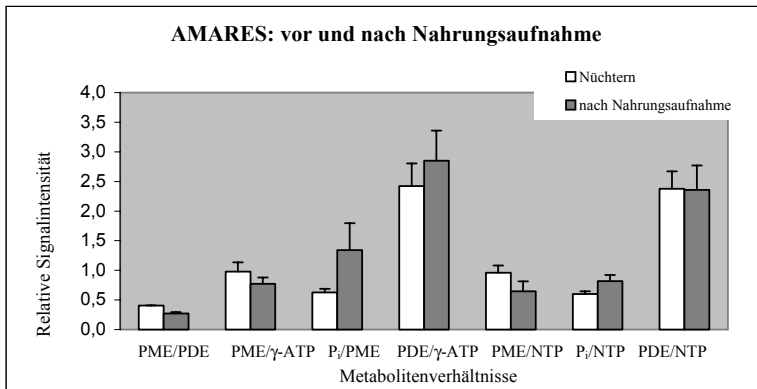


Abb. 3.1. AMARES: Mittelwerte der Metabolitenverhältnisse vor und nach Nahrungsaufnahme

Die größten Differenzen ergaben sich in den Verhältnissen PME/γ-ATP, P<sub>i</sub>/PME, PDE/γ-ATP, PME/NTP und P<sub>i</sub>/NTP. Da es mit dem konventionellen Auswerteprogramm nicht möglich war, absolute Konzentrationen zu bestimmen, wurde der Datensatz nochmals mit SLOOP ausgewertet (Tab. 3.1.).

	n = 3	PME	P <sub>i</sub>	PDE	γ-ATP	α-ATP	β-ATP
<b>Nüchtern</b>	Mittelwert	2,6	1,5	10,3	2,4	3,5	2,4
	SD	0,6	0,6	0,2	0,8	0,4	0,4
<b>Nach Nahrungsaufnahme</b>	Mittelwert	2,6	1,7	8,3	2,3	3,1	2,3
	SD	0,5	0,5	0,5	0,8	0,4	0,2
<b>prozentuale Abweichung</b>		<b>0</b>	<b>6,7</b>	<b>19,4</b>	<b>4,2</b>	<b>11,4</b>	<b>4,2</b>

Tab. 3.1. SLOOP: Metabolitenkonzentrationen vor und nach Nahrungsaufnahme (Absolutkonzentrationen in mmol/kg Nassgewicht)

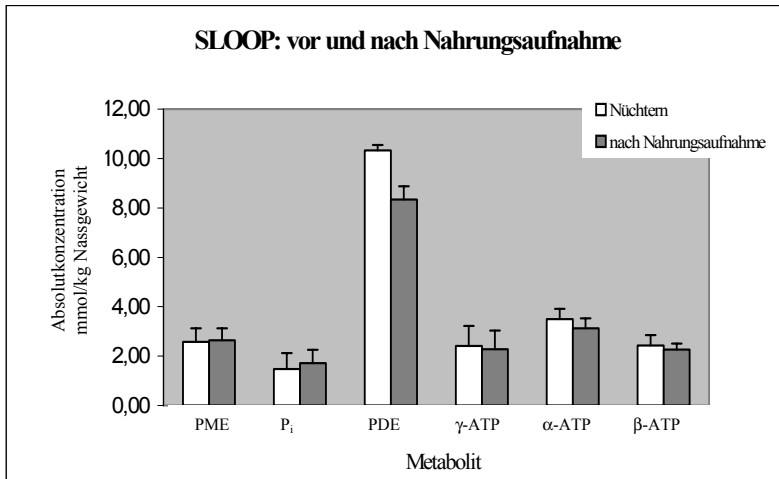


Abb. 3.2. Visualisierung von Tab. 3.1.

Anhand der ermittelten Absolutkonzentrationen der einzelnen Phosphometabolite ergaben sich Hinweise darauf, dass sich der Ernährungszustand am ehesten im Bereich der Phosphodiester niederschlägt. Jedoch war es aufgrund der geringen Probandenzahl ( $n = 3$ ) nicht möglich statistische Aussagen zu treffen.

Dennoch wurde diese mögliche Änderung im Untersuchungsprotokoll berücksichtigt und alle untersuchten Patienten und Probanden mindestens 4 Stunden vor der Messung nüchtern gelassen.

### 3.2. Bestimmung der Normalwerte

Es wurden 6 weibliche und 7 männliche gesunde Probanden ( $26,9 \pm 2,1$  Jahre (Alter  $\pm$  SD)) untersucht und die erhaltenen Spektren mit den zwei zur Verfügung stehenden Nachbearbeitungsverfahren, AMARES und SLOOP, ausgewertet.

#### 3.2.1. AMARES

Mit Hilfe des konventionellen Auswerteprogramms AMARES war es möglich relativ zu quantifizieren, d.h. die Ergebnisse wurden als Metabolitenverhältnisse angegeben und verwertet (Tab. 3.2.).

Geschlecht	PME/PDE	PME/ $\gamma$ -ATP	P <sub>i</sub> /PME	PDE/ $\gamma$ -ATP	PME/NTP	P <sub>i</sub> /NTP	PDE/NTP
w	0,3	0,7	1,0	2,8	0,6	0,6	2,4
w	0,4	0,9	0,7	2,2	0,9	0,6	2,2
m	0,4	0,6	1,1	1,4	0,6	0,7	1,4
m	0,2	0,6	0,9	2,5	0,6	0,5	2,6
m	0,4	0,9	0,6	2,2	0,9	0,5	2,2
w	0,4	1,2	0,6	2,9	1,1	0,6	2,7
m	0,3	0,7	1,0	2,2	0,7	0,7	2,2
w	0,3	0,4	1,6	1,3	0,3	0,5	1,2
m	0,3	0,9	1,1	2,8	0,7	0,8	2,1
m	0,3	1,0	0,7	3,0	0,8	0,6	2,4
w	0,3	0,5	1,0	2,0	0,5	0,5	2,1
w	0,3	0,5	1,6	1,5	0,5	0,8	1,5
m	0,3	0,8	0,9	2,5	0,6	0,6	1,9

Tab. 3.2. AMARES: Metabolitenverhältnisse (NTP = ( $\gamma$ -ATP +  $\alpha$ -ATP +  $\beta$ -ATP)/3)

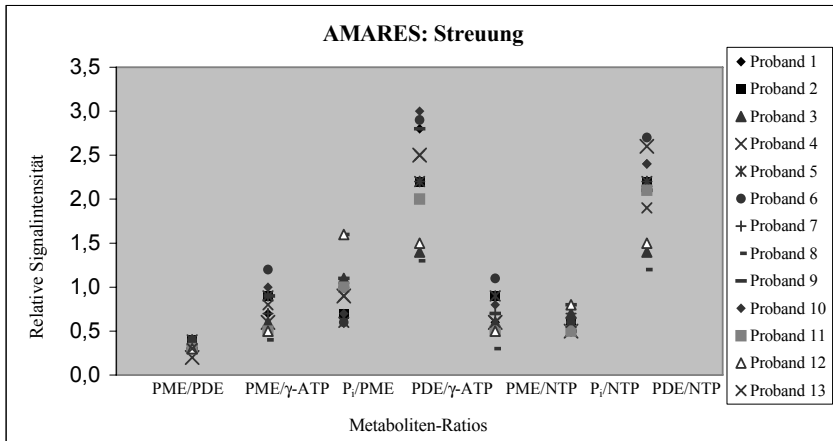


Abb. 3.3. Visualisierung von Tab. 3.2.

Bei der Betrachtung der Streuung der einzelnen Probandenwerte, zeigten die Verhältnisse PME/PDE sowie P<sub>i</sub>/NTP die geringste Streuung, wohingegen das Verhältnis PDE/ $\gamma$ -ATP eine sehr große individuelle Abhängigkeit aufwies (Abb. 3.3.).

Dasselbe spiegelte sich auch in den jeweiligen Standardabweichungen wieder, welche von 0,1 für PME/PDE bis zu 0,6 für PDE/ $\gamma$ -ATP reichten. Tab. 3.3. zeigt die Mittelwerte der Metabolitenverhältnisse, deren Standardabweichung und den prozentualen Fehler.

n = 13	<b>PME/PDE</b>	<b>PME/<math>\gamma</math>-ATP</b>	<b>P<sub>i</sub>/PME</b>	<b>PDE/<math>\gamma</math>-ATP</b>	<b>PME/NTP</b>	<b>P<sub>i</sub>/NTP</b>	<b>PDE/NTP</b>
<b>Mittelwert</b>	0,3	0,7	1,0	2,3	0,7	0,6	2,1
<b>SD</b>	0,1	0,2	0,3	0,6	0,2	0,1	0,5
<b>Fehler (%)</b>	33,3	28,6	30,0	26,1	28,6	16,7	23,8

Tab. 3.3. AMARES: Mittelwerte der Metabolitenverhältnisse, deren SD und deren prozentualer Fehler (= SDx100%/Mittelwert)

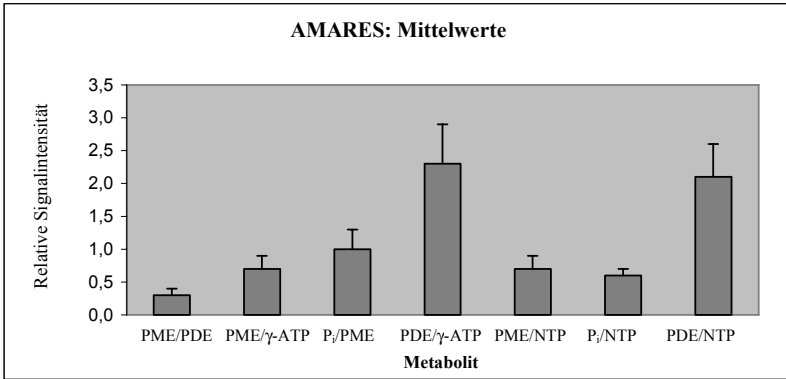


Abb. 3.4. Visualisierung von Tab. 3.3.

Anschließend wurden die Metabolitenverhältnisse dieser Studie mit bisherigen Publikationen verglichen (Tab. 3.4.).

	<b>PME/P<sub>i</sub></b>	<b>PME/NTP</b>	<b>P<sub>i</sub>/NTP</b>	<b>PDE/PME</b>	<b>PDE/NTP</b>	<b>PDE/P<sub>i</sub></b>	<b>PME/<math>\beta</math>-ATP</b>	<b>PDE/<math>\beta</math>-ATP</b>	<b>P<sub>i</sub>/<math>\beta</math>-ATP</b>	<b>PME/PDE</b>
<b>Diese Studie</b>	<b>1,1 ±0,4</b>	<b>0,7 ±0,2</b>	<b>0,6 ±0,1</b>	<b>3,1 ±0,6</b>	<b>2,1 ±0,5</b>	<b>3,4 ±0,9</b>	<b>0,8 ±0,3</b>	<b>2,6 ±0,7</b>	<b>0,8 ±0,1</b>	<b>0,3 ±0,1</b>
Angus et al 1990	0,5 ±0,1	0,3 ±0,1	0,6 ±0,1	4,5 ±1,5	1,4 ±0,3	2,3 ±0,7				
Dixon et al. 1991	0,6 ±0,1	0,4 ±0,1	0,6 ±0,2		1,4 ±0,3					
Cox et al. 1991							0,3 ±0,1	1,7 ±0,4	0,3 ±0,1	0,2 ±0,1
Brinkmann et al. 1992							0,5 ±0,2	1,2 ±0,2	0,8 ±0,2	0,4 ±0,1
Heindel et al. 1997							0,5 ±0,2	2,5 ±0,5	0,5 ±0,1	

Tab. 3.4. Vergleich der ermittelten Metabolitenverhältnisse mit anderen Publikationen

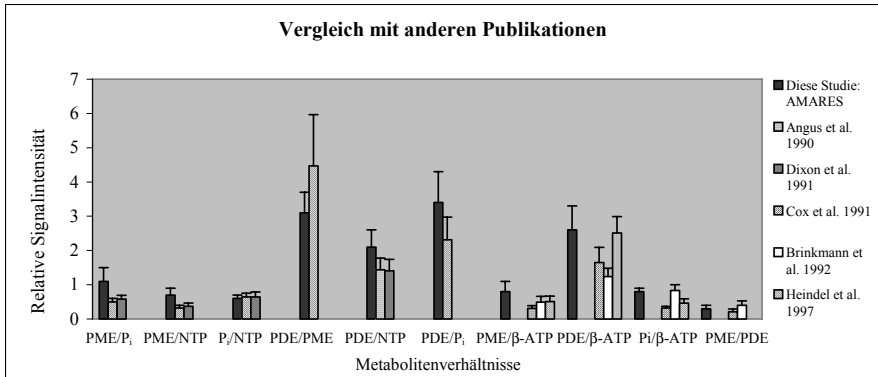


Abb. 3.5. Visualisierung von Tab. 3.4. (Angus [1], Dixon [30], Cox [27], Brinkmann [15], Heindel [39])

Es zeigten sich tendenzielle Unterschiede zwischen den einzelnen Publikationen, wobei sich die Ergebnisse dieser Studie, unter Berücksichtigung dieser Variationen, gut in die bisher veröffentlichten eingliedern ließen.

### 3.2.2. SLOOP

Mit dem Nachbearbeitungsverfahren SLOOP war es möglich die absoluten Konzentrationen der energiereichen Phosphate der Leber zu bestimmen. Hier zeigte sich, dass PME, P<sub>i</sub>, α-ATP und β-ATP in verschiedenen Individuen relativ stabil blieben, während insbesondere der PDE-Wert großen individuellen Schwankungen unterlag.

Geschlecht	PME	P <sub>i</sub>	PDE	γ-ATP	α-ATP	β-ATP
w	3,7	1,9	17,4	4,2	4,7	3,3
w	2,2	0,7	10,6	3,1	3,2	2,0
m	2,6	2,7	9,3	3,4	3,7	2,9
m	3,3	3,0	13,7	4,7	4,3	1,8
m	3,2	1,9	10,2	2,6	4,0	2,8
w	2,4	1,8	10,2	1,5	3,3	2,5
m	2,7	2,6	8,7	4,3	4,7	2,2
w	1,3	2,1	11,9	5,8	5,6	4,0
m	1,8	1,6	8,0	2,4	2,6	2,0
m	1,9	1,1	9,5	3,2	3,1	2,1
w	2,1	2,0	11,8	4,6	4,8	2,8
m	1,1	2,7	7,6	3,1	3,9	2,3
m	1,7	1,7	6,1	4,9	4,5	2,9

Tab. 3.5. SLOOP: Absolutkonzentrationen

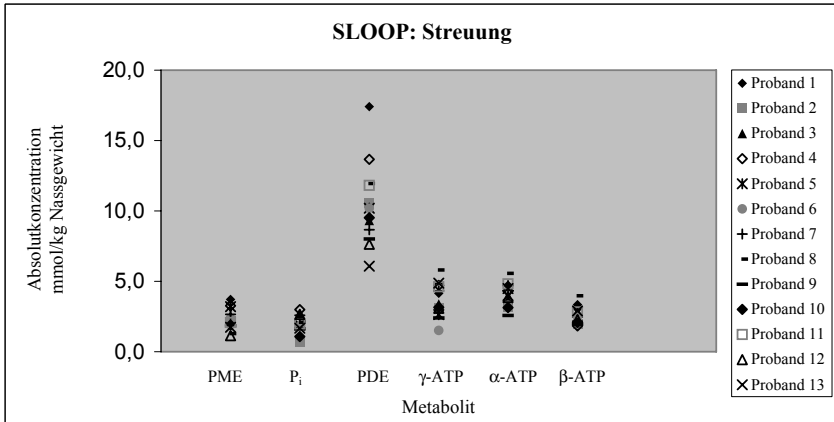


Abb. 3.6. Visualisierung von Tab. 3.5.

Die mit SLOOP quantifizierten Mittelwerte der Absolutkonzentrationen in gesunden Probanden sind in Tab. 3.6. zu sehen.

n = 13	PME	P <sub>i</sub>	PDE	γ-ATP	α-ATP	β-ATP
<b>Mittelwert</b>	2,3	2,0	10,4	3,7	4,0	2,6
<b>SD</b>	0,7	0,6	2,8	1,1	0,8	0,6
<b>Fehler (%)</b>	30,4	30	26,9	29,7	20	23,1

Tab. 3.6. SLOOP: Mittelwerte der Absolutkonzentrationen, SD und Fehler (%)

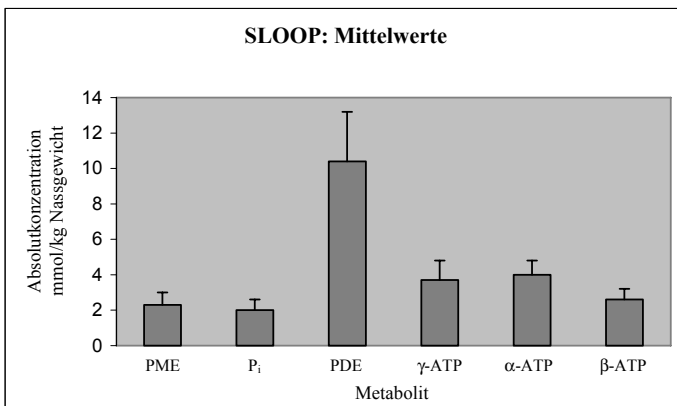


Abb. 3.7. Visualisierung von Tab 3.6.

Anschließend wurden die ermittelten Absolutkonzentrationen mit anderen publizierten Werten verglichen (Tab. 3.7.; 3.8.).

	PME	P <sub>i</sub>	PDE	NTP
<b>Diese Studie:</b>	<b>1,7 ±0,6</b>	<b>1,5 ±0,5</b>	<b>7,6 ±2,1</b>	<b>2,5 ±0,6</b>
Meyerhoff 1990:	1,1 ±0,5	2,6 ±0,4	6,6 ±1,8	2,5 ±0,2
Rajanayagam 1992:	1,1 ±0,5	2,8 ±0,8	5,5 ±0,8	2,5 ±0,5
Buchli 1994:	3,3 ±0,6	1,6 ±0,3	8,4 ±1,3	2,5 ±0,3
Sijens 1998:	2,6 ±0,4	1,5 ±0,2	13,9 ±2,4	2,5 ±0,3

Tab. 3.7. Vergleich mit Literatur – normalisiert nach Hultmann [40] (Werte an ATP=2,5 mmol angepasst, NTP =  $\gamma$ -ATP +  $\alpha$ -ATP +  $\beta$ -ATP/3)

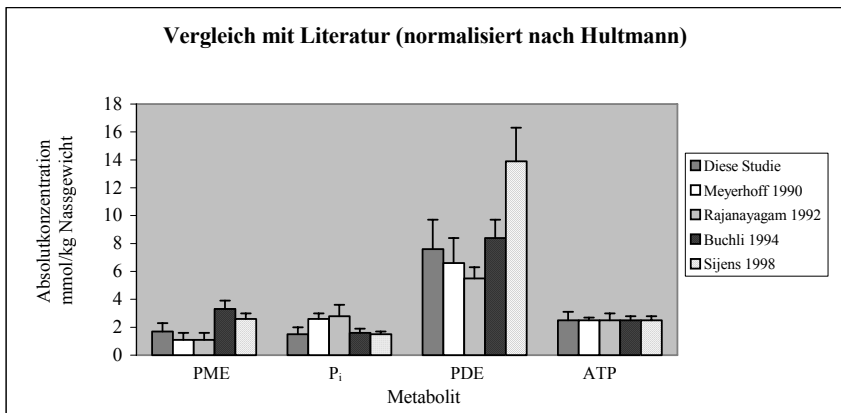


Abb. 3.8. Visualisierung von Tab. 3.7 (Meyerhoff [57], Rajanayagam [75], Buchli [17], Sijens [81])

Der Vergleich der nach Hultmann normalisierten Absolutkonzentrationen (ATP = 2,5 mmol) zwischen den einzelnen Publikationen ergab, dass die Abweichungen der Werte PME und P<sub>i</sub> sehr gering sind, der PDE-Wert jedoch stark variiert. Die Ergebnisse unserer Studie decken sich jedoch mit der Mehrzahl der bisher veröffentlichten wissenschaftlichen Arbeiten (Abb.3.8.).

	PME	P <sub>i</sub>	PDE	$\beta$ -ATP
<b>Diese Studie:</b>	<b>2,3 ±0,8</b>	<b>2 ±0,7</b>	<b>10,4 ±2,9</b>	<b>2,6 ±0,6</b>
Meyerhoff 1990:	0,9 ±0,4	2,1 ±0,3	5,4 ±1,4	2 ±0,4
Rajanayagam 1992:	0,7 ±0,3	1,8 ±0,5	3,5 ±0,5	1,6 ±0,3
Buchli 1994:	3,8 ±0,7	1,8 ±0,3	9,7 ±1,5	2,9 ±0,4
Corbin 2004:	3,7 ±0,6	1,2 ±0,1	7,6 ±0,7	3,2 ±0,2

Tab. 3.8. Vergleich mit Literatur – Absolutwerte/nicht normalisiert:

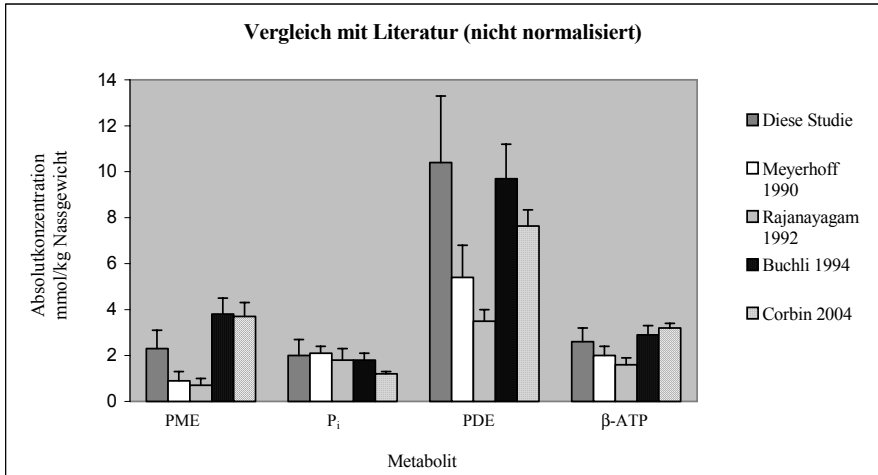


Abb. 3.9. Visualisierung von Tab.3.8

Der Vergleich derselben Publikationen mit nicht normalisierten Werten zeigte vor allem für die PME- und PDE-Region größere Schwankungen untereinander. Die größte Übereinstimmung ergab sich zwischen den Ergebnissen dieser Studie und denen von Buchli et al. 1994 veröffentlichten Werten (Abb. 3.9).

### 3.3. Vergleich der mittels AMARES und SLOOP ermittelten Metabolitenverhältnisse

Bei den mittels AMARES und SLOOP quantifizierten Metabolitenverhältnissen ergaben sich vergleichbare Werte (Tab. 3.9).

	PME/PDE	PME/ $\gamma$ -ATP	P <sub>i</sub> /PME	PDE/ $\gamma$ -ATP	PME/NTP	P <sub>i</sub> /NTP	PDE/NTP
<b>AMARES</b>	0,3	0,7	1,0	2,3	0,7	0,6	2,1
<b>SLOOP</b>	0,2	0,7	1,0	3,1	0,7	0,6	3,1

Tab. 3.9. AMARES und SLOOP im Vergleich: Mittelwerte der Metabolitenverhältnisse



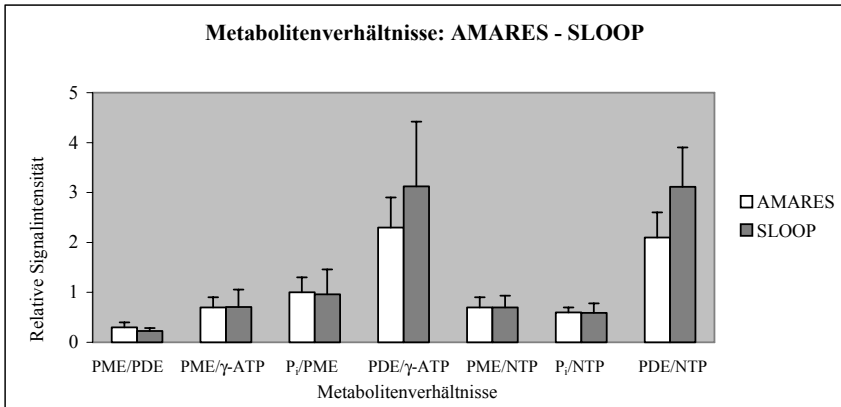


Abb.3.10. Visualisierung von Tab. 3.9

### 3.4. Bestimmung der Signal-zu-Rausch-Verhältnisse

#### 3.4.1. Probanden

Es wurden die Signal-zu-Rausch-Verhältnisse von  $\gamma$ -ATP, die sich für die einzelnen Probanden je nach verwendeten Auswerteprogramm (AMARES bzw. SLOOP) ergaben, ermittelt (Abb. 3.11; 3.12).

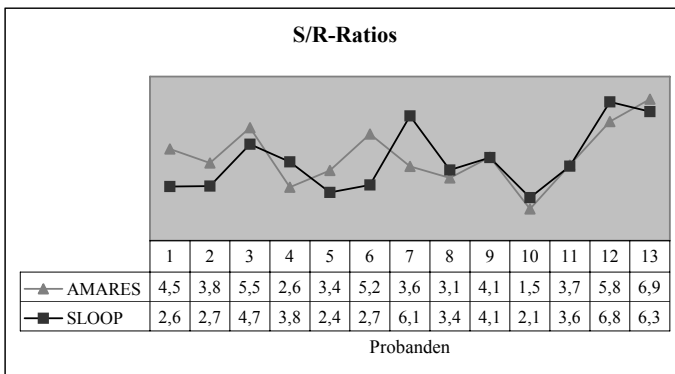


Abb. 3.11. AMARES und SLOOP im Vergleich: Signal-zu-Rausch-Verhältnisse ( $\gamma$ -ATP)

Trotz relativ starker Schwankungen (AMARES 1,5 bis 6,9; SLOOP 2,1 bis 6,3) lagen alle S/R-Ratios in einem aussagekräftigen Bereich. Auch unterschieden sich die beiden Programme hierin nicht signifikant (Abb. 3.11; 3.12).

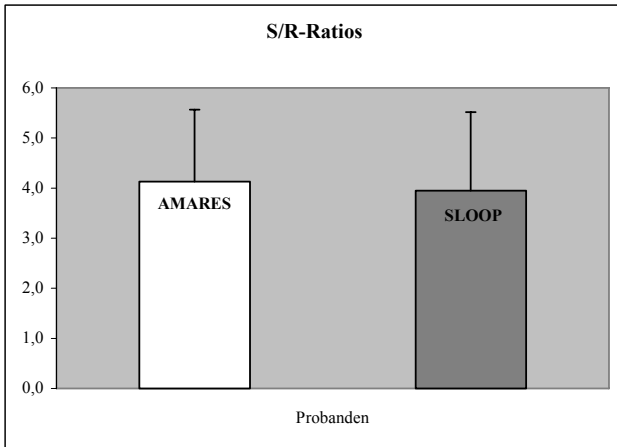


Abb. 3.12. S/R-Ratios ( $\gamma$ -ATP): AMARES und SLOOP im Vergleich

### 3.4.2. Patienten

Ebenso wurden die Signal-zu-Rausch-Verhältnisse von  $\gamma$ -ATP, die sich für die einzelnen Patienten je nach verwendeten Auswerteprogramm (AMARES bzw. SLOOP) ergaben, ermittelt (Abb. 3.13; 3.14).

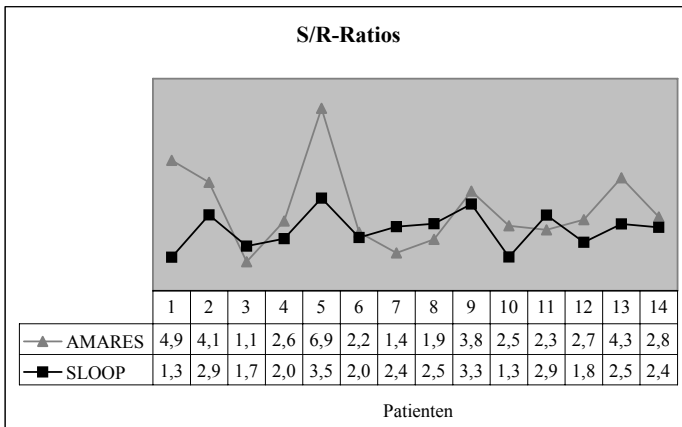


Abb. 3.13. S/R-Ratios ( $\gamma$ -ATP): AMARES und SLOOP im Vergleich

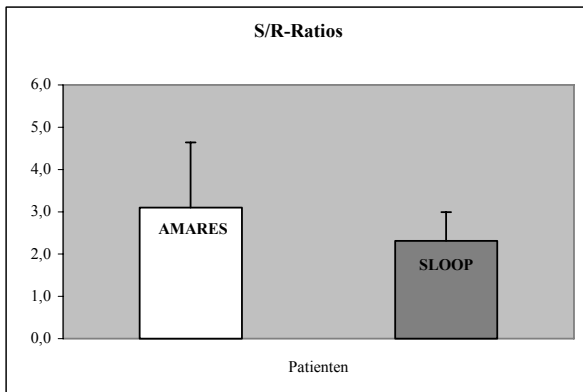


Abb. 3.14. S/R-Ratios ( $\gamma$ -ATP): AMARES und SLOOP im Vergleich

Bei der Betrachtung der S/R-Ratios von Patienten ergeben sich noch stärkere Schwankungen zwischen den einzelnen Patienten (AMARES 1,1 bis 6,9; SLOOP 1,3 bis 3,5). Mit Ausnahme eines Patientenspektrums unterschieden sich die beiden Programme aber auch hier nicht signifikant.

### 3.5. Bestimmung der Intra-/Interobservervariabilität

Bei dem halbautomatischen Fitprogramm AMARES betrug bei gleichbleibendem Prior-Knowledge sowohl die Intraobservervariabilität als auch die Interobservervariabilität 0%. Bei der Auswertung mittels SLOOP war jedoch, auch bei gleichem Prior-Knowledge, durch die vorhergehende Segmentation (die Einteilung in verschiedene Kompartimente) durch den Untersucher ein subjektiver Faktor gegeben, dessen Einfluss durch die Bestimmung der intra- und interindividuellen Variabilität ermittelt wurde.

#### 3.5.1. Intraobservervariabilität

Zur Bestimmung der Intraobservervariabilität von SLOOP wurde der Datensatz 5 verschiedener Probanden (3 männliche, 2 weibliche, mittleres Alter  $25,5 \pm 1,1$  Jahre (Lebensalter  $\pm$  SD)) bei gleichem Prior-Knowledge von ein und derselben Person im Abstand von einem Jahr ausgewertet (Tab. 3.10).

n = 5		PME	P <sub>i</sub>	PDE	γ-ATP	α-ATP	β-ATP
1. Auswertung	Mittelwert	2,54	1,67	12,07	3,44	4,16	2,92
	SD	0,84	0,48	2,75	1,46	0,89	0,68
	%Fehler	33,07	28,79	22,77	42,4	21,41	23,45
2. Auswertung	Mittelwert	2,55	1,6	11,96	3,29	4	2,94
	SD	0,78	0,44	3,19	1,34	0,89	0,71
	%Fehler	30,42	27,78	26,68	40,82	22,38	24,24
Änderung in % (1-2)		-0,31	4,54	0,86	4,42	3,8	-0,55

Tab. 3.10. SLOOP: Intraobservierbarkeit

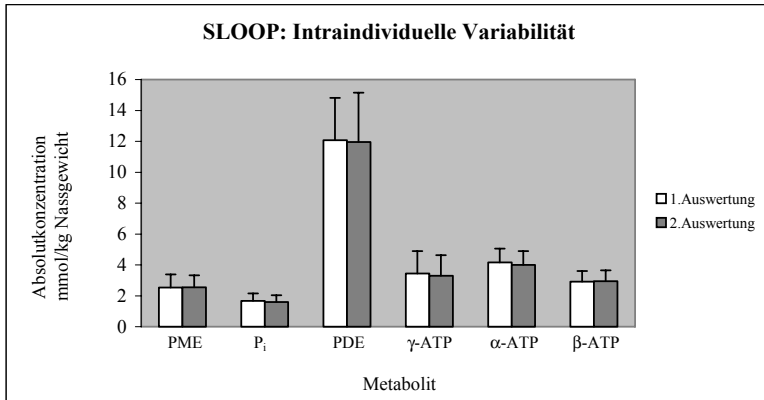


Abb. 3.15. Visualisierung von Tab. 3.10

Die Abweichungen zwischen den beiden Auswertungen lagen durchschnittlich bei 2,4%. Es zeigte sich, dass PME, PDE und β-ATP eine kleine intraindividuelle Variabilität aufwiesen, während diese bei den Metaboliten P<sub>i</sub>, γ-ATP und α-ATP größer war.

### 3.5.2. Interobservierbarkeit

Um die Interobservierbarkeit zu erhalten wurde derselbe Datensatz bei gleichem Prior-Knowledge von zwei verschiedenen Untersuchern ausgewertet. Die so erhaltenen Ergebnisse zeigt Tabelle 3.11.

n = 3		PME	P <sub>i</sub>	PDE	γ-ATP	α-ATP	β-ATP
Observer 1	Mittelwert	2,72	2,5	10,12	3,89	4,2	2,57
	SD	0,94	1,17	2,12	1,35	1,83	0,95
	%Fehler	34,52	47,07	20,97	34,75	43,44	37,05
Observer 2	Mittelwert	2,46	2,28	10,85	3,63	3,72	2,24
	SD	1	0,93	2,22	0,75	1,15	0,4
	%Fehler	40,88	40,81	20,43	20,77	30,91	18,1
Änderung in % (1-2)		9,7	8,49	-7,19	6,69	11,57	13,06

Tab. 3.11. SLOOP: Interobservierbarkeit

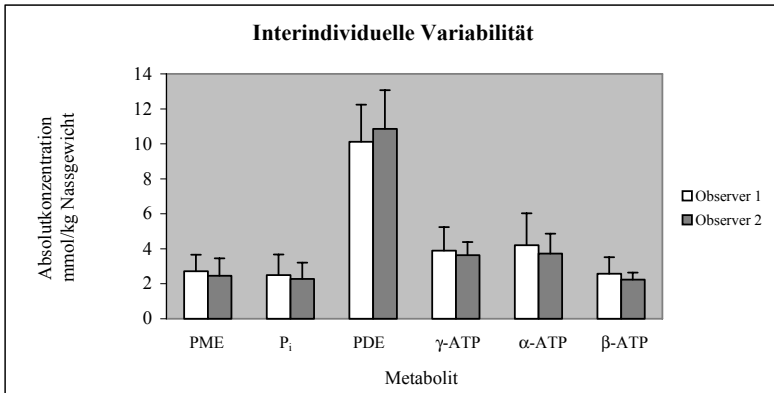


Abb. 3.16. Visualisierung von Tab. 3.11

Die durchschnittliche Änderung lag hier bei 9,5%. Die Werte von  $\alpha$ - und  $\beta$ -ATP zeigten die größte interindividuelle Variabilität.

### 3.6. Bestimmung des Energiestoffwechsels bei Leberzirrhose

Es wurden insgesamt 10 Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose (3 weiblich, 7 männlich), mittleres Alter  $59,8 \pm 4,6$  Jahre (Alter  $\pm$  Standardabweichung) mittels der beiden zur Verfügung stehenden Auswerteprogramme untersucht.

Bei 7 Patienten wurde ein Stadium B nach der Child-Pugh-Klassifikation diagnostiziert, die restlichen 3 Patienten befanden sich im Stadium C.

Die so erhaltenen Leberspektren im Vergleich mit Spektren gesunder Probanden zeigt die Abbildung 3.17.

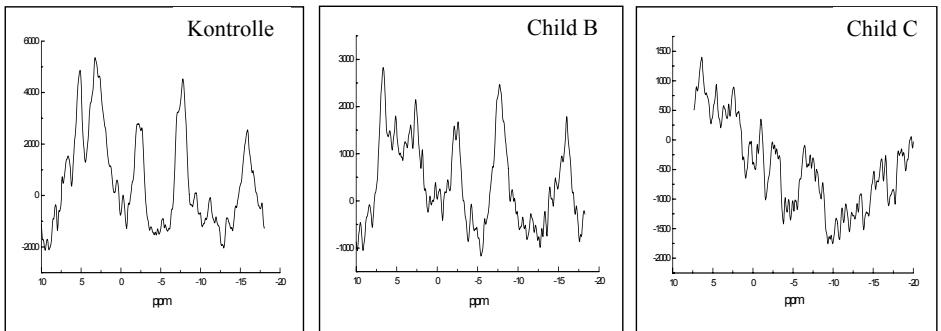


Abb. 3.17. Leberspektren von Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden

### 3.6.1. AMARES

Die durch das Auswerteprogramm AMARES erhaltenen Metabolitenverhältnisse der Patienten gibt Tab. 3.12. wieder. Die Abb. 3.18. zeigt diese im Vergleich zu den Probandenwerten.

n = 10	PME/PDE	PME/ $\gamma$ -ATP	P <sub>i</sub> /PME	PDE/ $\gamma$ -ATP	PME/NTP	P <sub>i</sub> /NTP	PDE/NTP
<b>Mittelwert</b>	0,9	1,3	0,5	1,6	1,1	0,5	1,5
<b>SD</b>	0,6	1,1	0,3	0,6	0,5	0,3	0,6

Tab. 3.12. AMARES: Metaboliten-Verhältnisse bei Patienten mit äthyltoxischer Leberzirrhose

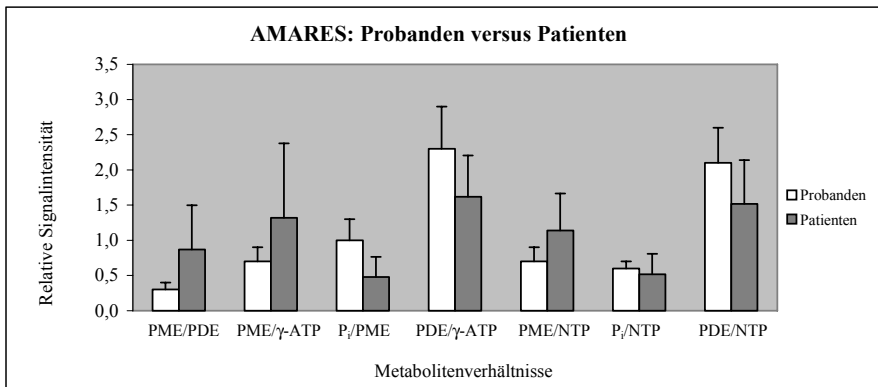


Abb. 3.18. AMARES: Probanden versus Patienten; Mittelwerte der Metaboliten-Verhältnisse

Außer für das Verhältnis P<sub>i</sub>/NTP ergaben sich für alle Metabolitenverhältnisse signifikante Veränderungen. Es kam zu einer Zunahme von PME/PDE, PME/ $\gamma$ -ATP und PME/NTP bei einer gleichzeitigen Reduktion von P<sub>i</sub>/PME, PDE/ $\gamma$ -ATP. Tendenziell ließ sich auch ein Abfall des P<sub>i</sub>/NTP-Verhältnisses beobachten. Tab. 3.13. fasst die Veränderungen nochmals in Hinblick auf die Signifikanz zusammen.

	<b>Probanden</b>	<b>Patienten</b>	<b>p-Wert</b>
<b>PME/PDE</b>	0,3 ±0,1	0,9 ±0,6	.000***
<b>PME/<math>\gamma</math>-ATP</b>	0,7 ±0,2	1,3 ±1,1	.021*
<b>P<sub>i</sub>/PME</b>	1,0 ±0,3	0,5 ±0,3	.001***
<b>PDE/<math>\gamma</math>-ATP</b>	2,3 ±0,6	1,6 ±0,6	.021*
<b>PME/NTP</b>	0,7 ±0,2	1,1 ±0,5	.008**
<b>P<sub>i</sub>/NTP</b>	0,6 ±0,1	0,5 ±0,3	.410
<b>PDE/NTP</b>	2,1 ±0,5	1,5 ±0,6	.021*

Tab. 3.13. AMARES: Probanden versus Patienten; Signifikanz

\* = signifikant (p < 0,05)  
 \*\* = sehr signifikant (p < 0,01)  
 \*\*\* = hoch signifikant (p < 0,001)

### 3.6.2. SLOOP

Die Quantifizierung mittels SLOOP machte es möglich die Absolutkonzentrationen der energiereichen Phosphate bei Patienten mit alkoholtoxischer Leberzirrhose zu ermitteln (Tab. 3.14.).

n = 10	PME	P <sub>i</sub>	PDE	γ-ATP	α-ATP	β-ATP
<b>Mittelwert</b>	3,2	1,2	4,7	1,9	2,3	1,8
<b>SD</b>	2,4	0,7	2,4	0,7	1,8	1,2

Tab. 3.14. SLOOP: Absolutkonzentrationen der energiereichen Phosphate bei Patienten mit äthyltoxischer Leberzirrhose

Durch die vorherige Bestimmung der Werte gesunder Probanden, wurde ein Vergleich zwischen Normwerten und krankheitsbedingten Veränderungen möglich (Abb. 3.19.).

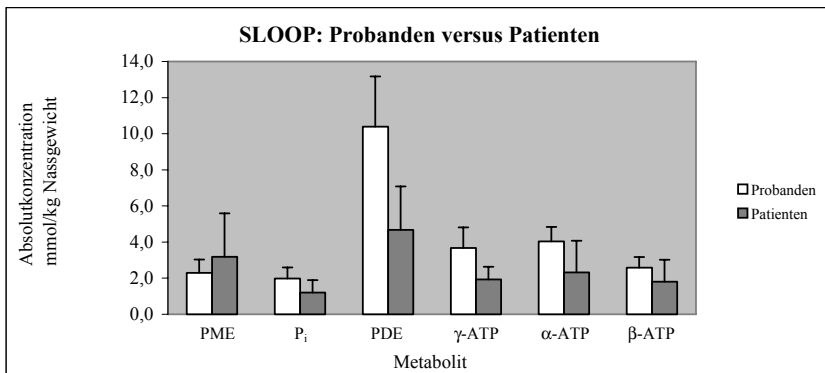


Abb. 3.19. SLOOP: Probanden versus Patienten; Mittelwerte der Metaboliten

Bedingt durch die mit zunehmenden Krankheitsstadium in der Qualität abnehmenden Spektren zeigten die Patientendaten fast durchweg höhere Standardabweichungen, welche für PME mit 2,4 so hoch war, dass – trotz einer starken Erhöhung dieses Wertes – keine signifikante Änderung zu bestimmen war. Für die restlichen Metabolite ergaben sich signifikante (P<sub>i</sub>, β-ATP) bis höchstsignifikante (PDE, γ-ATP, α-ATP) Veränderungen, welche auf eine Reduktion der Werte zurückzuführen waren (Tab. 3.15.).

	<b>Probanden</b>	<b>Patienten</b>	<b>p-Wert</b>
<b>PME</b>	2,3 ±0,7	3,2 ±2,4	.738
<b>P<sub>i</sub></b>	2,0 ±0,6	1,2 ±0,7	.012*
<b>PDE</b>	10,4 ±2,8	4,7 ±2,4	.000***
<b>γ-ATP</b>	3,7 ±1,1	1,9 ±0,7	.001***
<b>α-ATP</b>	4,0 ±0,8	2,3 ±1,8	.001***
<b>β-ATP</b>	2,6 ±0,6	1,8 ±1,2	.026*

Tab. 3.15. SLOOP: Probanden versus Patienten; Signifikanz

\* = signifikant ( $p < 0,05$ )

\*\* = sehr signifikant ( $p < 0,01$ )

\*\*\* = hoch signifikant ( $p < 0,001$ )

Es bestand keine Korrelation zwischen klinischen Parametern (Albumin, Bilirubin, Quick, Child-Klassifikation) und dem Energiehaushalt der Patienten mit äthyltoxischer Leberzirrhose.



## 4. Diskussion

### 4.1. Methoden zur Erfassung einer Leberzirrhose – allgemein

Die alkoholtoxische Leberzirrhose ist eine in den westlichen Industrienationen weit verbreitete Krankheit. Durch übermäßigen Alkoholkonsum kommt es zu zahlreichen Veränderungen im Stoffwechsel [50; 71], die jedoch mit herkömmlichen, nicht-invasiven Methoden wie z.B. der Sonographie erst spät erfasst werden. Der heute gängige klinische Standard zur Einteilung der Schwere einer Leberzirrhose, der Child-Pugh-Score, ist unzureichend, da er von einer Sammlung verschiedener Laborparameter und klinischen Zeichen abhängt und somit auch von extrahepatischen Einflüssen (z.B. Diuretikagabe bei Aszites) beeinflusst wird.

Aussagen über die aktuelle Lage des Leberstoffwechsels kann man nur durch die Leberbiopsie erhalten, welche jedoch als invasive Methode immer das Risiko von Verletzungen in sich birgt. Ein weiterer, wesentlicher Nachteil besteht darin, dass immer nur sehr wenig Lebergewebe entnommen werden kann (etwa 1 mg) und somit keine sichere Aussage über die tatsächliche Situation der ganzen Leber getroffen werden kann.

Die einzige Methode mit der es heute möglich ist, nicht-invasiv und ohne Verwendung von radioaktiven Substanzen, die Stoffwechsellage der Leber in vivo darzustellen, ist die <sup>31</sup>P-Magnetresonanz Spektroskopie. Zahlreiche experimentelle Studien an tierischen (Ratten) und menschlichen Herzen zeigten die Bedeutung dieser Untersuchungsmethode und ebneten den Weg auch für die Spektroskopie der Leber [4; 12; 37; 47; 48; 55; 66; 67; 76]. In diesen Studien ist es mit MR-Geräten hoher Feldstärke (> 7T) gelungen die Leberspektren isolierter perfundierter Rattenlebern unter verschiedenen Bedingungen zu erhalten [22]. Changani et al. [20] unterstrichen die Bedeutung eines gut definierten Prior Knowledge (d.h. dem Auswerteprogramm zur Verfügung stehendes Vorwissen) bei der Untersuchung von Schweinelebern. Dies wurde von Mierisova [59] bestätigt.

Durch zusätzliche Untersuchungen von Lebergewebe in vitro war es möglich die in vivo erhaltenen Signale in ihre Bestandteile zu zerlegen und sie somit besser einordnen zu können [41; 64]; dies führte wiederum zu einer Verbesserung der verwendbaren Voreinstellungen.

Im Vergleich zu diesen erfolgreichen experimentellen Anwendungen der MRS, bestehen derzeit für den Einsatz am Menschen noch wesentliche Limitationen. Zum einen ist in Deutschland für Untersuchungen am Menschen eine Feldstärke von maximal 4T zugelassen. Dies bedeutet im Vergleich zu den Tierexperimenten bei 7T ein niedrigeres Signal und eine

schlechtere örtliche Auflösung und somit eine Einschränkung der diagnostischen Aussagekraft.

Zum anderen ist im Tierexperiment eine direkte Organentnahme möglich, d.h. es gibt keine störenden umgebenden Strukturen. Beim Menschen sind jedoch Lokalisierungstechniken nötig, um Organe selektiv zu erfassen und Kontaminationen aus Nachbarregionen relativ gering zu halten. Des Weiteren muss die Untersuchungszeit in einem für Proband oder Patient tolerablen Rahmen liegen (höchstens 60 min). Das Untersuchungsprotokoll einer klinisch angewandten MR-Spektroskopie ist somit immer ein Kompromiss zwischen einer guten Qualität der erhaltenen Spektren und der Belastung des Patienten.

Um die ermittelten Werte auch untereinander vergleichen zu können, wurde hier ein standardisiertes Untersuchungsprotokoll verwendet (Field of View [FOV] = 200x200x320, Phasenkodierschritte = 8x8x8, minimales  $T_R = 1500$  msec), die untersuchten Personen mussten 4 Stunden vor der Messung nüchtern bleiben (Ausnahme: Nahrungsstudie) und bei den Probanden wurden anamnestisch Lebererkrankungen ausgeschlossen.

## 4.2. Verwendete spektroskopische Technik

### 4.2.1. Lokalisationstechnik (3D-CSI)

Die bei dieser Studie verwendete Lokalisierungstechnik, das 3D-Chemical-Shift-Imaging (3D-CSI), bietet vielerlei Vorteile gegenüber den in früheren Untersuchungen verwendeten Einzelvolumentechniken, wie z.B. STEAM, VOSY und PRESS, da bei diesen teilweise eine kritische Abhängigkeit von der Lagerung des Patienten besteht. Auch die von vielen Forschungsgruppen verwendete Lokalisierungstechnik ISIS ist sehr anfällig für Patientenbewegungen, weiterhin sind nur große Messvolumina aquirierbar. Allen Einzelvolumentechniken gemein ist die Notwendigkeit, den zu interessierenden Bereich im Vorfeld zu definieren.

Einer der Vorteile, den die Lokalisierung mittels 3D-CSI hier bietet, besteht in der möglichen Nachbearbeitung der Voxelposition, d.h. es entfällt die Notwendigkeit das zu untersuchende Volumen bereits während der Messung festzulegen. Zusätzlich erlaubt die Phasenkodierung in allen drei Raumrichtungen eine bessere Zuordnung der Voxelposition zur anatomischen Lage. Durch die Möglichkeit mehrere Voxel gleichzeitig aufzunehmen und im Rahmen der Datenverarbeitung zu analysieren, lassen sich prinzipiell verschiedene Areale des Leberparenchyms unter identischen Untersuchungsbedingungen vergleichen.

Diesen gewichtigen Vorteilen stehen einige Limitationen gegenüber. Diese sind vor allem darin zu sehen, dass mit Zahl der Phasenkodierschritte auch das Voxelbleeding

(Kontamination aus den Nachbarvoxeln) zunimmt. Desweiteren müssen verlängerte, für den Probanden/Patienten jedoch noch tolerierbare Untersuchungszeiten von 30 bis 45 Minuten in Kauf genommen werden.

Bedingt durch die Verwendung von Oberflächenspulen nimmt das Signal mit zunehmender Tiefenlokalisation ab und damit die Fehlermöglichkeit des Fits zu. Deshalb wurde als Standardposition für die Analyse das apikale Drittel im rechten Leberlappen festgelegt [24].

#### 4.2.2. Quantifizierungsprogramme

Für die nachfolgende Quantifizierung der erhaltenen Spektren ist eine Methode, die subjektive Benutzereinflüsse ausschließt und trotzdem jedes einzelne Spektrum individuell mit hoher Genauigkeit quantifiziert, wünschenswert. Der Standard liegt heute bei halbautomatischen Verarbeitungsprogrammen, welche jedoch nur eine relative Quantifizierung erlauben. Es können also nur Metaboliten-Verhältnisse dargestellt werden; somit ist keine Aussage über die tatsächlich vorhandenen Konzentrationen der einzelnen Metabolite möglich. Erstrebenswert ist es jedoch mittels tatsächlicher Quantifizierungsprogramme einzelne Metabolite getrennt zu analysieren, auch wenn dies einen höheren Aufwand (z.B. externe Standards) mit sich bringt.

##### 4.2.2.1. AMARES

Konventionelle Auswerteverfahren unterscheiden sich prinzipiell hinsichtlich ihrer Auswertedomäne (Fitdomäne). Ein von vielen Forschungsgruppen verwendetes, konventionelles Auswerteverfahren stellt LUISE dar, bei welchen in der Frequenzdomäne das Resonanzspektrum (RFS) der Phosphormetaboliten quantitativ ausgewertet wird. Ein wesentlicher Nachteil, den LUISE mit sich bringt, ist die Notwendigkeit die Peakfrequenzbereiche durch den Benutzer an das erhaltene Spektrum anzugleichen. Daraus resultiert eine nicht zu vernachlässigende Abhängigkeit vom Benutzer, welche sich in den Intra- und Interobservervariabilitäten niederschlägt, welche bei Untersuchungen am Herzen im Mittel zwischen 4,5% und 4,2% lagen [80].

Im Gegensatz hierzu ermöglicht das halbautomatische Fitprogramm AMARES durch die Auswertung in der Zeitdomäne eine Anpassung der frequenzkodierte Resonanzlinien an das FID (FID-Fit). Voraussetzung für dieses Quantifizierungsprogramm ist ein standardisiertes Prior-Knowledge [78], welches Informationen über die Position der zu erwartenden Peaks und Multiplettaufspaltungen enthält (z.B. bei  $\beta$ -ATP Triplett 1:2:1 16Hz). Somit beschränkt sich der Einfluss des Benutzers auf die manuelle Festlegung der Startwerte für Amplitude und

Halbwertsbreite der Peaks und hat in einem weiten Bereich keine Auswirkungen auf die erzielten Ergebnisse. Dies bringt, neben einer deutlichen Zeitersparnis, einen entscheidenden Vorteil gegenüber den typischerweise verwendeten Softwarepaketen: fehlende Inter- und Intraobservervariabilitäten, d.h. bei gleichbleibendem Prior-Knowledge ist eine Beeinflussung des Ergebnisses durch den Anwender so gut wie ausgeschlossen. Aus diesem Grund kamen die hier verwendeten Fitroutinen auch bei der Auswertung mittels SLOOP zum Einsatz [4; 6; 48; 54; 55].

Allerdings ergeben sich durch die Verbindung von 3D-CSI und AMARES auch Limitationen [65; 66]. So stimmen die Grenzen des selektierten Volumens nicht mit den realen anatomischen Grenzen der untersuchten Gewebe überein, und kann somit zu Kontamination und Signalverlust führen. Dies ist bei globalen Lebererkrankungen in Anbetracht der Lebergröße ein eher zu vernachlässigender Punkt, dessen Auswirkungen jedoch bei der Untersuchung lokalisierter Krankheitsprozesse zutage tritt. Ein für diese Studie jedoch weit gewichtigerer Nachteil ist, dass die Verbindung eines konventionellen 3D-CSI-Datensatzes mit AMARES, ebenso wie alle anderen herkömmlichen konventionellen Auswerteverfahren, nur relative Aussagen über die Phosphormetabolitenkonzentration, ausgedrückt in Metaboliten-Verhältnissen, zulässt und somit nur schwer einen Einblick in die tatsächliche Stoffwechsellage erlaubt [6; 55].

#### 4.2.2.2. SLOOP

Dem Ziel eine nicht-invasive, exakte Diagnostikmethode zu entwickeln mit der ein Einblick in den Stoffwechsel möglich ist, ist man mit der Entwicklung der Quantifizierungsmethode SLOOP ein gutes Stück näher gekommen. SLOOP wurde erstmals im Jahre 1991 von v. Kienlin et al. beschrieben und fand seine erste Anwendung am menschlichen Herzen 1998 [52]. Es handelt sich hierbei um eine Möglichkeit der Absolutquantifizierung, welche die höchste bisher beschriebene Genauigkeit aufweist [4; 6; 48; 54; 55].

Die Voxelgrenzen können hier genau an die anatomische Strukturen angepasst werden, dadurch kommt es theoretisch zu einer verminderten Kontamination aus den umgebenden Strukturen, verbunden mit einer erhöhten Sensitivität [44; 52]. Im Vergleich zu herkömmlichen Rekonstruktionsverfahren kommt so das Signal ausschließlich aus dem im  $^1\text{H}$  Bild ausgewählten Volumen. Durch die Verwendung eines externen Standards wird die Quantifizierung von absoluten Konzentrationen und somit eine Aussage zu den tatsächlich in vivo in der Leber vorkommenden energiereichen Phosphaten möglich.

Eine Voraussetzung für dieses Verfahren stellt die Notwendigkeit der manuellen Segmentation dar, welche je nach Anzahl der zu segmentierenden Schichten einen Zeitaufwand zwischen 15 und 20 Minuten bedeutet. Wurde der Datensatz von ein und derselben Person im Abstand eines Jahres ausgewertet, lag der Unterschied zwischen den beiden Auswertungen für die einzelnen Metabolite zwischen 0,3 und 4,5%. Die, wie erwartet, höheren Abweichungen bei der Auswertung durch zwei verschiedene Untersucher lagen zwischen 6,7 und 13,1%. Im Vergleich hierzu lagen die von Sijens et al. bei einer Quantifizierung über die Frequenzdomäne ermittelten Intra- und Interobservervariabilitäten bei 4-9% und 11-19% [81] also nahezu doppelt so hoch.

Somit stellt die Festlegung der anatomischen Strukturen durch den Anwender die größte subjektive Komponente dar. Dies erscheint jedoch im Hinblick auf die relativen Fehler der Mittelwerte der Metabolite, welcher aufgrund einer großen individuellen Abhängigkeit sehr hoch liegt (zwischen 20 und 30,4%) von untergeordneter Bedeutung.

Im Gegensatz zu der theoretisch erwarteten Signalsteigerung zeigen die in dieser Studie mittels SLOOP erhaltenen Signal-zu-Rausch-Verhältnisse keine Verbesserung im Vergleich zu AMARES. Dies ist zum einen auf eine durch die Oberflächenspule inhomogene Signalintensität, zum anderen auf eine höhere Linienbreite bei dem durch Segmentation erhaltenen größerem Volumen zurückzuführen. Bei der Untersuchung von Patientenlebern wurde mittels SLOOP im Vergleich zu AMARES ein kleineres Signal-zu-Rausch-Verhältnis ermittelt. Betrachtet man jedoch die S/R-Ratios der Patientenspektren einzeln, wird ersichtlich, dass lediglich ein Patientenspektrum bei der Auswertung mittels AMARES ein sehr hohes Signal-zu-Rausch-Verhältnis aufweist, wodurch die große Differenz bei der Betrachtung der Mittelwerte zustande kommt. Dennoch scheinen die Signal-zu-Rausch-Verhältnisse bei einer Auswertung mittels AMARES geringfügig höher zu liegen. Dies ist darauf zurückzuführen, dass in der Patientenleber noch zusätzlich die Inhomogenität des kranken Organs Einfluss auf das gewonnene Spektrum hat. Dieser fällt bei einer Auswertung mittels AMARES weniger ins Gewicht, da hier der Benutzer die Möglichkeit hat, die Auswahl des zu untersuchenden Voxels von dem erhaltenen Spektrum abhängig zu machen. Bei einer Auswertung mittels SLOOP hingegen liegt das Ergebnis der durchgeführten Segmentation dem Untersucher erst später vor. Eine Möglichkeit das Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei einer Auswertung mittels SLOOP zu verbessern, wäre demnach, nicht das ganze zur Verfügung stehende Lebervolumen zu segmentieren, sondern sich auf einen Bereich, welcher mehrerer Voxel entspräche, nahe der Spule zu beschränken, um in dem signalreichen Bereich zu bleiben und durch Inhomogenitäten bedingte "Verunreinigungen"

des Spektrums zu minimieren. Dies würde durch weniger Volumen auch zu einer Verschmälerung der Linienbreite führen und dennoch nach wie vor die Anpassung an anatomische Verhältnisse (z.B. bei lokalisierten Veränderungen wie Tumoren) erlauben.

Ein weiterer interessanter Aspekt für zukünftige Arbeiten, wäre die durch verschiedene Quantifizierungsprogramme erhaltene Kontamination aus der Brustwand zu quantifizieren. Hierbei würde man bei SLOOP eine nur sehr geringe bis gar keine Kontamination im Vergleich mit konventionellen Auswerteprogrammen erwarten.

#### 4.3. Leberstoffwechsel bei Gesunden

##### 4.3.1. Diskussion des Einflusses der Ernährungslage

Berücksichtigt man bei der Analyse der energiereichen Phosphate den Einfluss der Nahrung so muss zwischen experimentellen Studien und in vivo Untersuchungen am Menschen differenziert werden. In experimentellen Studien wurde gezeigt, dass in isolierten, hungernden Rattenhepatozyten der ATP-Gehalt erniedrigt ist [35]. Eine andere Forschungsgruppe fand wiederum heraus, dass in Rattenlebern nach einer Alanin/Glukose-Infusion der PME-Anteil ansteigt und der ATP-Gehalt abfällt [19].

Die Ergebnisse bei Untersuchungen am Menschen variieren. Buchli et al. [17] sahen keine Veränderungen nach einer normalen Mahlzeit, jedoch eine ATP-Abnahme von 40% nach Fruktoseinfusion. Oberhaensli et al. [69] konnten nach Fruktose-Infusion einen relativen Pi-Abfall, welcher durch Bestimmung des Serum-Pi-Gehaltes verifiziert wurde, beobachten. Es kommen also verschiedene Forschungsgruppen zu dem Ergebnis, dass Extrema, wie Hunger oder i.v.-Fructoseinfusionen, einen Einfluss auf die gemessenen Werte haben. Schilling et al. [77] untersuchten Probanden nüchtern und 1 bis 1 ½ Stunden nach einer ausgewogenen Mahlzeit und es konnte ein PME-Abfall bei gleichzeitigem PDE-Anstieg und ein Absinken des PME/PDE-Verhältnisses nach Nahrungsaufnahme ermittelt werden. Deshalb wurde im Vorfeld dieser Arbeit der Einfluss der Ernährungslage nochmals untersucht. Es wurden Probanden nüchtern und direkt nach Nahrungsaufnahme untersucht. Ziel war eine wesentliche Beeinflussung der <sup>31</sup>P-Spektren durch Einnahme einer Mahlzeit auszuschließen.

Aufgrund der geringen Zahl von Probanden (n = 3) konnten nur tendenziell Veränderungen abgeschätzt werden. Am auffälligsten war eine Abnahme der PDE-Region (prozentuale Änderung 19,4%), gefolgt von einem Pi-Anstieg bei gleichzeitigem Abfall des ATPs. Der Abfall des PDEs scheint zunächst der Studie von Schilling zu widersprechen. Jedoch wurde in dieser Arbeit der Einfluss der Nahrung direkt nach der Mahlzeit untersucht, wohingegen die Messungen bei Schilling erst nach einer Pause von mindestens einer Stunde nach

Nahrungsaufnahme erfolgte; d.h. ein direkter Vergleich der Ergebnisse ist nicht möglich, da die Probanden sich unter verschiedenen Stoffwechselbedingungen befanden. Interessant wäre die Erstellung von Spektrenserien nach täglicher Mahlzeit beim gesunden Probanden um eine Aussage der Veränderungen im Verlauf treffen zu können, welche eventuell Rückschlüsse auf den direkten Einfluss der Nahrung auf die energiereichen Phosphate der Leber zulassen würde und somit auch zu einem besseren Verständnis der Veränderungen in der pathologisch veränderten Leber führen könnte.

Die Schlussfolgerung die sich aus den genannten Ergebnissen ergibt ist, dass die Aufnahme einer normalen Mahlzeit durchaus Einfluss auf das  $^{31}\text{P}$ -Spektrum hat. Das unterstreicht wiederum die Notwendigkeit, Untersuchungen immer unter gleichen Stoffwechselbedingungen (also am besten nüchtern) durchzuführen. Um eine mögliche Verfälschung durch die Aufnahme von Nahrung bei den darauf folgenden Messungen zu verhindern, wurden daher alle Probanden und Patienten nach einer 4-stündiger Nahrungskarenz untersucht.

#### 4.3.2. Normalwerte-Bestimmung mittels unterschiedlicher Quantifizierungsprogramme

Die Bestimmung von Metabolitenverhältnissen und –konzentrationen in der gesunden Leber ist Voraussetzung, um Aussagen über den Energiestoffwechsel der erkrankten Leber abzuleiten. Zu diesem Zweck wurde ein Probandenkollektiv mittels den beiden zu Verfügung stehenden Quantifizierungsprogrammen (AMARES und SLOOP) untersucht.

##### 4.3.2.1. AMARES

Die mit 3D-CSI und konventioneller Quantifizierung berechneten Werte stimmen weitgehend mit anderen Forschungsergebnissen überein. Differenzen der Publikationen ergeben sich aus methodischen Unterschieden zwischen den Untersuchungen:

- Unterschiede im Probandenkollektiv

Es konnte eine insgesamt große individuelle Abhängigkeit innerhalb des Probandenkollektivs aufgezeigt werden, welche sich in den relativ hohen Standardabweichungen widerspiegelt. Der ermittelte relative Fehler schwankt zwischen 16,7 und 33,3%, wobei er am höchsten für das Verhältnis PME/PDE ist (Multiplett-Analysen-Problem). Betrachtet man die Standardabweichungen jedoch im Vergleich zu anderen Publikationen, so reihen sie sich gut in die Werte anderer Forschergruppen, d.h. auch hier existiert eine starke Streuung der Werte innerhalb des Probandenkollektivs. Im Vergleich zu dieser großen individuellen Abhängigkeit

erscheinen die Unterschiede zwischen den einzelnen Publikationen eher tendenziell. Jedoch scheint die Zusammensetzung des Probandenkollektivs eine wichtige Rolle für die zu erhaltenen Ergebnisse zu spielen, sodass im Vorfeld darauf geachtet werden sollte eine relativ homogene Gruppe zu untersuchen (Alter, Körpergewicht).

- Unterschiede im Messverfahren

Ein weiterer Punkt in dem sich die verschiedenen Publikationen unterscheiden, sind die verwendeten Messverfahren, so konnten Cox et al. eine starke Abhängigkeit des PDE-Wertes von der verwendeten TR-Zeit feststellen [27]. Auch die verwendete Feldstärke, sowie die Anzahl der Mittelungen haben einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss auf die Untersuchungsergebnisse. Dies unterstreicht die Notwendigkeit eines einheitlichen Messprotokolls für die gesamten Untersuchungen einer Studie.

- Unterschiede in der Quantifizierung

Die verwendete Software hat ebenfalls einen starken Einfluss auf die zu erwartenden Untersuchungsergebnisse. Es spielt eine Rolle, ob die Auswertung in der Zeit- oder der Frequenz-Domäne erfolgt, wie stark das verwendete Programm von der Benutzerinteraktion abhängig ist und mit welchen Vorinformationen das Quantifizierungsprogramm gespeist ist. So konnten Sijens et al. bei einem Vergleich verschiedener Forschungsgruppen miteinander die größten Ähnlichkeiten dort feststellen, wo mit der gleichen Software gearbeitet wurde [81].

#### 4.3.2.2. SLOOP

Das Augenmerk neuer Forschung ist jedoch zunehmend auf die quantitative Analyse der Metabolite in der Leber gerichtet, welche direkte Aussagen über den Leberstoffwechsel in vivo und nicht-invasiv erlaubt und in Zukunft bisherige, wie bereits dargelegt oft unzureichende diagnostische Parameter in den Hintergrund rücken lassen könnte.

Mit dem Auswerteverfahren SLOOP, welches durch Verwendung eines externen Standards eine Quantifizierung von absoluten Konzentrationen der energiereichen Phosphate der Leber ermöglicht, kommt man diesem Ziel ein gutes Stück näher. Somit können bereits zum jetzigen Zeitpunkt genaue Aussagen über den Energiehaushalt der menschlichen Leber in vivo getroffen werden. Weiterhin ermöglicht dieses Verfahren die Anpassung der zu untersuchenden Volumina an anatomische Verhältnisse. Dies stellt einen enormen Vorteil gegenüber Auswerteverfahren dar, welche auf festgelegte Untersuchungsvolumina beschränkt



sind. Einschränkungen ergeben sich lediglich durch die Berechnung der B<sub>1</sub>-Karte und die Variabilität, die sich durch die Festlegung der Kompartimente ergibt.

Die Ergebnisse dieser Studie stimmen gut mit zuvor publizierten, spektroskopisch ermittelten Werten überein, jedoch sind auch hier starke Schwankungen zwischen den einzelnen Publikationen festzustellen. Sie resultieren, wie auch schon bei den mittels AMARES bestimmten Werten, aus methodischen Unterschieden zwischen den Untersuchungen. Im Vergleich der Absolutkonzentrationen verschiedener Forschungsgruppen, ist eine Ähnlichkeit der Ergebnisse vor allem dann zu sehen, wenn mit ähnlicher Software gearbeitet wurde. So sieht man die größte Übereinstimmung der Ergebnisse unserer Studie mit denen von Buchli et al. [17], da in beiden Forschungsgruppen eine Auswertung über die Zeitdomäne erfolgte. Dementsprechend verhalten sich auch die Ergebnisse von Meyerhoff et al. [57] und Rajanayagam et al. [75] zueinander; hier erfolgte die Auswertung über die Frequenzdomäne.

Die mittels SLOOP und AMARES ermittelten Werte, ergeben für beide Auswerteverfahren nahezu die gleichen Metabolitenverhältnisse. Dies heißt ein Vergleich zwischen beiden Quantifizierungsmethoden ist möglich und über die mittels SLOOP ermittelten Absolutkonzentrationen können nun auch Aussagen über die tatsächlichen Verhältnisse der Metabolite zueinander getroffen werden. Weiterhin ermöglicht diese Übereinstimmung den Vergleich mit Publikationen, welche mit herkömmlichen Auswerteverfahren nur relative Quantifizierungsergebnisse erhalten.

Das Ziel heutiger Forschung ist es, nicht-invasive Diagnostikmethoden für den klinischen Alltag zu entwickeln. Ein wichtiger Schritt im Hinblick auf einen klinischen Einsatz der <sup>31</sup>P-Magnetresonanztomographie ist die durch SLOOP mögliche freie Voxelanpassung. Es konnte eine gute Übereinstimmung mit zuvor publizierten spektroskopischen Ergebnissen, sowohl der konventionellen Quantifizierung mit 3D-CSI und AMARES, als auch der absoluten Quantifizierung mittels SLOOP, sowie der beiden Quantifizierungsprogramme untereinander belegt werden.

#### 4.4. Energiestoffwechsel bei Leberzirrhose

In experimentellen Studien konnte belegt werden, dass chronische Ethanolgabe einen Einfluss auf den Energiehaushalt der Leber hat. Brauer et al. [14] konnten an Rattenlebern in vivo nach Ethanolperfusion einen ATP-Abfall bei einem zeitgleichen Anstieg von PDE und P<sub>i</sub> nachweisen [14; 29]. Auch Desmoulin et al. kamen bei der Untersuchung von Rattenlebern nach Alkoholgabe zu dem Ergebnis, dass der ATP-Gehalt sich unter Alkoholfuhr verringert [29]. Seifalian et al. [78] untersuchten Rattenlebern unter hypoxischen Bedingungen und

sahen einen  $\beta$ -ATP-Abfall, welcher mit dem Abfall der Cytochromoxidase (welche ATP synthetisiert und den letzten Elektronencarrier der mitochondrialen Atmungskette darstellt) korreliert. Corbin et al. [24] konnten in Rattenlebern mit chronischem Leberschaden, bei welchen histologisch ein Hepatozytenverlust nachgewiesen wurde, einen signifikanten Abfall der ATP-Konzentration in Korrelation mit signifikanten Veränderungen der Serum-Albumin-Konzentration beobachten.

Es liegt bereits eine Vielzahl von MRS-Untersuchungen des Menschen vor. Diese gliedern sich nach globalen Lebererkrankungen, wie z.B. Fettleber, Hepatitis, primär biliäre Zirrhose und alkoholtoxische Leberzirrhose und lokalisierten Prozessen (z.B. Tumoren). Die Ergebnisse sind nicht immer ganz einheitlich. Meyerhoff et al. [58] und Rajanayagam et al. [75] fanden keine Veränderung der Metabolitenverhältnisse, jedoch eine Abnahme der Absolutkonzentrationen bei alkoholtoxischer Hepatitis und Zirrhose. ATP war in beiden Studien erniedrigt in zirrhotischer Leber. Es konnten keine signifikanten Veränderungen der PME- und Pi-Konzentrationen beobachtet werden.

Demgegenüber stehen die Ergebnisse von Morgan et al. [61] und Menon et al. [56], welche bei Leberzirrhose durchaus auch eine Veränderung in den Verhältnissen der Metabolite feststellen konnten. So kamen diese Arbeitsgruppen zu dem Ergebnis das bei Patienten mit Leberzirrhose das Verhältnis PME/ATP erhöht ist, welches auf Veränderungen in der zirrhotischen Leber, welche mit hepatischer Regeneration assoziiert sind, zurückgeführt wird. Weiterhin konnte ein Anstieg des PDE/ATP-Verhältnisses bei aktivierten Prozessen in der Leber (z.B. aktive Hepatitis; chronischer Alkoholkonsum) gesehen werden, wohingegen das Verhältnis von PDE zu ATP bei Zirrhose eher normal bis erniedrigt war. Daraus wird gefolgert, dass das erhöhte PDE/ATP-Verhältnis eine Induktion des endoplasmatischen Reticulums in den Hepatozyten widerspiegelt.

Lim et al. [51] sahen einen signifikanten Anstieg des PME/PDE-Verhältnisses bei Patienten mit Leberzirrhose, welcher gut mit dem Fibrosierungsgrad korrelierte. Auch Changani et al. [21] konnten eine relative PME-Erhöhung in der Leber von Zirrhosepatienten feststellen. Jedoch kam es, im Gegensatz zu gesunden Probanden, nach einer Infusion von glucogenesestimulierendem L-Alanin, zu keinem weiteren Anstieg der PME-Konzentration. Dies wird einer ausgeschöpften Gluconeogenesekapazität der geschädigten Hepatozyten zugeschrieben.

Die überwiegende Mehrheit der Forschungsgruppen, kommt, in Übereinstimmung zu dieser Studie, zu dem Ergebnis, dass sich bei Zirrhose unterschiedlicher Ätiologie der Energiehaushalt wie folgt verändert: Die PME-Konzentration steigt an, wobei die Konzentrationen von  $P_i$ , PDE,  $\gamma$ -ATP,  $\alpha$ -ATP und  $\gamma$ -ATP abfallen. Dies führt zu dementsprechenden Veränderungen in den Metabolitenverhältnissen [3; 13; 21; 25; 26; 31; 42; 56; 58; 61; 62; 68; 82; 84].

In der vorliegenden Studie konnten, trotz der relativ geringen Anzahl von untersuchten Patienten ( $n=10$ ), signifikante Veränderungen, sowohl in den energiereichen Phosphaten als auch in den Verhältnissen der Metabolite zueinander beobachtet werden, welche sich sehr gut mit den meisten bisherigen Publikationen decken. Es wurde ein signifikanter Anstieg des PME/PDE- sowie des PME/NTP-Verhältnisses gesehen, wohingegen die Verhältnisse  $P_i$ /PME und PDE/NTP signifikant abfielen. Dazu korrelierend fanden sich bei den Absolutkonzentrationen, bis auf die PME-Konzentration, Veränderungen, welche auf eine Reduktion der Werte zurückzuführen waren. Trotz einer starken Erhöhung des PME-Wertes konnte, aufgrund einer hohen Standardabweichung, keine signifikante Änderung bestimmt werden.

Eine Erhöhung des PME wurde sowohl in Tumoren, als auch in Embryos gefunden, welches durchaus ein Hinweis auf eine vermehrte Zellmembranbildung sein könnte [63]. Außerdem konnte PME in Hepatozyten sowie in zirrotischem Material (v.a. hohe Phosphocholinkonzentrationen) nachgewiesen werden. Die  $P_i$ -Abnahme könnte auf den starken  $P_i$ -Verbrauch zur Bildung von PME hinweisen, welcher zeitgleich auch dessen Anstieg erklären würde, oder aber auch auf einen erniedrigten Energiemetabolismus in dem geschädigten Gewebe. Ein Abfall der PDE-Konzentration könnte auf eine Abnahme des endoplasmatischen Retikulums hinweisen. Die in allen genannten Studien gesehene Erniedrigung der ATP-Konzentration lässt vermuten, dass die ATP-Konzentration einen guten Indikator für die Schwere des Leberschadens darstellt. So ist die Reduktion mit einem Hepatozytenverlust, einer verminderten mitochondrialen ATP-Synthese aber auch durch einen erhöhten ATP-Verbrauch durch die Na/K-ATPase zu erklären. Dies macht wiederum eine ATP-Reduktion auch bei aktiven Prozessen, wie z.B. der Hepatitis wahrscheinlich. Diese komplexen Mechanismen verdeutlichen, weshalb die gesehene Veränderungen nicht spezifisch für die verschiedenen Erkrankungen der Leber sein können und warum ähnliche Veränderungen auch für Tumoren der Leber, Hepatitiden verschiedenster Ätiologie und sogar

in der Leber von Tumorpatienten ohne Lebermetastasen beschrieben wurden [9; 28; 30; 53; 61; 69; 79].

Bei dem Versuch eine Korrelation zu klinischen Werten, wie z.B. dem Child-Pugh-Score zu finden, kommen verschiedene Forschungsgruppen zu unterschiedlichen Ergebnissen. So konnten Jalan et al. [42] bei der Untersuchung von primär biliärer Zirrhose eine Korrelation zwischen PME/P<sub>i</sub> und dem Child-Pugh-Score ermitteln, jedoch ist eine solche Korrelation bei der Heterogenität eines Punktesystems wie dem Child-Pugh-Score mit Vorsicht zu betrachten, da er von einer Sammlung von Laborparametern und klinischen Zeichen abhängt und somit auch von extrahepatischen Einflüssen (Diuretikagabe gegen Aszites) beeinflusst wird.

Weder Taylor-Robinson et al. [82] noch Corbin et al. [25] konnten eine Korrelation zwischen der Veränderung der energiereichen Phosphate in der Leber und den klinischen Parametern feststellen. Auch in dieser Arbeit wurde keine solche Korrelation gefunden.

Die Schwierigkeit globale Lebererkrankungen nach klinischen Gesichtspunkten einzuordnen, wird bereits durch die bloße Existenz eines so heterogenen Punktesystems deutlich. Die <sup>31</sup>P-Magnetresonanz-Spektroskopie stellt demnach eine völlig neue Möglichkeit zur Beurteilung und Einteilung von Lebererkrankungen dar. So könnte diese Methode in Zukunft als ein zusätzlicher Indikator für die Schwere des Leberschadens, sowie für die Aktivität der Erkrankung in ein solches Punktesystem integriert werden. Eine weitere wichtige Funktion könnte dieses neue Verfahren in der Verlaufs- und Therapiekontrolle von Lebererkrankungen erfüllen.

#### 4.5. Zusammenfassung und Ausblick

Globale Lebererkrankungen wie die Leberzirrhose spielen vor allem in den Industrienationen eine immer wichtigere Rolle. Die Pathomechanismen, die zur Entstehung der Erkrankung führen, manifestieren sich durch Adaptationsvorgänge oft erst nach jahre- bis jahrzehntelanger Latenz. Es gibt bereits eine Vielzahl von diagnostischen Möglichkeiten und Methoden für die Untersuchung der Leber, dabei bestehen jedoch oft erhebliche Limitationen. Die etablierten Parameter sind oft unspezifisch und greifen erst spät. Die Leberbiopsie, welche bisher das aussagekräftigste diagnostische Mittel darstellt, hat den erheblichen Nachteil der Invasivität. Mit der <sup>31</sup>P-Magnetresonanz-Spektroskopie steht eine nichtinvasive Untersuchungsmethode des hepatischen Stoffwechsels zur Verfügung.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es gewesen, anhand dieser Methode Veränderungen bei alkoholtoxischer Leberzirrhose gegenüber gesunden Probanden und im Vergleich zu klinischen Parametern zu erfassen.

Es konnte gezeigt werden, dass die  $^{31}\text{P}$ -Magnetresonanz-Spektroskopie durch die Verwendung von Lokalisationsverfahren wie 3D-CSI in Kombination mit SLOOP eine große Bedeutung für die zukünftige Diagnostik sowie Verlaufskontrolle von Lebererkrankungen haben könnte. Um diesem Ziel näher zu kommen sind nun jedoch Untersuchungen von Patienten im Verlauf erforderlich. Weiterhin müssen größere Fallzahlen untersucht werden und nicht zuletzt wäre ein Vergleich zwischen verschiedenen globalen Lebererkrankungen sinnvoll, um die auftretenden Veränderungen besser verstehen und somit einschätzen zu können.

## 5. Literatur

1. Abragman A., Principles of nuclear magnetism. Clarendon Press, Oxford (1961)
2. Angus PW, Dixon RM, Rajagopalan B, Ryley NG, Simpson KJ, Peters TJ, Jewell DP, Radda GK. A study of patients with alcoholic liver disease by  $^{31}\text{P}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clinical Science* 1990; 78:33-38
3. Ban N, Moriyasu F, Tamada T, Kawasaki T, Soh Y, Nakamura T, Nishida O, Uchino H. In vivo  $^{31}\text{P}$  MR Spectroscopic Study of Cirrhotic Liver using a whole body MR Imager. *Japanese journal of gastroenterology* 1987; 84:2551-2557
4. Beer M, Landschütz W, Meininger M, Seyfarth T, Viehrig M, Sandstede J, Pabst T, Kenn W, Horn M, Harre K, von Kienlin M, Neubauer S, Hahn D. (1999) Quantifizierung energiereicher Phosphate im gesunden und geschädigtem Herzmuskel mittels SLOOP  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie. *Fortschr Röntgenstr.* 171: 65-68
5. Beer M, Pabst T, Sandstede J, Grünert J, Horn M, Löffler R, Kenn W, von Kienlin M, Neubauer S, Hahn D. Cardiac  $^{31}\text{P}$ -MR-Spectroscopy using a double oblique 3D-CSI-technique. *MAGMA* 1997, 5 II: 143
6. Beer M, Seyfarth T, Sandstede J, Landschütz W, Lipke C, Köstler H, von Kienlin M, Harre K, Hahn D, Neubauer S. Absolute Concentrations of Myocardial High-Energy Phosphate Metabolites in Normal, Hypertrophied and Failing Human Myocardium, Measured Non-Invasively with  $^{31}\text{P}$ -SLOOP-Magnetic Resonance Spectroscopy. *JACC* 2002; 40(7): 1267-1274.
7. Beer M, Pabst T, Seyfarth T, Viehrig M, Sandstede J, Kenn W, Horn M, Bertsch G, Landschütz W, Meininger M, v. Kienlin M, Neubauer S, Hahn D. Bestimmung von NOE-Korrekturfaktoren für die  $^{31}\text{P}$ -Spektroskopie des Herzens. *Fortschr Röntgenstr* 1998; 168: 75
8. Beer M, Viehrig M, Seyfarth T, Sandstede J, Pabst T, Kenn W, Bengsch S, Bertsch G, Horn M, Landschütz W, Meininger M, von Kienlin M, Neubauer S, Hahn D.  $^{31}\text{P}$ -MR-Spectroscopy Before and After Aortic Valve Replacement. *MAGMA* 1998, 6: 191
9. Bell JD, Bhakoo KK. Metabolic changes underlying  $^{31}\text{P}$  MR spectral alterations in human hepatic tumours. *NMR in Biomedicine* 1998; 11:354-359
10. Bell, J. D., I. J. Cox, J. Sargentoni, C. J., C. J. Peden, D. K. Menon, D. J. Bryant, G. A. Coutts, R. A. Iles, D. G. Gadian, I. R. Young, In-vivo and in-vitro MRS study of the PME and the PDE peaks in human liver. In: Book of abstracts, Society of magnetic Resonance in Medicine, Berkeley 1989, p. 599
11. Bloch F., Hansen WW., Packard M., Nuclear induction. *Phys Rev* 1964, 70: 460-474

12. Bottomley PA. MR spectroscopy of the human heart: the status and the challenges. *Radiology* 1994; 191:593-612
13. Bottomley PA. Human in Vivo NMR Spectroscopy in Diagnostic Medicine: Clinical Tool or Research Probe? *Radiology* 1989; 170:1-15
14. Brauer M, Ling M. The Effects of Chronic Ethanol Consumption on the Intact Rat Liver Studied by in vivo  $^{31}\text{P}$  NMR Spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine* 1990; 20:100-112
15. Brinkmann G, Melchert U, Förger K, Wunsch-Binder F, Heidemann H, Engemann R. In-vivo- $^{31}\text{P}$ MRS von Lebererkrankungen. *Fortschr. Röntgenstr.* 1992; 153.2:204-208
16. Brown TR., Kincaid BM., Ugurbil K., NMR chemical shift imaging in three dimensions. *Proc Natl Acad Sci USA* (1982) 79:3523-3526
17. Buchli R, Meier D, Martin E, Boesiger P. Assesment of Absolute Metabolite Concentrations in Human Tissue by  $^{31}\text{P}$  MRS in vivo. Part II: Muscle, Liver, Kidney. *MRM* 1994; 32:453-458
18. Cady EB., Costello AmdeL., Dawson MJ., Delpy DT., Hope PL., Reynolds EOR., Tofts PS., Wilkie DR., Noninvasive investigation of cerebral metabolism in newborn infants by phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Lanceti*: (1983) 1059-1062
19. Changani KK, Barnard ML, Bell JD; Thomas EL, Williams SCR, Bloom SR, Iles RA. In vivo assessment of metabolic perturbations following alanine and glucagon administration using  $^{31}\text{P}$ -MRS in the rat. *Biochimica et Biophysica Acta* 1997; 1335:290-304
20. Changani KK, Ala-Korpela M, Fuller BJ, Mierisova S, Bryant DJ, Taylor-Robinson SD, Davidson BR, Bell JD. Incorporation of metabolite prior knowledge for data analysis: biochemical implications of dynamic  $^{31}\text{P}$  NMR ex vivo pig liver studies. *NMR in Biomedicine* 1999; 12:197-204
21. Changani KK, Jalan R, Cox IJ, Ala-Korpela M, Bhakoo K, Taylor-Robinson SD, Bell JD. Evidence for altered hepatic gluconeogenesis in patients with cirrhosis using in vivo  $^{31}\text{P}$ -phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Gut* 2001; 49:557-564
22. Cohen SM. Application of Nuclear Magnetic Resonance to the Study of Liver Physiology and Disease. *Hepatology* 1983; 3 :738-749
23. Cohen SM.  $^{13}\text{C}$  and  $^{31}\text{P}$  NMR studies of hepatic metabolism in two experimental models of diabetes. *Ann. N.Y.. Acad. Sci.* 1987; 508:109
24. Corbin IR, Buist R, Peeling J, Zhang M, Uhanova J, Minuk GY. Hepatic  $^{31}\text{P}$ -MRS in rat models of chronic liver disease: assessing the extent and progression of disease. *Gut* 2003; 52 : 1046-1053

25. Corbin IR, Ryner LN, Singh H, Minuk Y. Quantitative hepatic phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy in compensated and decompensated cirrhosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G379-G384
26. Cox IJ, Changani KK, Taylor-Robinson SD. Hepatic MRS approaches routine use. *Diagnostic Imaging Europe* 1999; 21-35
27. Cox IJ, Coutts GA, Gadian DG, Ghosh P, Sargentoni J, Young IR. Saturation Effects in Phosphorus-31 Magnetic Resonance Spectra of the Human Liver. *Magnetic Resonance in Medicine* 1991; 17, 53-61
28. Dagnelie PC, Sijens PE, Kraus DJA, Planting AST, van Dijk P. Abnormal liver metabolism in cancer patients detected by <sup>31</sup>P MR spectroscopy. *NMR in Biomedicine* 1999; 12:535-544
29. Desmoulin F, Canioni P, Crotte C, Gerolami A, Cozzone PJ. Hepatic Metabolism during Acute Ethanol Administration: A Phosphorus-31 Nuclear Magnetic Resonance Study on the Perfused Rat Liver under Normoxic or Hypoxic Conditions. *Hepatology* 1987; 7:315-323
30. Dixon RM, Angus PW, Rajagopalan B, Radda GK. Abnormal phosphomonoester signals in <sup>31</sup>P MR spectra from patients with hepatic lymphoma. A possible marker of liver infiltration and response to chemotherapy. *Br. J. Cancer* 1991; 63:953-958
31. Dufour J-F, Stoupis C, Lazeyras F, Vock P, Terrier F, Reichen J. Alterations in Hepatic Fructose Metabolism in Cirrhotic Patients Demonstrated by Dynamic 31 Phosphorus Spectroscopy. *Hepatology* 1992; 15: 835-842
32. Du Mesnil de Rochemont. Bildgesteuert lokalisierte <sup>31</sup>P-NMR-Spektroskopie der menschlichen Leber. Dissertation, Universität zu Köln (1993)
33. Frahm J., Merboldt KD., Hänicke W., Haase A., Stimulated echo imaging. *J Magn Reson* (1985) 64 81-93
34. Gadian DG, Radda GK, Richards RE, Seeley PJ. <sup>31</sup>P NMR in living tissue: The road from a promising to an important tool in biology. In: Shulman, RG (Hg): *Biological Applications of Magnetic Resonance*. Academic Press, New York/London 1979; 530-535
35. Gasbarrini A, Caraceni P, Bernardi M; facchini A, Gasbarrini G, Farghali H, Borle AB, Van Thiel DH. Biochemical and <sup>31</sup>P-NMR Spectroscopic Evaluation of immobilized perfused Rat Hepatocytes. Relation to the Nutritional Status. *Gut Abstracts* 1993; OII/6 1245
36. Gordon RE., Ordidge RJ., Stimulated echo technique and the spin echo technique. *Book of abstracts Society of Magnetic Resonance in Medicine* (1984)1: 272



37. Hardy CJ, Bottomley PA, Rohling KW, Roemer PB. An NMR phased array for human cardiac <sup>31</sup>P spectroscopy. *Magn Reson Med* 1992; 28:54-64
38. Heindel W. Lokalisierte in vivo NMR-Spektroskopie. Georg Thieme Verlag Stuttgart-New York (1993)
39. Heindel W, du Mesnil de Rochemont R, Kugel H, Ernst S, Tesch H, Diehl V, Lackner K. <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopie der menschlichen Leber – spektrale Hinweise auf eine Lymphominfiltration. *Fortschr. Röntgenstr.* 1997; 167.1:62-70
40. Hultman E, Nilsson LH, Sahlin K. Adenine nucleotide content of human liver. Normal values and fructose-induced depletion. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 1975; 35:245-251
41. Iles RA, Stevens AN, Griffiths JR, Morris PG. Phosphorylation status of liver by <sup>31</sup>P-n.m.r. spectroscopy, and its implications for metabolic control. A comparison of <sup>31</sup>P-n.m.r. spectroscopy ( in vivo and in vitro) with chemical and enzymic determinations of ATP,ADP and Pi. *Biochem. J.* 1985; 229:141-151
42. Jalan R, Sargentoni J, Coutts GA, Bell JD, Rolles K, Burroughs AK, Taylor-Robinson SD. Hepatic phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy in primary biliary cirrhosis and its relation to prognostic models. *Gut* 1996; 39:141-146
43. von Kienlin M, Rösch C, Le Fur Y, Behr W, Roder F, Haase A, Horn M, Illing B, Hu K, Ertl G, Neubauer S. Three-dimensional <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopic imaging of regional high-energy phosphate metabolism in injured rat heart. *Magn Reson Med* 1998; 39: 731-741
44. von Kienlin M, Mejia R. Spectral localization with optimal pointspread function. *Magn Reson Med* 1991; 94:268-287
45. Kimmich R, Schnur G, Hoepfel D, Ratzel D. Volume-selective multi-pulse spin-echo spectroscopy and selective suppression of spectral lines. *Phys Med Biol* 1987; 10:1335-1343
46. Kimmich, R. and Hoepfel, D. (1987) Volume selective multipulse spin-echo spectroscopy. *J. Magn Reson.* 72:379-384
47. Lamb HJ, Beyerbach HP, R. O, Doombos J, B.M. P, van der Wall EE, van der Laarse A, de Roos A. Metabolic response of normal human myocardium to high-dose atropine-dobutamine stress studied by <sup>31</sup>P-MRS. *Circulation* 1997; 96:2969-2977
48. Landschütz W, Meininger M, Beer M, Seyfarth T, Horn M, Pabst T, Haase A, Hahn D, Neubauer S, von Kienlin M. Concentration of human cardiac <sup>31</sup>P-metabolites determined by SLOOP <sup>31</sup>P-MRS. *MAGMA* 1998; 6:155

49. Lauterbur PC., Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance. *Nature*(1937) 242: 438-439
50. Lieber CS. Alcohol and the Liver: 1984 Update. *Hepatology* 1984; 4:1243-1260
51. Lim AKP, Patel N, Hamilton G, Hajnal JV, Goldin RD, Taylor-Robinson SD. The Relationship of in Vivo  $^{31}\text{P}$  MR Spectroscopy to Histology in Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 2003; 37:788-794
52. Löffler R, Sauter R, Kolem H, Haase A, von Kienlin M. Localized Spectroscopy from Anatomically Matched Compartments: Improved Sensitivity and Localization for Cardiac  $^{31}\text{P}$  MRS in Humans. *J Magn Reson* 1998; 134:287-299
53. Mann DV, Lam WWM, Hjelm NM, So NMC, Yeung DKW, Metreweli C, Lau WY. Metabolic Control Patterns in Acute Phase and Regenerating Human Liver Determined In Vivo by 31-Phosphorus Magnetic Resonance Spectroscopy. *Annals of Surgery* 2002; 235: 408-416
54. Meininger M, Landschütz W, Beer M, Seyfarth T, Bertsch G, Sandstede J, Pabst T, Horn M, Haase A, Hahn D, von Kienlin M, Neubauer S. Nichtinvasive Messung der Absolutkonzentrationen der energiereichen Phosphate am gesunden und insuffizienten menschlichen Myokard mit  $^{31}\text{P}$ -SLOOP-MRS. *Z Kardiol* 1999; 88:278
55. Meininger M, Landschütz W, Beer M, Seyfarth T, Horn M, Pabst T, Haase A, Hahn D, Neubauer S, von Kienlin M. Concentrations of human cardiac phosphorus metabolites determined by SLOOP  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy. *Magn Reson Med* 1999; 41:657-663
56. Menon DK, Sargentoni J, Taylor-Robinson SD, Bell JD, Cox IJ, Bryant DJ, Coutts GA, Rolles K, Burroughs AK, Morgan MY. Effect of Functional Grade and Etiology on In Vivo Hepatic Phosphorus-31 Magnetic Resonance Spectroscopy in Cirrhosis: Biochemical Basis of Spectral Appearances. *Hepatology* 1995; 21: 417-427
57. Meyerhoff DJ, Karczmar GS, Matson GB, Boska MD, Weiner MW. Non-invasive Quantitation of Human Liver Metabolites Using Image-guided  $^{31}\text{P}$  Magnetic Resonance Spectroscopy. *NMR in Biomedicine* 1990; 3 :17-22
58. Meyerhoff DJ, Karczmar GS, Weiner MW. Abnormalities of the Liver Evaluated by  $^{31}\text{P}$ -MRS. *Investigative Radiology* 1989; 24: 980-984
59. Mierisova S, Ala-Korpela M. MR spectroscopy quantitation: a review of frequency domain methods. *NMR in Biomedicine* 2001; 14:247-259
60. Moon RB, Richards JH. Determination of intracellular pH by  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance. *J Biol Chem.* 1973;248:7276-8

61. Morgan MY, Menon DK, Harris M, Sargentoni J, Cox IJ. Hepatic Phosphorus-31 Magnetic Resonance Spectroscopy in Individuals chronically abusing alcohol. *Clin.Sci.* 1991; Abstract;80:2P
62. Munakata T, Griffiths RD, Martin PA, Jenkins SA, Shields R, Edwards RHT. An In Vivo <sup>31</sup>P MRS Study of Patients with Liver Cirrhosis: Progress towards a Non-invasive Assessment of Disease Severity. *NMR in Biomedicine* 1993; 6:168-172
63. Negendank WG. Studies of Human Tumors by MRS: a Review. *NMR in Biomedicine* 1992; 5:303-324
64. Negendank WG, Padavic-Shaller KA, Li C-W, Murphy-Boesch J, stoyanova R, Krigel RL, Schilder RJ, Smith MR, Brown TR. Metabolic Characterization of Human Non-Hodgkin's Lymphomas in Vivo with the Use of Proton- decoupled Phosphorus Magnetic Resonance Spectroscopy. *Cancer Research* 1995; 55:3286-3294
65. Neubauer S, Hamman BL, Perry SB, Bittl JA, Ingwall JS. Velocity of the creatine kinase reaction decreases in postischemic myocardium: a <sup>31</sup>P-NMR magnetization transfer study of the isolated ferret heart. *Circ Res* 1988; 63:1-15
66. Neubauer S, Horn M, Pabst T, Harre K, Strömer H, Bertsch G, Sandstede J, Ertl G, Hahn D, Kochsiek K. Cardiac high-energy phosphate metabolism in patients with aortic valve disease assessed by <sup>31</sup>P-magnetic resonance spectroscopy. *J Investig Med* 1997; 45:453-462
67. Neubauer S, Ingwall JS. Verapamil attenuates ATP depletion during hypoxia: <sup>31</sup>P NMR studies of the isolated rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1989; 21:1163-78
68. Oberhaensli RD, Rajagopalan B, Galloway GJ, Taylor DJ, Radda GK. Study of human liver disease with P-31 magnetic resonance spectroscopy. *Gut* 1990; 31:463-467
69. Oberhaensli RD, Galloway GJ, Taylor DJ, Bore PJ, Radda GK. Assessment of human liver metabolism by phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy. *The British Journal of Radiology* 1986; 59:695-699
70. Ordidge RJ, Connely A, Lohmann JAB. Image selected in vivo spectroscopy (ISIS). A new technique for spatial selective NMR Spectroscopy. *J Magn Resonance* 1986; 66: 283-294
71. Orrego H, Israel Y, Blendis LM. Alcoholic Liver Disease: Information in Search of Knowledge? *Hepatology* 1981; 1:267-283
72. Podolsky DK, Isselbacher KJ. Alcohol-related liver disease and cirrhosis. In: Isselbacher K.J., Braunwald E., Wilson J.D., et al., eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 13th ed. New York: McGraw-Hill 1994; 1483-1495

73. Purcell EM, Torrey HC, Pound RV. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Phys Rev* 1964, 69: 37-38
74. Rabi II, Millman S, Kusch P, Zacharias JR. The molecular beam resonance method for measuring nuclear magnetic moments. *Phys Rev* 55:526-535 (1339)
75. Rajanayagam V, Lee RR, Ackermann Z, Bradley WG, Ross BD. Quantitative P-31 MR Spectroscopy of the Liver in Alcoholic Cirrhosis. *Journal of magnetic resonance imaging* 1992; 2:183-190
76. Rajagopalan B, Blackledge MJ, McKenna WJ, Bolas N, Radda GK. Measurement of phosphocreatine to ATP ratio in normal and diseased human heart by <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy using the rotating frame-depth selection technique. *Ann N Y Acad Sci* 1987; 508:321-32
77. Schilling A, Gewiese B, Stiller D, Römer T, Wolf K-J. Einfluß der Ernährungslage auf das <sup>31</sup>P-MR-Spektrum der gesunden Leber. *Fortschr. Röntgenstr.*1990; 153.4:369-372
78. Seifalian AM, El-Desoky E-H, Delpy DT, Davidson BR. Effect of graded hypoxia on the rat hepatic tissue oxygenation and energy metabolism monitored by near infrared and <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *FASEB J.* 2001; 15: 2642-2648
79. Semmler W, Gademann G, Bachert-Baumann P, Zabel H-J, Lorenz WJ, van Kaick G. Monitoring Human Tumor Response to Therapy by Means of P-31 MR Spectroscopy. *Radiology* 1988;166:533-539
80. Seyfarth T. Quantitative MRS des menschlichen Herzens. Klinische Etablierung der SLOOP <sup>31</sup>P MRS Methode und Anwendung am Patienten. Dissertation, Universität zu Würzburg (2000)
81. Sijens PE, Dagnelie PC, Halfwerk S, van Dijk P, Wicklow K, Oudkerk M. Understanding the discrepancies between <sup>31</sup>P MR spectroscopy assessed liver metabolite concentrations from different institutions. *Magnetic Resonance Imaging* 1998; 16:205-211
82. Taylor-Robinson SD, Sargentoni J, Bell JD, Saced N, Changani KK, Davidson BR, Rolles K, Burroughs AK, Hodgson HJF, Foster CS, Cox IJ. In vivo and in vitro hepatic <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy and electron microscopy of the cirrhotic liver. *Liver* 1997; 17:198-209
83. Vanhamme L, van den Boogaart A, van Huffel S. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. *J Magn Reson* 1997; 129: 35-43
84. Van Wassenae-van Hall HN, van der Grond J, van Hattum J, Kooijman C, Hoogenraad TU, Mali WPTM. <sup>31</sup>P Magnetic Resonance Spectroscopy of the Liver: Correlation With

Standardized Serum, Clinical, and Histological Changes in Diffuse Liver Disease.  
Hepatology 1995; 21: 443-449

## Abkürzungsverzeichnis

1D	1-dimensional
2D	2-dimensional
3D	3-dimensional
ATP	Adenosintriphosphat
CSI	Chemical Shift Imaging
FID	freier induzierter Zerfall, free induction decay
FOV	Field of View
FT	Fouriertransformation
MR	Magnetresonanz
MRI	Magnetresonanz Imaging
MRS	Magnetresonanz Spektroskopie
MRT	Magnetresonanz Tomographie
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NTP	mittleres ATP
PCr	Phosphokreatin
PDE	Phosphordiester
Pi	anorganisches Phosphor
PME	Phosphormonoester
PPA	Phenylphosphorsäure
ppM	parts per million ( $10^{-6}$ )
RFS	Resonanzfrequenzspektrum
SD	Standardabweichung
SNR	Signal zu Rausch Verhältnis, signal to noise ratio
T	Tesla
Voxel	Untersuchungsvolumen, Volume of interest

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich in erster Linie ganz herzlich bei meinen Eltern bedanken, die mich seelisch, moralisch und nicht zuletzt finanziell unterstützt haben und ohne die die Erstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Herrn Prof. Dr. D. med. Hahn danke ich herzlich für die Überlassung des Themas. Weiterhin danke ich Priv. Doz. Dr. med. M. Beer und Dr. H. Koestler für ihre tatkräftige Unterstützung und Priv. Doz. Dr. med. H. Lührs für die gute Zusammenarbeit und die Zusendung des Patientengutes.





## **Lebenslauf**

### *Persönliche Daten:*

Name: Katrin Schubert

Geburtsdatum: 29.03.1976

Familienstand: ledig

### *Schulische Ausbildung:*

September 1982 – Juli 1986

Jean-Paul-Grundschule  
(Schwarzenbach/Saale)

September 1986 – Juli 1995

Johann-Christian-Reinhart-Gymnasium  
(Hof/Saale)

### *Studium:*

November 1995 – November 2002

Humanmedizin an der Julius-  
Maximiliansuniversität (Würzburg)

September 1997

Ärztliche Vorprüfung

August 1998

Erstes Staatsexamen

März 2001

Zweites Staatsexamen

November 2002

Drittes Staatsexamen

### *Praktisches Jahr:*

Oktober 2001- Februar 2002

Innere Medizin, Juliusspital Würzburg

Februar 2002 – Juni 2002

Psychiatrie, Universitätsklinik Würzburg

Juni 2002 – September 2002

Chirurgie, Universitätsklinik Würzburg

### *Ärztin im Praktikum:*

Juni 2003 – September 2004

Städtische Kliniken Frankfurt am Main-  
Höchst, Priv. Doz. Dr. med. Koch, Innere  
Abteilung 4

### *Assistenzärztin:*

Oktober 2004 bis Oktober 2005

Städtische Kliniken Frankfurt am Main-  
Höchst, Priv. Doz. Dr. med. Koch, Innere  
Abteilung 4

seit November 2005

Kliniken Hochfranken – Münchberg, Innere  
Abteilung, Dr. med. Schweikert



**Antrag** an das Dekanat der Medizinischen Fakultät,  
Josef-Schneider-Str. 2/D7, 97080 Würzburg

Name: Schubert  
Vorname: Katrin  
Strasse: Eschenweg 22  
Postleitzahl und Ort: 65126 Schwarzenbach/Saale

Telefon privat: 09284/439408  
Telefon dienstl.: 09251/18720

Geb. am: 29.03.1976  
Geb. in: Hof/Saale

Titel der Arbeit: 31-P-Magnetresonanztomographie der menschlichen Leber

Erstellt im Institut für Röntgendiagnostik der Universität Würzburg

Ich beantrage die Zulassung zur Promotion zum Dr. med.

#### **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, dass ich die Dissertation selbstständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation wurde weder vollständig noch teilweise einer anderen Fakultät vorgelegt, ist dem Ziel einen akademischen Grad zu erwerben.

Ich habe noch nie versucht, einen akademischen Grad zu erwerben, es wurde mir auch kein solcher entzogen.

Gegen mich ist kein strafrechtliches Ermittlungsverfahren oder Disziplinarverfahren eingeleitet,

Referent: Prof. Dr. med. D. Hahn  
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. H. Lührs

Schwarzenbach/Saale, den 11.02.2006

Katrin Schubert





