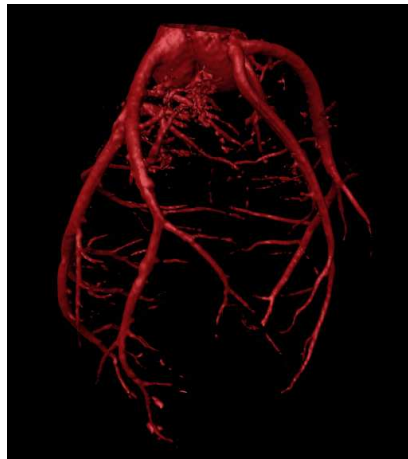


Entwicklung hochaufgelöster
NMR-Methoden zur morphologischen
und funktionellen Charakterisierung
des Herzmuskels



DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES
NATURWISSENSCHAFTLICHEN DOKTORGRADES
DER BAYERISCHEN JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT
WÜRZBURG

vorgelegt
von
Sascha Köhler
aus Bad Kissingen

Würzburg 2003

Eingereicht am:
bei der Fakultät für Physik und Astronomie

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. A. Haase
2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. P. M. Jakob
der Dissertation

1. Prüfer: Prof. Dr. rer. nat. A. Haase
2. Prüfer: Prof. Dr. rer. nat. W. Kinzel
der mündlichen Prüfung

Tag der mündlichen Prüfung:
Doktorurkunde ausgehändigt am:

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1 Grundlagen	5
1.1 Physikalische Grundlagen	5
1.1.1 Magnetische Kernresonanz	5
1.1.2 NMR-Bildgebung	8
1.1.3 Gradientenecho- und Spinecho-Bildgebung	10
1.1.4 Magnetische Suszeptibilität in der NMR-Bildgebung	12
1.2 Physiologische Grundlagen	14
1.2.1 Anatomie und Physiologie des Herzmuskels	14
1.2.2 Faserstruktur des Herzmuskels	15
2 Material	19
2.1 NMR-Tomograph	19
2.1.1 Spektrometer AMX500	19
2.1.2 HF-Spule	19
2.2 Modell des isolierten Rattenherzens	20
2.2.1 Herzpräparation	20
2.2.2 Infarkt- und Stenosemodell	21
2.2.3 Histologie	22
3 NMR-Untersuchung der Koronararterien	23
3.1 Motivation	23
3.2 Theoretische Grundlagen	24

3.2.1	Flusskompensation und Flusskodierung	24
3.2.2	Time-of-Flight-Effekt	26
3.3	Material und Methoden	26
3.3.1	Material	26
3.3.2	3D-TOF-Angiographie	27
3.3.3	Phasenkontrast-Flussmessung	28
3.4	Ergebnisse	29
3.4.1	Koronarangiographie	29
3.4.2	Flussmessung am Phantom	29
3.4.3	Flussmessung am intakten Koronargefäß	31
3.4.4	Flussmessung am stenotischen Koronargefäß	33
3.5	Diskussion	34
3.6	Ausblick	35
4	NMR-Mikroskopie am Herzmuskel mittels T_2^*-Bildgebung	37
4.1	Motivation	37
4.2	Theoretische Grundlagen	38
4.3	Material und Methoden	42
4.3.1	Material	42
4.3.2	T_2^* -Messung	42
4.3.3	Quantifizierung von T_2^* -Effekten	43
4.4	Ergebnisse	44
4.4.1	Messungen am intakten Herzen	44
4.4.2	Messungen am chronisch infarzierten Herzen	47
4.5	Diskussion	48
4.6	Ausblick	52
5	Diffusionsbildgebung am Herzmuskel	55
5.1	Motivation	55
5.2	Theoretische Grundlagen	56
5.3	Material und Methoden	61

5.3.1	Material	61
5.3.2	Diffusionsgewichtete Bildgebung	61
5.3.3	Diffusionstensor-Bildgebung	61
5.4	Ergebnisse	63
5.4.1	Diffusionsgewichtete Bildgebung	63
5.4.2	Diffusionstensor-Bildgebung	64
5.5	Diskussion	67
5.6	Ausblick	71
6	NMR-Mikroskopie am Herzmuskel mittels TrueFISP-Bildgebung	73
6.1	Motivation	73
6.2	Theoretische Grundlagen	74
6.3	Material und Methoden	77
6.4	Ergebnisse	78
6.4.1	NMR-Mikroskopie an biologischen Proben	78
6.4.2	NMR-Mikroskopie am isolierten Herzen	80
6.5	Diskussion und Ausblick	83
7	Untersuchungen zum Kontrastverhalten von TrueFISP	87
7.1	Motivation	87
7.2	Theoretischer Ansatz	88
7.3	Simulationen	89
7.4	Ergebnisse	92
7.5	Diskussion	93
7.6	Ausblick	97
	Zusammenfassung	99
	Literaturverzeichnis	103

Einleitung

Den Grundstein für die Entwicklung der Magnetresonanztomographie (MRT) legten 1946 die beiden Physiker Felix Bloch und Edward Mills Purcell mit der Entdeckung der magnetischen Kernresonanz (*Nuclear Magnetic Resonance*, NMR) [Blo46][Pur46] und erhielten hierfür im Jahre 1952 den Physik-Nobelpreis. Zunächst entwickelte sich die magnetische Kernresonanz zum wichtigen Hilfsmittel in der Strukturaufklärung von Molekülen (NMR-Spektroskopie) und bescherte Richard Ernst 1991 sowie Kurt Wüthrich 2002 jeweils den Nobelpreis für Chemie. Doch bereits Ende der sechziger Jahre gab es Ideen, das neue Verfahren auch für die Medizin zu nutzen. 1971 zeigte der Mathematiker und Mediziner Raymond Damadian mit spektroskopischen *ex vivo* Experimenten, dass sich Tumorgewebe aufgrund veränderter T_1 - und T_2 -Relaxationszeiten nachweisen lässt [Dam71]. Einen entscheidenden Durchbruch auf dem Weg zur klinischen Bildgebung gelang Paul Lauterbur im Jahr 1973. Durch die Einführung von Gradienten, die die Stärke des Magnetfeldes kontrolliert veränderten, konnte der Chemiker mit Hilfe der Projektions-Rekonstruktion zweidimensionale Bilder wassergefüllter Glaskapillaren erzeugen [Lau73]. Der Physiker Peter Mansfield entwickelte die Idee der Anwendung von Gradienten im Magnetfeld weiter. Er zeigte, wie die Signale schnell analysiert werden können [Man73]. Dies ermöglichte die Entwicklung einer anwendbaren Abbildungstechnik. Darüber hinaus erfand Mansfield ein sehr schnelles Bildgebungsverfahren (*Echo Planar Imaging*, EPI) [Man77], was jedoch erst ca. zehn Jahre später technisch und praktisch für die Medizin realisiert werden konnte. Inzwischen gehört die MRT zu den wichtigsten Diagnoseverfahren in der Medizin. Da Lauterbur und Mansfield maßgeblich zur Entwicklung dieses bildgebenden Verfahrens beigetragen haben, wurden sie mit dem diesjährigen Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet.

Mit der MRT werden heute fast alle wichtigen Organe des menschlichen Körpers untersucht. Hierbei stellt die Herzbildgebung immer noch eine große Herausforderung dar, da ein sich bewegendes Organ abgebildet werden muss. Die angrenzende Lunge sorgt für einen großen Sprung in der magnetischen Suszeptibilität zwischen Herz- und Lungengewebe und führt so zu einer makroskopischen Feldinhomogenität, die sich negativ auf die Bildqualität auswirkt.

Für eine umfassende Diagnose der koronaren Herzerkrankung, die in der heutigen Ge-

sellschaft vor allem in den Industrieländern extrem häufig auftritt, ist es von großer Wichtigkeit, Aussagen über die Versorgung des Herzmuskels mit sauerstoff- und nährstoffhaltigem Blut zu gewinnen. Ablagerungen in den Herzkranzgefäßen können zu einer Gefäßverengung (Stenose) oder zu einem vollständigen Verschluss des Gefäßes führen. Es kommt zu einem Herzinfarkt. Die Folge ist eine Unterversorgung des Herzmuskels. Das Muskelgewebe verliert seine Kontraktionsfähigkeit und stirbt schließlich ab. Konventionell wird in der klinischen Routine der Status der Koronargefäße nach Injektion eines Kontrastmittels mit Hilfe eines Herzkatheters und unter Röntgenkontrolle untersucht. Die Koronarangiographie mittels NMR ist immer noch ein schwieriges Unterfangen, da für eine genaue Detektion einer Stenose oder eines vollständigen Gefäßverschlusses kleine, sich bewegende Gefäße hochaufgelöst abgebildet werden müssen. Auch für eine Charakterisierung des Flussverhaltens in diesen kleinen Gefäßen und insbesondere in Gefäßen, die eine Querschnittsverengung aufweisen, ist eine extrem hohe Ortsauflösung unverzichtbar.

Der morphologische Aufbau des Herzmuskels ist für die Funktionsweise und somit für die Elektromechanik des Herzens von grundlegender Bedeutung. Strukturelle Veränderungen, wie sie nach einem Herzinfarkt auftreten, beeinflussen die Kontraktionsfähigkeit des Herzmuskels. Für eine umfassende Herzinfarkt-Diagnose und für die weitere Therapieplanung sind Untersuchungstechniken, die diese morphologischen Veränderungen darstellen können, von großer Relevanz. Zur strukturellen Untersuchung biologischer Objekte stehen der MRT neben der Bestimmung von Relaxationszeitparametern auch die Abbildung von Diffusionseffekten zur Verfügung. Die Diffusion reflektiert direkt die Beweglichkeit von Molekülen und gibt somit Aufschluss über biologische Mikrostrukturen. Die MRT stellt heute das einzige Verfahren dar, mit dem molekulare Diffusionsprozesse *in vivo* quantitativ bestimmt werden können. Jedoch bildet auch hier die Anwendung am Herzen aufgrund der kontinuierlichen Herzbewegung eine methodische und technische Herausforderung.

In der kardiologischen Grundlagenforschung leisten Tiermodelle einen unverzichtbaren Beitrag bei der Klärung der Mechanismen der koronaren Herzkrankheit und bei der Bewertung neuer Therapieverfahren. Diese Tiermodelle stellen in Bezug auf Orts- und Zeitauflösung hohe Anforderungen an die MRT. Das Modell des isolierten Rattenherzens findet sowohl in der physiologischen Grundlagenforschung als auch bei der Entwicklung neuer Messverfahren Anwendung. Der Vorteil besteht in einer höheren Messempfindlichkeit, im Wegfall der Atembewegung und makroskopischer Inhomogenitäten aufgrund der fehlenden Grenzfläche zwischen Herz und Lunge. Weiterhin ist das isolierte Herz leichter kontrollierbar und gezielter manipulierbar als bei Experimenten am Tier *in vivo*.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, neue Messverfahren zu entwickeln, die eine umfassende Charakterisierung des Herzmuskels ermöglichen. Sowohl die Morphologie

als auch die Funktion und der Gefäßstatus sollen am intakten und am krankhaft veränderten isolierten Herzmuskel der Ratte mit NMR-Mikroskopietechniken untersucht werden. Hierfür unerlässlich ist die Implementierung einer Angiographie-Technik, die es erlaubt, in einer relativ kurzen Messzeit mögliche Stenosen oder Gefäßverschlüsse eindeutig nachzuweisen. Nach einer erfolgreichen Lokalisation von Gefäßverengungen am stenotischen Herzen soll das Flussverhalten in diesem Gefäßabschnitt analysiert und die Frage beantwortet werden, ob die Verringerung der Querschnittsfläche mit einem Anstieg der Flussgeschwindigkeit korreliert ist und somit den Stenosegrad widerspiegelt. Zur Untersuchung von Muskelfaserstrukturen wird gewöhnlich die Diffusionsbildgebung verwendet. Da diese Technik sehr zeitaufwendig und darüberhinaus bei bewegten Objekten nur schwer zu realisieren ist, soll im Rahmen dieser Arbeit ein neuer Ansatz zur Visualisierung von Mikrostrukturen auf Anwendbarkeit am schlagenden Herzen geprüft und mit der Histologie hinsichtlich Aussagekraft verglichen werden. Die zentrale Idee hierbei ist, dass biologisches Gewebe aufgrund einer heterogenen Suszeptibilitätsverteilung lokale Magnetfeldinhomogenitäten erzeugt, die sich auf die T_2^* -Relaxationszeit auswirken. Somit sollte die T_2^* -Bildgebung bei entsprechend hoher räumlicher Auflösung ein Abbild biologischer Mikrostrukturen liefern. Darüber hinaus sollen SNR-effiziente Bildgebungstechniken, wie zum Beispiel SSFP-Sequenzen (*Steady-State Free Precession*, SSFP), auf ihre Anwendbarkeit in der NMR-Mikroskopie getestet werden.

Kapitel 1

Grundlagen

1.1 Physikalische Grundlagen

1.1.1 Magnetische Kernresonanz

Das Phänomen der magnetischen Kernresonanz (*Nuclear Magnetic Resonance*, NMR) lässt sich sowohl mit Hilfe der Quantenmechanik als auch mit der klassischen Mechanik beschreiben.

Quantenmechanische Beschreibung

Atomkerne mit ungerader Anzahl an Protonen und Neutronen besitzen einen nicht verschwindenden Gesamtdrehimpuls, den Kernspin \vec{I} , und ein damit verbundenes magnetisches Dipolmoment $\vec{\mu}$:

$$\vec{\mu} = \gamma \cdot \vec{I}. \quad (1.1)$$

Das gyromagnetische Verhältnis γ ist eine kernspezifische Konstante und beträgt für Protonen $\gamma/2\pi = 42.577 \text{ MHz/T}$. Der Betrag des Kernspins wird mit der Spinquantenzahl I beschrieben, die nur halb- oder ganzzahlige Werte annehmen kann. Bezüglich einer festen Richtung, beispielsweise der z -Richtung, kann der Kernspin $2I + 1$ diskrete Orientierungen einnehmen. Hierbei gibt die magnetische Quantenzahl m den Betrag der z -Komponente des Kernspins an. Für Spin- $\frac{1}{2}$ -Kerne, wie zum Beispiel Protonen, kann m die Werte $\pm\frac{1}{2}$ annehmen.

Befindet sich der Kernspin in einem statischen Magnetfeld $\vec{B}_0 = B_0 \cdot \vec{e}_z$, bewirkt die Zeeman-Wechselwirkung eine Aufspaltung der ursprünglich entarteten Zustände in $2I + 1$ Energieniveaus:

$$E_m = -\gamma \cdot \hbar \cdot B_0 \cdot m, \quad (1.2)$$

mit dem Plankschen Wirkungsquantum $\hbar = h/2\pi$. Der Abstand benachbarter Energieniveaus ergibt sich damit zu

$$\Delta E = \gamma \cdot \hbar \cdot B_0. \quad (1.3)$$

Die Besetzung der beiden Energieniveaus im thermischen Gleichgewicht wird durch die Boltzmann-Verteilung beschrieben. Bei Zimmertemperatur und einer Magnetfeldstärke von $B_0 = 11.75$ T ergibt sich für Protonen eine geringe Überbesetzung des niedrigeren Energieniveaus. Daraus resultiert eine makroskopische Magnetisierung \vec{M}_0 :

$$\vec{M}_0 = \frac{\rho \cdot \gamma^2 \cdot \hbar^2}{4 \cdot k_B \cdot T} \cdot \vec{B}_0, \quad (1.4)$$

wobei ρ die Spindichte, k_B die Boltzmann-Konstante und T die absolute Temperatur der Probe bezeichnet.

Durch zeitlich veränderliche Magnetfelder \vec{B}_1 in der xy-Ebene können Übergänge zwischen benachbarten Energieniveaus induziert werden. Hierbei muss die Energie der eingestrahelten Welle dem energetischen Abstand der benachbarten Energieniveaus entsprechen. Somit lautet die Bedingung für magnetische Kernresonanz:

$$\Delta E = \hbar \cdot \omega_0 = \hbar \cdot \gamma \cdot B_0. \quad (1.5)$$

Die Resonanzfrequenz ω_0 , die auch als Larmor-Frequenz ω_L bezeichnet wird, liegt für gängige B_0 -Magnetfeldstärken im Bereich der Hochfrequenzen (HF). Deshalb wird das zeitlich veränderliche \vec{B}_1 -Feld auch als HF-Feld bezeichnet.

Klassische Beschreibung

Im klassischen Vektorbild präzediert die makroskopische Magnetisierung \vec{M}_0 mit der Larmor-Frequenz $\omega_L = \gamma \cdot B_0$ um die z-Achse. Die Komponenten der Magnetisierung in der xy-Ebene sind Null, da sich die Beiträge der einzelnen Spins ausmitteln. Durch Anwendung eines senkrecht zu \vec{B}_0 orientierten magnetischen Wechselfeldes der Stärke B_1 und Frequenz ω_L kann die Magnetisierung aus der z-Richtung ausgelenkt werden. Das magnetische Wechselfeld wirkt auf die mit der gleichen Frequenz präzedierenden Spins wie ein stationäres Magnetfeld. Die Spins beginnen mit der Frequenz $\omega_1 = \gamma \cdot B_1$ um die Richtung von \vec{B}_1 zu präzedieren. Abhängig von Stärke B_1 und Dauer t_P des HF-Pulses stellt sich zwischen der Magnetisierung und dem \vec{B}_0 -Feld ein bestimmter Winkel ein, der als Anregungswinkel bezeichnet wird:

$$\alpha = \gamma \cdot \int_0^{t_P} B_1(t) \cdot dt. \quad (1.6)$$

Ein 90° -Puls dreht die ursprünglich in z-Richtung orientierte Magnetisierung vollständig in die xy-Ebene und ein 180° -Puls invertiert sie. Hierbei legt die Anfangsphase des \vec{B}_1 -Feldes im ruhenden System die so genannte Pulsphase fest. Sie bestimmt, um welche Achse die Magnetisierung im rotierenden System durch den HF-Puls gedreht wird. Nach Abschalten des HF-Pulses induziert die in der xy-Ebene präzedierende Komponente der Magnetisierung, die auch als transversale Magnetisierung bezeichnet wird¹, eine Spannung in einer Empfangsspule. Dieses oszillierende und exponentiell abklingende Signal wird als freier Induktionszerfall (Free Induction Decay, FID) bezeichnet.

Die zeitliche Entwicklung der aus dem thermischen Gleichgewicht ausgelenkten Magnetisierung \vec{M} kann für ein Ensemble von Spins in einem Magnetfeld \vec{B} durch die Bloch-Gleichungen beschrieben werden:

$$\begin{aligned}\frac{dM_x}{dt} &= \gamma \cdot (\vec{M} \times \vec{B})_x - \frac{M_x}{T_2} \\ \frac{dM_y}{dt} &= \gamma \cdot (\vec{M} \times \vec{B})_y - \frac{M_y}{T_2} \\ \frac{dM_z}{dt} &= \gamma \cdot (\vec{M} \times \vec{B})_z - \frac{M_0 - M_z}{T_1},\end{aligned}\tag{1.7}$$

wobei mit T_2 die Spin-Spin-Relaxationszeit und mit T_1 die Spin-Gitter-Relaxationszeit bezeichnet wird.

Relaxationsmechanismen

Die Relaxation der longitudinalen Magnetisierung mit der Zeitkonstanten T_1 verläuft unter Energieabgabe des Spinsystems an seine Umgebung, das so genannte Gitter, und wird deshalb auch als Spin-Gitter-Relaxation bezeichnet. Hauptursache für die T_1 -Relaxation bei Protonen ist vorwiegend die Dipol-Dipol-Wechselwirkung. Dabei handelt es sich um die Wechselwirkung zwischen den magnetischen Dipolmomenten zweier benachbarter Kernspins. Durch Bewegung der Kerne relativ zum äußeren Feld ändert sich der gegenseitige Abstand und führt so zu einer Zeitabhängigkeit in der Dipol-Dipol-Kopplung. Ein weiterer, wichtiger Wechselwirkungsmechanismus ist die skalare (oder auch isotrope) Wechselwirkung zwischen verschiedenen Kernspins, aber auch zwischen Kernspins und Elektronenspins.

Diese zeitabhängigen Störungen führen gleichzeitig zu einem Verlust der Phasenkohärenz zwischen den Spins und damit auch zur Relaxation der Transversalmagnetisierung. Dies geschieht mit der Zeitkonstanten T_2 , die auch als Spin-Spin-Relaxationszeit bezeichnet wird. Hierbei steigt die Entropie des Spinsystems und führt zu einem irreversiblen Zerfallsprozess der Transversalmagnetisierung.

¹Entsprechend versteht man unter longitudinaler Magnetisierung die z-Komponente von \vec{M}_0 .

Darüber hinaus führen Magnetfeldinhomogenitäten, entweder extern bedingt durch lokale Abweichungen des B_0 -Feldes oder intern durch Suszeptibilitätsdifferenzen zwischen benachbarten Gewebetypen, zu Unterschieden in den lokalen Präzessionsfrequenzen und somit zu einem erhöhten Verlust der Phasenkohärenz. Folglich kommt es zu einer Verkürzung der T_2 -Zeit, die mit der effektiven transversalen Relaxationszeit T_2^* beschrieben wird. Diese zusätzliche Dephasierung ist allerdings reversibel und kann durch einen 180° -Puls refokussiert werden.

1.1.2 NMR-Bildgebung

Um in der NMR Ortsinformationen zu erhalten, wird dem homogenen \vec{B}_0 -Feld ein konstantes Gradientenfeld \vec{G} überlagert. Die Magnetfeldrichtung der Gradienten ist parallel zum homogenen \vec{B}_0 -Feld ausgerichtet, während die Orientierung des Anstieges der drei zur Verfügung stehenden Gradientenfelder ein Orthogonalsystem mit den Koordinaten x, y und z aufspannt. Solange der Gradient \vec{G} anliegt, haben die Spins in der Probe eine vom Ort \vec{r} abhängige Präzessionsfrequenz:

$$\omega(\vec{r}) = \gamma \cdot \vec{B}_0 + \gamma \cdot \vec{G} \cdot \vec{r}. \quad (1.8)$$

Diese Ortsabhängigkeit der Resonanzfrequenz bildet die Grundlage der Ortskodierung in der NMR-Bildgebung, die sich im Wesentlichen aus schichtselektiver Anregung, Frequenzkodierung und Phasenkodierung zusammensetzt. Um eine vereinfachte mathematische Beschreibung zu erhalten, wird der so genannte k-Raum eingeführt.

Schichtselektive Anregung

Um eine zweidimensionale Bildschicht oder ein Teilvolumen des zu untersuchenden Objekts auszuwählen, wird während der Anregung durch einen frequenzselektiven HF-Puls der Schichtgradient G_S (Slice-Gradient) in z-Richtung geschaltet. Die angeregte Schichtdicke Δz wird bestimmt durch Gradientenstärke G_S und Frequenzbandbreite $\Delta\nu$ des HF-Pulses:

$$\Delta z = \frac{2 \cdot \pi}{\gamma \cdot G_S} \cdot \Delta\nu. \quad (1.9)$$

Frequenzkodierung

Um eine Ortsauflösung innerhalb der angeregten Schicht zu erreichen, wird während der Datenaufnahme der so genannte Lesegradient (Read-Gradient) in x-Richtung angelegt. Dieser führt zu einer Variation der Frequenz in x-Richtung. Die Ortsinformation ist somit frequenzkodiert. Die Dephasierung durch diesen Kodiergradienten wird durch einen

weiteren Gradientenpuls kompensiert, der vor der Datenaufnahme geschaltet wird. Dephasierender Vorpuls und rephasierender Lesegradient erzeugen ein so genanntes Gradientenecho. Die Spins sind genau dann vollständig rephasiert, wenn die Flächen von dephasierendem Gradienten und Lesegradienten gleich groß sind. Die Größe des Bildausschnittes (Field Of View, FOV) ist festgelegt durch die Stärke des Lesegradienten G_R und durch die Akquisitionsbandbreite BW :

$$FOV_x = \frac{2 \cdot \pi \cdot BW}{\gamma \cdot G_R}. \quad (1.10)$$

Werden während der Akquisitionszeit N_x komplexe Datenpunkte aufgenommen, ergibt sich die nominelle Auflösung in Leserichtung zu

$$\Delta x = \frac{FOV_x}{N_x} = \frac{2 \cdot \pi \cdot BW}{\gamma \cdot G_R \cdot N_x}. \quad (1.11)$$

Phasenkodierung

Bei der Phasenkodierung wird vor der Signalakquisition ein Gradient G_P in y -Richtung für eine bestimmte Zeit t_P angelegt. Dieser führt zu unterschiedlichen Präzessionsfrequenzen der Spins entlang der y -Richtung und somit zu einer Phasenverschiebung

$$\Delta\phi = \gamma \cdot G_P \cdot y \cdot t_P. \quad (1.12)$$

Die Phasen der Spins sind somit proportional zu ihrem Ort in y -Richtung, zur Gradientenstärke G_P und zur Kodierzeit t_P . Für eine nominelle Auflösung von

$$\Delta y = \frac{FOV_y}{N_y} = \frac{2 \cdot \pi}{\gamma \cdot 2 \cdot G_{P,max} \cdot t_P} \quad (1.13)$$

in y -Richtung wird das Bildgebungsexperiment N_y -mal mit unterschiedlicher Gradientenstärke G_P wiederholt. Dies führt zu einer Modulation des Signals. Somit lässt sich Ortsinformation auch über die Signalphase kodieren.

Das Volumenelement der Größe $\Delta x \times \Delta y \times \Delta z$ wird als Voxel bezeichnet. Im zweidimensionalen wird das Bildelement $\Delta x \times \Delta y$ als Pixel bezeichnet.

k-Raum

Das durch die Ortskodierung gewonnene Signal lässt sich unter Vernachlässigung von Relaxationseffekten als Integral der Signalbeiträge aus dem Probenvolumen schreiben:

$$S(t) = \int \rho(\vec{r}) \cdot e^{i \cdot \phi(\vec{r}, t)} \cdot d\vec{r}. \quad (1.14)$$

Hierbei beschreibt $\rho(\vec{r})$ die effektive lokale Spindichte in der Probe. Sie wird bestimmt von der tatsächlichen physikalischen Spindichte, der Stärke des HF-Anregungspulses am Ort \vec{r} und dem äußeren Magnetfeld \vec{B}_0 . Die Phase $\phi(\vec{r}, t)$ hängt neben der Anregungsphase auch von den zwischen Anregung und Signalakquisition angelegten Gradientenfelder ab:

$$\phi(\vec{r}, t) = \gamma \cdot \int_0^t \vec{G}(t') \cdot \vec{r}(t') \cdot dt'. \quad (1.15)$$

Definiert man nun den *k-Vektor* als

$$\vec{k} = \gamma \cdot \int_0^t \vec{G}(t') \cdot dt', \quad (1.16)$$

so lässt sich unter Annahme stationärer Spins Gleichung 1.14 schreiben als:

$$S(\vec{k}) = \int \rho(\vec{r}) \cdot e^{i\vec{k} \cdot \vec{r}} \cdot d\vec{r}. \quad (1.17)$$

Diese Gleichung verdeutlicht, dass das empfangene Signal die Fouriertransformierte der effektiven Spindichte dargestellt. Der Raum, in dem das Signal aufgezeichnet wird, wird als *k-Raum* bezeichnet und lässt sich durch Fouriertransformation in den Bild-Raum überführen. Bei der NMR-Bildgebung wird folglich der *k-Raum* abgetastet, indem man Gradienten unterschiedlicher Stärke, Richtung und Dauer anlegt.

1.1.3 Gradientenecho- und Spinecho-Bildgebung

Als elementare Bildgebungstechniken werden im Folgenden die Verfahren Gradientenecho und Spinecho vorgestellt.

Gradientenecho

Nach der Schichtauswahl werden die Spins, die aufgrund des Schichtgradienten dephasiert sind, durch einen weiteren Gradientenpuls mit umgekehrten Vorzeichen wieder rephasiert. Während der gleichen Zeit findet die Phasenkodierung und die Vordephasierung in Leserichtung statt. Die Zeit von der Mitte des Anregungspulses bis zum Maximum des Echos wird als Echozeit TE bezeichnet. Mit zunehmenden TE fällt die Maximalamplitude des Echosignals näherungsweise exponentiell mit der effektiven transversalen Relaxationszeit T_2^* ab. Wird die Vordephasierung in Leserichtung schwächer eingestellt, so wandert das Echo von der Mitte des Akquisitionsfensters nach vorne. Durch diese Verkürzung der Echozeit können Signalverluste aufgrund von T_2^* -Relaxation und Bewegung vermindert werden.

Pro Phasenkodierschritt wird nach schichtselektiver Anregung ein Gradientenecho ausgelesen. Verwendet man einen 90° -Anregungspuls, führt dies zur Erzeugung der größtmöglichen Transversalmagnetisierung und liefert somit maximales Signal. Allerdings ergeben sich hierfür lange Repetitionszeiten TR und damit verbundene lange Bildmesszeiten, da so lange gewartet werden muss, bis genügend Longitudinalmagnetisierung für eine erneute Anregung relaxiert ist ($TR \gg T_1$). Eine Möglichkeit zur Vermeidung dieser langen Wartezeiten wurde 1986 von Haase et al. eingeführt und als FLASH (**F**ast **L**ow **A**ngle **S**Hot) bezeichnet [Haa86]. Bei diesem Verfahren wird die Magnetisierung nur um kleine Anregungswinkel α ausgelenkt. Somit bleibt eine große Longitudinalmagnetisierung erhalten, die für eine erneute Anregung zur Verfügung steht. Auf diese Weise können die einzelnen Phasenschritte ohne jegliche Wartezeit direkt hintereinander ausgeführt werden, wodurch sich die Bildmesszeit drastisch verkürzt.

Durch diese kurze Abfolge von HF-Anregungspulsen wird das thermische Gleichgewicht nicht mehr erreicht. Nach einer bestimmten Einschwingdauer bildet sich ein dynamisches Gleichgewicht aus, der so genannte Steady-State, bei dem die Longitudinal- und Transversalmagnetisierung nach jedem HF-Puls wieder denselben Wert annimmt. Um diesen stationären Zustand erreichen zu können, müssen die folgenden vier Bedingungen erfüllt sein [Zur91][Sob96][Sch99]:

- Die Zeit TR zwischen zwei HF-Pulsen muss konstant sein.
- Der Anregungswinkel α der HF-Pulse muss konstant sein.
- Die Phase des n -ten HF-Pulses muss folgende Bedingung erfüllen:
 $\varphi_n = a + b \cdot n + c \cdot n^2$, wobei a , b und c frei wählbare Konstanten beschreiben.
- Die Dephasierung der Transversalmagnetisierung zwischen HF-Pulsen muss konstant sein.

Spinecho

Für inhomogene Proben mit kurzen T_2^* -Zeiten kann es von Vorteil sein, eine Spinecho-Sequenz [Hah50] zu verwenden. Hierbei wird die Dephasierung der Transversalmagnetisierung aufgrund lokaler Magnetfeldinhomogenitäten durch einen weiteren HF-Puls, der die Magnetisierung um 180° dreht, rückgängig gemacht. Beträgt der zeitliche Abstand zwischen 90° -Anregungspuls und 180° -Refokussierungspuls τ , so sind die Spins nach einem weiteren Zeitintervall der Länge τ wieder rephasiert. Folglich steigt das Signal nach dem zweiten Puls wieder an. Es entsteht ein Spinecho, dessen Signalmaximum zum Zeitpunkt $TE = 2 \cdot \tau$ erreicht wird. Für ein Spinecho ist somit die T_2 -Zeit und nicht die T_2^* -Zeit ausschlaggebend. Auch bei diesem Verfahren ist eine Vordephasierung in Leserichtung nötig, um ein zeitgleiches Auftreten von Spinecho und Gradientenecho im Akquisitionsfenster zu gewährleisten.

1.1.4 Magnetische Suszeptibilität in der NMR-Bildgebung

Befindet sich Materie in einem Magnetfeld, so wird diese magnetisiert. Die magnetische Suszeptibilität χ berücksichtigt hierbei die unterschiedliche Magnetisierbarkeit verschiedener Materialien. Deshalb entstehen insbesondere in Systemen mit heterogener magnetischer Suszeptibilität lokale Magnetfeldinhomogenitäten, die zu Signalverlusten und Bildverzerrungen führen können.

Um die Auswirkung der Magnetisierung auf das Magnetfeld berücksichtigen zu können, unterscheidet man zwischen magnetischer Feldstärke \vec{H} und magnetischer Flussdichte \vec{B} . Entsprechend der klassischen elektrodynamischen Theorie induziert ein äußeres Magnetfeld \vec{H} eine Magnetisierung

$$\vec{M} = \chi \cdot \vec{H}. \quad (1.18)$$

In einem Material mit der magnetischen Suszeptibilität χ ergibt sich damit ein effektives Magnetfeld, das durch die magnetische Flussdichte \vec{B} beschrieben wird:

$$\vec{B} = \mu_0 \cdot (\vec{M} + \vec{H}) = \mu_0 \cdot (1 + \chi) \cdot \vec{H}, \quad (1.19)$$

wobei mit μ_0 die magnetische Feldkonstante bezeichnet wird. In diamagnetischen Materialien ($-10^{-4} < \chi < -10^{-9}$) wird das Magnetfeld leicht abgeschwächt, wohingegen in paramagnetischen ($10^{-6} < \chi < 10^{-4}$), superparamagnetischen ($\chi \gg 1$) und ferromagnetischen ($\chi \gg 1$) Materialien das Feld verstärkt wird. An den Grenzflächen zwischen Materialien mit verschiedener Suszeptibilität, wie zum Beispiel zwischen Luft ($\chi \approx 0$) und Gewebe ($\chi < 0$), entstehen folglich Magnetfeldinhomogenitäten, deren Stärke proportional zum Suszeptibilitätsunterschied ist:

$$\Delta B_0 = (\chi_1 - \chi_2) \cdot B_0 = \Delta\chi \cdot B_0. \quad (1.20)$$

Diese Suszeptibilitätssprünge führen in der Gradientenecho-Bildgebung zu einer erhöhten Phasendispersion der Transversalmagnetisierung und somit zu einem von der Echozeit abhängigen Signalverlust. Mathematisch lässt sich dieser Signalverlust durch räumliche Mittelung der Phasen-Faktoren $e^{-i\cdot\phi_j}$ über das gesamte Voxelvolumen beschreiben [Ken94][Che01], wenn Diffusionseffekte vernachlässigt werden können:

$$S_{sus}(TE) = S_0 \cdot \langle e^{-i\cdot\phi_j} \rangle = S_0 \cdot \langle e^{-i\cdot\gamma \cdot B_{int} \cdot TE} \rangle. \quad (1.21)$$

Hierbei bezeichnet S_0 die anfängliche Signalintensität, B_{int} das durch eine heterogene Suszeptibilitätsverteilung beeinflusste interne Magnetfeld und ϕ_j die entsprechende Phasenverschiebung in diesem Feld für die Echozeit TE . Ist die magnetische Feldver-

teilung $p(B_{int})$ eines Voxels bekannt, so lässt sich das zeitliche Signalverhalten genau berechnen:

$$S_{sus}(t) = S_0 \cdot \int_{-\infty}^{+\infty} p(B_{int}) \cdot e^{-i\gamma \cdot B_{int} \cdot t} \cdot dB_{int}. \quad (1.22)$$

Gleichung 1.22 lässt erkennen, dass das Signalverhalten durch die Fouriertransformierte der Feldverteilung $p(B_{int})$ beschrieben wird. Somit ergibt sich für eine lorentzförmige Feldverteilung ein exponentieller Signalabfall, wohingegen eine gaussförmige Feldverteilung auch einen gaussförmigen Signalabfall verursacht.

Ein häufig verwendetes Modell zur Charakterisierung von biologischem Gewebe wird mit einem Netzwerk kleiner Kapillargefäße beschrieben und kann durch eine zufällige Anordnung von Punktdipolen angenähert werden. Die exakte Feldverteilung hierfür lässt sich mit einer Lorentzkurve mit Halbwertsbreite ΔB beschreiben [Bro61]:

$$p(B_{int}) = \frac{\Delta B}{2 \cdot \pi} \cdot \frac{1}{\left(\frac{\Delta B}{2}\right)^2 + B_{int}^2}. \quad (1.23)$$

Setzt man nun diese Feldverteilung in Gleichung 1.22 ein, so ergibt sich eine exponentielle Signalabnahme:

$$\frac{S_{sus}(t)}{S_0} = \frac{\Delta B}{2 \cdot \pi} \cdot \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{1}{\left(\frac{\Delta B}{2}\right)^2 + B_{int}^2} \cdot e^{-i\gamma \cdot B_{int} \cdot t} \cdot dB_{int} = e^{-\gamma \cdot \frac{\Delta B}{2} \cdot t}. \quad (1.24)$$

Somit lässt sich für den Spezialfall einer lorentzförmigen Feldverteilung eine Relaxationsrate R' angeben, die durch die Halbwertsbreite der Verteilungsfunktion bestimmt wird:

$$R' = \frac{1}{T_2'} = \gamma \cdot \frac{\Delta B}{2}. \quad (1.25)$$

Beschreibt ΔB die Inhomogenität über die Pixelausdehnung Δx , so ist die Relaxationsrate R' durch $\frac{\Delta B}{2}$ und folglich durch die Varianz σ_B der Feldverteilung $p(B_{int})$ bestimmt. Im allgemeinen ist aber $p(B_{int})$ nicht bekannt und somit lässt sich das zeitliche Signalverhalten nur näherungsweise beschreiben.

1.2 Physiologische Grundlagen

1.2.1 Anatomie und Physiologie des Herzmuskels

Das Herz ist ein muskuläres Hohlorgan, das für die Zirkulation des Blutes und somit für eine Versorgung des Körpers mit Sauerstoff und Nährstoffen verantwortlich ist. Eine Scheidewand (*Septum*) gliedert das Herz in eine linke und rechte Hälfte. Die linke ist dem Körperkreislauf, die rechte dem Lungenkreislauf zugeordnet. Beide Hälften sind in Vorhof (*Atrium*) und Kammer (*Ventrikel*) unterteilt. Das rechte Herz fördert das über die obere und untere Hohlvene rückfließende, sauerstoffarme Blut durch Kontraktion des rechten Ventrikels in den Lungenkreislauf. Das linke Herz pumpt das mit Sauerstoff gesättigte Blut durch Kontraktion des linken Ventrikels über die Aorta in den Körperkreislauf. Die Pumpwirkung des Herzens beruht auf der rhythmischen Abfolge von Kontraktion (*Systole*) und Entspannung (*Diastole*). In der bewegungsarmen Diastole werden die Herzkammern mit Blut gefüllt, während in der Systole das Schlagvolumen ausgeworfen wird. Ein Rückfließen des Blutes wird durch ein Klappensystem verhindert. Zwischen Atrium und Ventrikel sind diese Klappen in Form von Segeln ausgebildet. Die Klappe der linken Herzhälfte (*Mitralklappe*) besteht aus zwei Segeln. Die *Trikuspidalklappe* im rechten Herzen besteht aus drei Segeln. Die Segel werden aus einer Verdopplung der Herzinneuhaut gebildet. Ihre Spitzen sind über Sehnenstränge an Muskelbalken (*Papillarmuskeln*) in den Herzkammern befestigt. Zwischen den Ventrikeln und den großen Arterien Aorta und Pulmonalarterie liegen die taschenförmige *Aortenklappe* und *Pulmonalklappe*. Öffnen und Schließen der Herzklappen erfolgen rein passiv durch das Blut, das entsprechend dem im Herzen herrschenden Druckgradienten immer von Orten hohen Drucks zu Orten niedrigen Druckniveaus fließt.

Die Versorgung des Herzmuskels mit Sauerstoff findet im Wesentlichen während der Diastole über die rechte und linke Koronararterie statt. Durch eine sehr starke Verästelung der beiden großen Koronararterien wird eine ausreichende Sauerstoffversorgung des Herzmuskels auf kapillarer Ebene erzielt. Die Abgänge für die rechte und linke Koronararterie liegen kurz über der Aortenklappe, so dass die treibende Kraft, mit der die Koronararterien durchblutet werden, dem Druck in der Aortenwurzel entspricht.

Die Herzwand ist aus drei Schichten aufgebaut: Innenhaut (*Endokard*), Herzmuskelgewebe (*Myokard*) und Außenhaut (*Epikard*). Das Endokard besteht aus einer einschichtigen Lage von Endothelzellen und kleidet die Hohlräume des Herzens vollständig aus. Das Epikard besteht aus einschichtigem Epithel und umhüllt das gesamte Herz. Das Myokard stellt die Arbeitsmuskulatur des Herzens dar. Es setzt sich aus spezialisierten quergestreiften Muskelzellen zusammen, zwischen denen Bindegewebe liegt. Jede Zelle besitzt einen zentralen Kern, wird von der Plasmamembran begrenzt, dem Sarkolemm, und enthält zahlreiche kontraktile Myofibrillen, die unregelmäßig durch Sarkoplasma

getrennt sind. Der Durchmesser der Muskelzellen variiert zwischen $8\ \mu\text{m}$ und $15\ \mu\text{m}$ und die Länge zwischen $50\ \mu\text{m}$ und $150\ \mu\text{m}$ [Smo92]. Spezielle paarige Grenzmembranen, so genannte Glanzstreifen, fügen die Muskelzellen der Länge nach zu langen Fasern zusammen. Zwischen den einzelnen Fasern finden sich unterschiedlich große Interzellularräume, die wenig Kollagen, einzelne Fibroblasten und zahlreiche Kapillaren enthalten. Benachbarte Fasern werden über große, seitlich an vielen Zellen ansetzende Zytoplasmafortsätze zusammengehalten, so dass das Myokard aus einem durchgehenden Zellgeflecht besteht. Einzelne Fasergruppen werden durch Bindegewebshüllen zu langen, miteinander verknüpften *Bündeln* zusammengefasst.

1.2.2 Faserstruktur des Herzmuskels

Die Faserbündel des Ventrikelmyokards weisen eine sehr komplexe Struktur auf. Von der Ventilebene (Ebene, in der sämtliche Klappen angeordnet sind) aus zieht eine Schicht *äußerer Schrägfasern* zur Herzspitze. Von dort steigen die Muskelfasern als *innere Längsfaserschicht* wieder auf, wobei sie zum Teil in den Papillarmuskeln enden (siehe Abbildung 1.1). Aus der äußeren Schrägfaserschicht scheren in verschiedenen

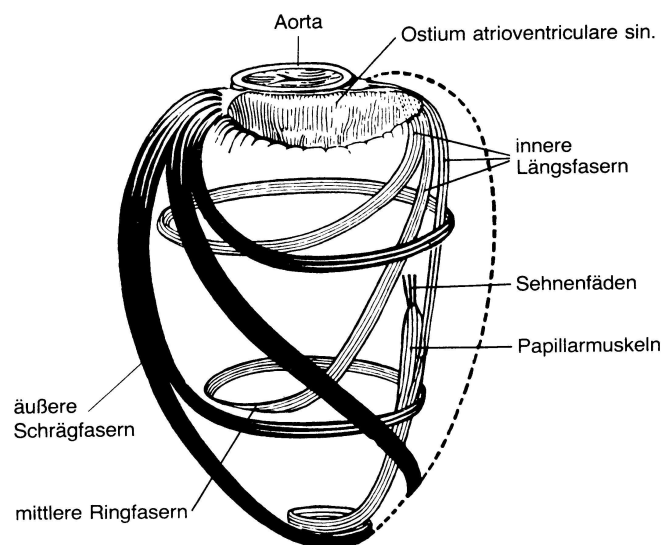


Abbildung 1.1: Verlaufsrichtung der Herzmuskulatur in schematischer Darstellung, nach Benninghoff (aus [The82]).

Höhen Faserbündel aus, die eine *mittlere Ringfaserschicht* bilden. In dieses Schraubensystem der Faserzüge sind die beiden Ventrikel zum Teil gemeinsam einbezogen. Die gesamte Anordnung des Ventrikelmyokards hat den Zweck, eine möglichst konzentrische Verkleinerung der Herzhöhlen bei der Kontraktion sicherzustellen.

Untersuchungen von LeGrice et al. [LeG95] belegen jedoch, dass die Beschreibung der Herzmuskelarchitektur mittels Muskelfaserbündel nicht der wahren Organisation der Muskelfasern entspricht. Vielmehr sind die Fasern in Schichten zusammengefasst. Im Mittel sind vier Muskelzellen über die Breite dieser Schichten hinweg angeordnet. Verzweigungen dieses Schichtsystems in Form von Muskelbrücken mit einer Dicke von eins bis zwei Muskelzellen sind selten. Ein umfangreiches Netzwerk von Kollagenfasern stellt eine Verbindung zwischen einzelnen Schichten her. Zwischen diesen Schichten existieren ausgedehnte Extrazellulärbereiche, die sich in ihrer Geometrie und Ausdehnung sehr stark unterscheiden können. Gefäße sind im Allgemeinen in die Muskelschichten eingebettet. Die Organisation der Muskelzellen in diesen Schichten ist in Abbildung 1.2 gezeigt.

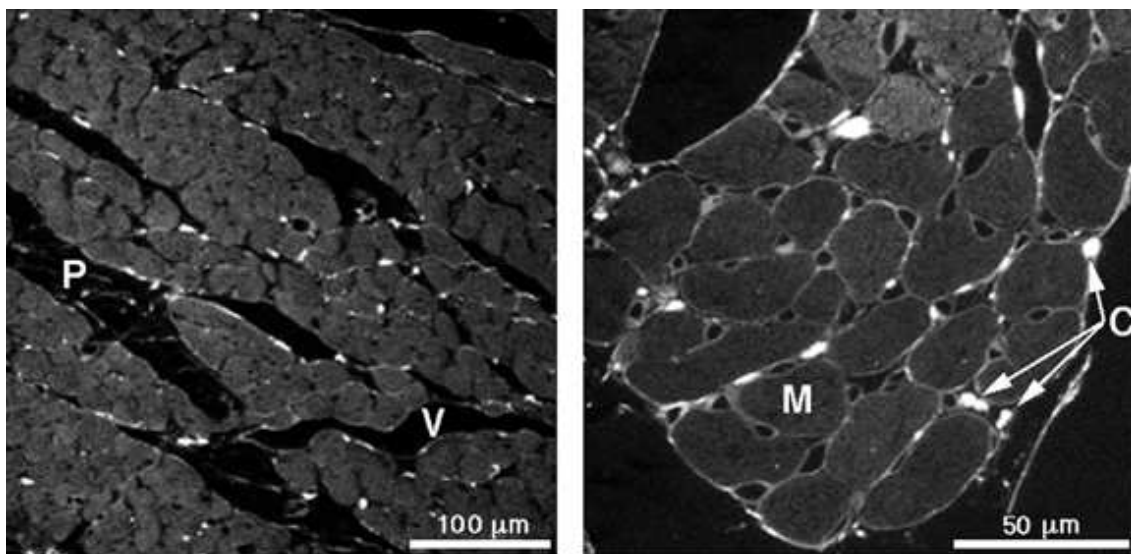


Abbildung 1.2: Konfokale Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahme eines Formalin fixierten Rattenherzens [You98]. Deutlich zu erkennen ist der Aufbau des Herzmuskels aus diskreten Muskelschichten (links). Zwischen diesen Schichten befinden sich extrazelluläre Spaltebenen (*P*). Die Versorgungsgefäße (*V*) sind üblicherweise in die Schichtstruktur eingebettet. Die Breite der Schichten ist im Mittel gegeben durch die Anordnung von vier Muskelzellen (*M*, rechts). Einzelne Muskelschichten sind durch ein dichtes Netzwerk von Kollagenfasern (*C*) miteinander verbunden, wobei diese Fasern weit in die Schichtstrukturen hineinragen.

Betrachtet man die Verlaufsrichtung der Muskelschichten im Herzen, so erhält man, je nach Position, eine charakteristische Winkelabhängigkeit. In der Äquatorialebene des Herzens ergibt sich in der linksventrikulären Wand eine Orientierung der Fasern in Bezug auf die Normale der Außenwand von -90° im Endokard, zu 30° bis 60° im Epikard. Im Septum dreht sich die Faserorientierung ausgehend vom linken Ventrikel von 90° bis zum rechten Ventrikel nach -90° . In der Mitte der Herzwand ist die Orientierung nahezu parallel zur Normalen.

Diese beschriebenen morphologischen Eigenschaften des Herzens sollten für alle Säugetiere gleich sein. Unterschiede zwischen verschiedenen Spezies sollten nur quantitativer, nicht aber qualitativer Art sein. So ist die räumliche Ausdehnung der Muskelzellen beträchtlichen Schwankungen unterworfen und variiert je nach Tierart, Alter, Belastung und Lokalisation im Herzen. Diese Größenunterschiede haben aber keinen Einfluss auf die Faserorientierung des Herzmuskels.

Kapitel 2

Material

2.1 NMR-Tomograph

Die im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Messungen wurden vorwiegend an einem *Hochfeldsystem AMX500* (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Deutschland) mit vertikaler Magnetbohrung durchgeführt.

2.1.1 Spektrometer AMX500

Das statische Magnetfeld des AMX500 NMR-Mikroskopiesystems besitzt eine Feldstärke von 11.75 T, was zu einer Larmorfrequenz von 500.15 MHz für Protonen führt. Zur Kompensation von Magnetfeldinhomogenitäten, die durch das Einbringen von HF-Spule und der zu untersuchenden Probe entstehen, können 17 einzeln ansteuerbare Shimspulen genutzt werden. Das AMX500 besitzt ein abgeschirmtes Gradientensystem mit einer maximalen Gradientenstärke von 660 mT/m und einer minimalen Schaltzeit von etwa 110 μ s. Bei allen durchgeführten Experimenten wurden aber nur Schaltzeiten von 200 μ s realisiert, um Wirbelstromeffekte zu minimieren. Denn das zeitliche Verhalten der Gradienten wurde für diese Schaltzeit von 200 μ s mittels Einstellungen in der Preemphasis optimiert. Die Steuerung der Messung erfolgt durch einen Echtzeitrechner ASPECT3000, die Datenverarbeitung und Datenspeicherung übernimmt ein Unix-Rechner X32.

2.1.2 HF-Spule

Für die Untersuchungen am isolierten Herzen wurde von der Firma Rapid Biomedical (Würzburg, Deutschland) ein in Quadratur betriebener Birdcage-Resonator mit einem

Innendurchmesser von 20 mm entwickelt, der speziell für die Anwendungen am isolierten Herzen optimiert wurde. Als Grundlage hierfür diente ein Probenkopf, der von Alexander Weisser im Rahmen seiner Promotionsarbeit angefertigt wurde [Wei01]. Die Güte Q des unbeladenen Resonators beträgt 175 bzw. 200 für die einzelnen Kanäle. Bei Beladung mit Krebs-Henseleit-Puffer sinkt die Güte auf 37 bzw. 39 ab. Die Isolation zwischen beiden Kanälen beträgt -20 dB. Dies bedeutet, dass sich im Vergleich zu einer ideal in Quadratur betriebenen Spule (perfekte Isolation) lediglich ein Verlust von 1% im Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) ergibt [Tro91].

2.2 Modell des isolierten Rattenherzens

Das Modell des isolierten Rattenherzens bietet im Vergleich zum *in vivo* Experiment zahlreiche Vorteile. Da das Organ isoliert untersucht wird, können zum einen an die Herzgröße optimierte HF-Spulen verwendet, zum anderen die NMR-Experimente an einem Hochfeldsystem durchgeführt werden. Weiterhin lässt sich das isolierte Herz gezielt manipulieren. Es ist beispielsweise möglich, die Herzbewegung auszuschalten. Somit lassen sich neue NMR-Techniken zunächst an einem nicht schlagenden Herzen entwickeln, die dann auf das schlagende Herz übertragen werden können.

2.2.1 Herzpräparation

Die in den Experimenten angewandte Präparation wurde erstmals bereits im Jahre 1895 von *Langendorff* durchgeführt [Lan95]. Dabei werden zunächst männliche Wistar-Ratten (Charles-River, Sulzfeld) narkotisiert. Anschließend wird das Herz isoliert und die frei präparierte Aorta an einer Kanüle, die mit der Perfusionsapparatur fest verbunden ist, fixiert. Die Versorgung des Herzens erfolgt retrograd mit 37°C warmen Krebs-Henseleit-Puffer [Kre32] bei einem konstanten Perfusionsdruck von 100 mmHg. Das Perfusat gelangt über die Aorta in die Koronararterien und über die Koronarvenen in den rechten Vorhof und in den rechten Ventrikel. Von dort wird es in das umgebende Probenröhrchen gepumpt, so dass das Herz komplett von warmer Perfusionslösung umspült ist. Perfusat, das über die Thebesischen Venen in den linken Ventrikel gelangt, kann durch eine Drainage durch die Herzspitze abfließen. Der Flüssigkeitspegel im Probenröhrchen wird durch eine Absaugpumpe konstant gehalten.

Tabelle 2.1 gibt eine Übersicht über die einzelnen Komponenten des Krebs-Henseleit-Puffers mit ihren jeweiligen Konzentrationen. Diese Zusammensetzung gewährleistet eine ausreichende Versorgung des intakten Herzens mit Nährstoffen, so dass ein möglichst physiologischer Herzstoffwechsel und eine normale Herztätigkeit für eine Dauer von etwa 90 min aufrecht erhalten bleiben. Durch Erhöhung der Kaliumkonzentration auf 34.7 mM und eine Erniedrigung der NaCl-Konzentration auf 88 mM wird das

Stoff	NaCl	KCl	MgSO ₄	CaCl ₂	Na ₂ -EDTA	Glukose	NaHCO ₃
c [mM]	118	4.7	1.2	1.75	0.5	11	25

Tabelle 2.1: Zusammensetzung der verwendeten Krebs-Henseleit-Pufferlösung. Angegeben sind die entsprechenden Komponenten mit ihrer jeweiligen Konzentration c .

Herz **kardioplegisch**, d.h. es betreibt weiterhin Stoffwechsel, schlägt aber nicht mehr. Die Sauerstoffversorgung des Herzens wird durch Begasen des Puffers mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) gewährleistet. Gleichzeitig wird damit ein dem Blut entsprechender pH-Wert von 7.4 eingestellt.

Im linken Ventrikel ist ein wassergefüllter Druckballon eingebracht, der über eine Leitung mit einem Druckaufnehmer (Statham P23Db, Gould Instruments, Oxnard, CA, USA) verbunden ist. Dies ermöglicht den linksventrikulären Druck und die Schlagfrequenz des Herzens kontinuierlich zu protokollieren und ein Triggersignal abzuleiten, mit dem die NMR-Experimente mit dem Herzzyklus synchronisiert werden können. Der Koronarfluss des Herzens wird mit Hilfe eines Ultraschallflussmessgerätes (T106, Transonic System Inc., Ithaca, NY, USA) gemessen.

2.2.2 Infarkt- und Stenosemodell

Die für die *chronischen Infarkte* vorgesehenen Ratten werden anästhesiert und künstlich beatmet. Nach der Öffnung des Brustkorbs wird die linke Koronararterie abgebunden [Pfe79]. Danach wird die Operationswunde wieder verschlossen. Acht Wochen nach dieser Präparation werden die Herzen entnommen, nach Langendorff präpariert und im AMX500 NMR-Mikroskopiesystem untersucht.

Zur Präparation von *akuten Stenosen* wird das Herz entnommen und nach Langendorff perfundiert. Um die linke Koronararterie wird eine Fadenschlinge gelegt und ein Draht mit einem Durchmesser von 200 μm mit dem Gefäß fest verschnürt. Anschließend wird der Draht wieder entfernt, so dass sich eine genau definierte Engstelle im Gefäßbaum ausbildet.

Bei der Präparation von *chronischen Stenosen* wird um das Herz der anästhesierten Ratte eine Fadenschlinge gelegt und ein Draht mit einem Durchmesser von 300 μm mit dem Gefäß fest verschnürt. Anschließend wird der Draht wieder entfernt und die Operationswunde verschlossen. Zwei Wochen später werden die Herzen entnommen, nach Langendorff präpariert und im AMX500 NMR-Mikroskopiesystem untersucht.

2.2.3 Histologie

Nach Abschluss der NMR-Experimente werden die Herzen zunächst in Formalin fixiert. Nach dem Einbetten in Paraffin werden 4 μm dicke Schnitte für einen Histologievergleich angefertigt. Die Anfärbung der Schnitte erfolgt mit Hematoxylin und Eosin.

Kapitel 3

NMR-Untersuchung der Koronararterien

3.1 Motivation

Die Koronararterien bilden wichtige Transportwege für eine ausreichende Versorgung des Herzens mit Nährstoffen und Sauerstoff. Eine Einengung bzw. ein Verschluss dieser Herzkranzgefäße führt zu einer Unterversorgung des Herzmuskels und damit zu einer Funktionsstörung des Herzens. Für ein umfassendes Verständnis der Regulationsmechanismen des Herzens und Mikrozirkulationsprozessen ist es von großer Bedeutung, sowohl den Verlauf der Koronararterien als auch das Flussverhalten in diesen Gefäßen darstellen zu können.

Flussmessungen und Angiographie der Koronararterien mittels NMR-Techniken stellen sowohl bei Tierstudien [Ruf00] als auch bei Patientenmessungen [Hun00][Kee02][Bal02] immer noch eine große Herausforderung dar. Die größten Schwierigkeiten bereiten die Herz- und Atembewegung, die Strömungsbewegung großer Blutmengen in den Ventrikeln und natürlich der geringe Durchmesser der Koronararterien und deren gewundener Verlauf.

Die Quantifizierung von Blutflussgeschwindigkeiten mittels NMR-Phasenkontrast-Techniken wurde in zahlreichen Studien gezeigt [Wig99][Fir90][Pel92][Buo92]. Die meisten Anwendungen beschränken sich aber auf große Gefäße wie zum Beispiel die Aorta oder die Karotis, denn systematische Fehler wachsen bei abnehmendem Gefäßquerschnitt und somit geringerer Pixelanzahl im Gefäß sehr stark an [Tan93][Wol93]. Es konnten jedoch Modelle etabliert werden, die den hierbei auftretenden Partialvolumen-Effekt korrigieren [Ham94][Tan95][Hoo99].

Das Projektziel dieses Teils der Arbeit war zum einen die Entwicklung einer schnellen, hochaufgelösten Angiographie-Technik, die es ermöglicht, die dreidimensionale Gefäß-

anatomie des Herzens detailgetreu abzubilden und Engstellen in den Koronararterien, so genannte Stenosen, eindeutig zu lokalisieren. Zum anderen sollte gezeigt werden, dass Flussgeschwindigkeiten in kleinen Gefäßen, wie den Koronararterien, mit hochauflöser Phasenkontrast-Technik quantifiziert werden können, ohne dass eine Korrektur von Partialvolumen-Effekten erforderlich ist. Darüberhinaus sollte das Flussverhalten in Herzen mit akuter Koronarstenose analysiert und der Stenosegrad mittels NMR-Messungen quantifiziert werden.¹

3.2 Theoretische Grundlagen

Wie in Kapitel 1.1.1 beschrieben, führt eine Bewegung der Moleküle in der NMR-Bildgebung zu einer erhöhten Dephasierung der Transversalmagnetisierung und somit zu Signalverlusten. Diffusion ist eine inkohärente Bewegung, wohingegen Fluss eine gerichtete, kohärente Bewegung darstellt. Mittels flusskompensierter Gradientenpulse können Signalverluste aufgrund von Bewegung minimiert und Fluss-Artefakte reduziert werden. Durch Verwendung von flusskodierenden Gradientenpulsen lässt sich eine geschwindigkeitsabhängige Phase der Transversalmagnetisierung erzeugen. Somit bietet die NMR-Bildgebung die Möglichkeit einer quantitativen Flussmessung. Die kohärente Bewegung der Wassermoleküle lässt sich außerdem zur Darstellung der Gefäßanatomie ausnutzen.

3.2.1 Flusskompensation und Flusskodierung

Gradientenmomente

Die Phase der Transversalmagnetisierung in Gegenwart eines zeitabhängigen Gradienten ist gegeben durch das Integral aus Ort und Gradient:

$$\phi(t) = \gamma \cdot \int_0^t \vec{G}(t') \cdot \vec{r}(t') \cdot dt'. \quad (3.1)$$

Zur Berechnung dieses Integrals führt man eine Taylor-Entwicklung des Ortes nach der Zeit durch:

$$\vec{r}(t) = \vec{r}_0 + \vec{v} \cdot t + \frac{1}{2} \cdot \vec{a} \cdot t^2 + \dots \quad (3.2)$$

¹Der Inhalt dieses Kapitels ist in der Zeitschrift *Magnetic Resonance in Medicine* veröffentlicht [Köh03c].

Für eine Vereinfachung der Notation werden *Gradientenmomente* definiert, wobei das Gradientenmoment n -ter Ordnung gegeben ist durch:

$$\vec{M}_n = \int_0^t \vec{G}(t') \cdot t'^n \cdot dt'. \quad (3.3)$$

Ein Spin, der sich mit konstanter Geschwindigkeit v in x -Richtung durch ein zeitabhängiges Gradientenfeld $G_x(t)$ bewegt, akkumuliert eine Phase, die sich unter Vernachlässigung höherer Terme aus einem orts- und einem geschwindigkeitsabhängigen Anteil zusammensetzt

$$\phi = \gamma \cdot x_0 \cdot M_0 + \gamma \cdot v \cdot M_1, \quad (3.4)$$

wobei x_0 den Ort des Spins zur Zeit $t = 0$ beschreibt. Bei einer beschleunigten Bewegung müssen auch Terme höherer Ordnung berücksichtigt werden.

Flusskompensation

Um eine geschwindigkeitsabhängige Zusatzphase bei der Ortskodierung zu vermeiden, muss gewährleistet sein, dass das erste Gradientenmoment der Bildgebungsgradienten zur Echomitte verschwindet. Dies lässt sich durch den Einbau weiterer Gradientenschaltpunkte erreichen, wobei die Bildgebungseigenschaften der Gradienten und somit das nullte Gradientenmoment nicht beeinflusst werden darf.

Flusskodierung

Bei der Flusskodierung will man hingegen die geschwindigkeitsabhängige Phase ausnutzen, um quantitative Informationen über die mittlere Geschwindigkeit eines Spinensembles zu gewinnen. Hierbei sollte das nullte Gradientenmoment in Gleichung 3.4 verschwinden und das erste Gradientenmoment einen konstanten Wert aufweisen. Diese Bedingungen lassen sich durch die Verwendung eines *bipolaren Gradientenpulses* erfüllen. Somit ergibt sich aus Gleichung 3.4 ein linearer Zusammenhang zwischen Phase und Geschwindigkeit des Spins:

$$\phi = \gamma \cdot v \cdot M_1. \quad (3.5)$$

In der Praxis führen Inhomogenitäten des statischen B_0 -Feldes und des B_1 -Feldes der HF-Spule zu weiteren Phaseneffekten. Um diesen Phasenhintergrund zu eliminieren, sind mindestens zwei Messungen mit unterschiedlichem M_1 erforderlich.

3.2.2 Time-of-Flight-Effekt

Der Time-of-Flight(TOF)-Effekt tritt auf, wenn Spins in die Bildschicht einströmen, die eine andere HF-Präparation als die stationären Spins der Bildschicht erfahren haben. Bei Gradientenecho-Sequenzen mit kurzer Repetitionszeit ($TR \ll T_1$) werden stationäre Spins stark gesättigt und liefern dementsprechend wenig Signal. Einfließende, ungesättigte Spins hingegen liefern einen hohen Signalbeitrag. Auf diese Weise entsteht ein hoher Kontrast zwischen Gefäß und Hintergrund, der eine einfache Erkennung von Gefäßen ermöglicht. Mit Hilfe der Time-of-Flight-NMR-Angiographie (TOF-MRA) lässt sich somit die Gefäßanatomie darstellen. Hierbei muss aber berücksichtigt werden, dass der TOF-Effekt von der Geschwindigkeitsrichtung abhängig ist, und dass deshalb nur die Geschwindigkeitskomponente senkrecht zur Bildschicht zu einer Signalerhöhung führt.

Der TOF-Effekt wirkt sich also auf die Amplitude der longitudinalen Magnetisierung aus. Gleichzeitig treten aber auch Phaseneffekte auf, wie unter 3.2.1 beschrieben, da ja für die Bildgebung entsprechende Gradienten geschaltet werden müssen. Diese Phaseneffekte können reduziert werden, indem Flusskompensationsgradienten verwendet werden und zusätzlich die Echozeit minimiert wird. Je kürzer die Echozeit, umso geringer ist die Zeit, während der die Spins zusätzliche Phasenverschiebungen aufbauen können. Insbesondere bei der Darstellung von Fluss in Gefäßen mit Querschnittsverengungen sind sehr kurze Echozeiten notwendig, um auch bei turbulentem Fluss keine Signalauslöschung zu erhalten.

3.3 Material und Methoden

3.3.1 Material

Die Darstellung und Charakterisierung der Koronargefäße wurde an intakten, stenotischen (akut/chronisch) und chronisch infarzierten Herzen am 11.75 T AMX500 NMR-Mikroskopiesystem durchgeführt. Die generelle Vorgehensweise bei der Präparation der Herzen ist in Kapitel 2.2 beschrieben. Um das Flussverhalten mit dem Herzzyklus korrelieren zu können, wurde der linksventrikuläre Druck, wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben, aufgezeichnet.

Die Validierung der Flussmessung erfolgte an einem Phantom, das aus einem NMR-Probenröhrchen (Außendurchmesser: 20 mm) mit stationärem Wasser besteht. In diesem Probenröhrchen wurden sechs weitere Röhrchen mit einem Durchmesser von 550 μm plziert, durch die Wasser mit verschiedenen Geschwindigkeiten gepumpt wurde. Hierbei variierte die Pumpgeschwindigkeit, die mit einem Ultraschallflussmessgerät

(T106, Transonic System Inc., Ithaca, NY, USA) bestimmt wurde, zwischen 20 cm/s und 80 cm/s.

3.3.2 3D-TOF-Angiographie

Zur Darstellung der dreidimensionalen Gefäßstruktur des Herzens wurde eine 3D-TOF-Technik verwendet. Hierfür wurde eine segmentierte, flusskompensierte 3D-FLASH-Sequenz am Hochfeldsystem AMX500 implementiert. Um eine möglichst kurze Echozeit realisieren zu können, wurde die flusskompensierte 3D-Phasenkodierung dem Schichtgradienten überlagert und der Lesegradient so gewählt, dass das Echomaximum bereits nach einem Viertel der Akquisitionszeit erschien (siehe Abbildung 3.1). Hierdurch

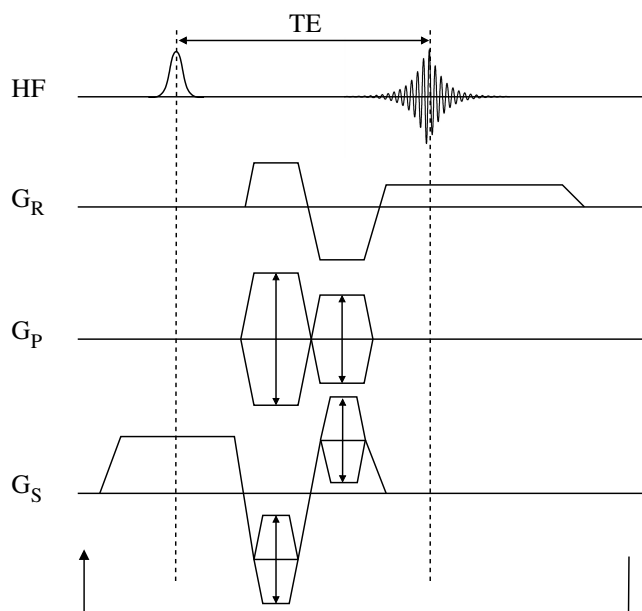


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung der zeitlichen Abfolge von HF-Puls, Gradientenschaltungen und Signalakquisition bei der verwendeten flusskompensierten 3D-FLASH-Sequenz. Das Echo ist im Akquisitionsfenster nach vorne gezogen.

konnte eine minimale Echozeit von 1.3 ms bei einer Repetitionszeit von 3.0 ms erreicht werden. Der beste Gefäß-Gewebe-Kontrast ergab sich bei einem Anregungswinkel von 30° . Mit einer Matrixgröße von $128 \times 128 \times 128$ und einem FOV von $18 \text{ mm} \times 18 \text{ mm} \times 18 \text{ mm}$ wurde eine isotrope Auflösung von $140 \mu\text{m}$ erzielt. Pro Herzzyklus wurden während der Diastole des Herzens acht Phasenkodierschritte aufgenommen. Somit betrug die Gesamtmesszeit für einen 3D-TOF-Datensatz etwa 7 min.

Zur räumlichen Darstellung der Gefäßstruktur wurde mit dem Softwarepaket AMIRA (AMIRA, TGS Inc., San Diego, CA, USA) aus den Fourier-interpolierten 3D-Daten-

sätzen (Matrixgröße: 256^3) sowohl eine *Maximum Intensity Projection* (MIP) [Lau90] als auch eine *Oberflächenrekonstruktion* des Gefäßverlaufes berechnet.

3.3.3 Phasenkontrast-Flussmessung

Die Phasenkontrast-Flussmessungen wurden mit einer Cine-FLASH-Sequenz² durchgeführt. Die Bildgebungsschicht wurde senkrecht zur absteigenden linken Koronararterie ausgerichtet. Die Triggerung erfolgte in der frühen Phase der Diastole. Pro Herzzyklus wurde für eine Serie von zehn Bildern jeweils eine k-Raumzeile aufgenommen. Die Bildgebungsgradienten wurden in erster Ordnung flusskompensiert. Um eine minimale Echozeit von 2.3 ms zu erreichen, wurde das Echo im Akquisitionsfenster um ein Viertel nach vorne gezogen. Mit einer Matrixgröße von 256×256 Bildpunkten und einem FOV von $18 \text{ mm} \times 18 \text{ mm}$ ergibt sich eine Auflösung in der Bildebene von $70 \mu\text{m} \times 70 \mu\text{m}$ bei einer Schichtdicke von $500 \mu\text{m}$. Zur Flusskodierung wurde ein bipolares Gradientenpaar in Schichtrichtung in die Bildgebungssequenz eingefügt. Dabei wurde die Flusskodierung der Schichtselektion überlagert, um die Echozeit kurz zu halten. Zur Steigerung der Genauigkeit der Flussmessung ist es effizienter, die Flussmessung mit verschiedenen starken Flusskodiergradienten durchzuführen als das Einzelexperiment zu wiederholen [Haa99]. Deshalb wurde die maximale Stärke der Flusskodiergradienten in fünf Schritten von -130 mT/m auf $+130 \text{ mT/m}$ variiert. Die Gesamtmesszeit für ein flusskodiertes Experiment betrug 4 min.

Die Daten wurden mit der Programmiersprache Interactive Data Language (IDL, Research Systems Inc., Boulder, CO, USA) prozessiert. Aus dem flusskodierten Datensatz erhält man für jeden Bildframe fünf Bilder mit unterschiedlicher Stärke des Flusskodiergradienten, aus denen nach Fourier-Interpolation (Matrixgröße: 512^2) der Rohdaten Phasenkarten berechnet wurden. Um Phasenänderungen aufgrund von Hintergrundgradienten zu eliminieren, wurde die Phasenkarte, bei der die Stärke des Flusskodiergradienten auf Null gesetzt wurde, von den vier restlichen Phasenkarten abgezogen. Die daraus resultierenden Phasenkarten zeigen nur noch eine geschwindigkeitsabhängige Phase. Eine mögliche Doppeldeutigkeit der Phaseninformation wurde durch das so genannte "phase-unwrapping" beseitigt [Pop93]. Dazu wurde vorausgesetzt, dass die beobachteten Geschwindigkeiten kleiner sind als es einer Phasendifferenz von π entspricht. Bei einem größeren Phasenunterschied wurde von einem Phasensprung ausgegangen, und die Phasenwerte wurden entsprechend korrigiert. Quantitative Flusskarten wurden durch einen linearen Fit der Phase in Abhängigkeit von der Stärke des jeweiligen Flusskodiergradienten ermittelt. Aufgrund der hohen Flussgeschwindigkeiten in den Koronararterien konnten diese Gefäße deutlich vom umgebenden Gewebe unterschieden und segmentiert werden.

²Bei der Cine-Bildgebung wird pro Herzzyklus eine k-Raumzeile NI -mal aufgenommen, so dass eine Bilderserie mit NI Bildframes entsteht.

3.4 Ergebnisse

3.4.1 Koronarangiographie

In Abbildung 3.2 ist eine MIP eines 3D-TOF-Datensatzes zu sehen. Der komplexe Verlauf und die feine Verästelung der Koronararterien sind deutlich sichtbar. Weiterhin zeigt diese MIP-Darstellung einen zusammenhängenden Gefäßverlauf, was darauf schließen lässt, dass keines der Gefäße Stenosen aufweist. Im Gegensatz hierzu zeigt

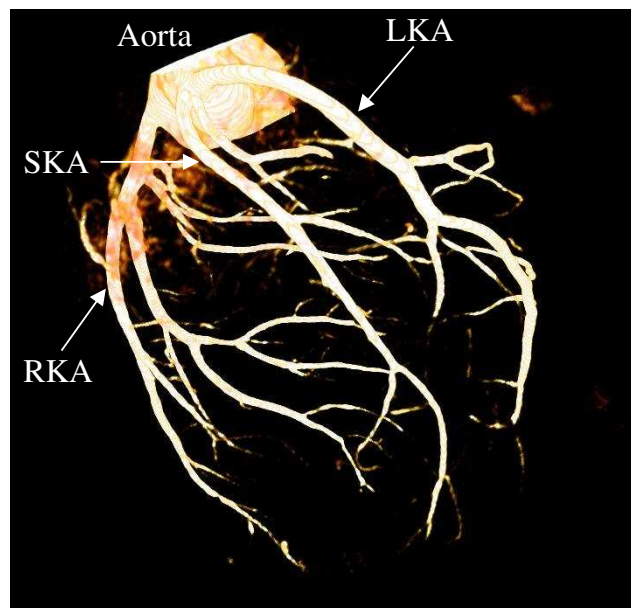


Abbildung 3.2: MIP-Darstellung eines 3D-TOF-Datensatzes (FOV: 18 mm x 18 mm x 18 mm, Auflösung: 140 μm isotrop). Deutlich zu erkennen ist ein zusammenhängender Gefäßverlauf und eine feine Verästelung der Koronararterien. Abkürzungen: *RKA*, rechte Koronararterie; *LKA*, linke Koronararterie; *SKA*, septale Koronararterie.

Abbildung 3.3 Beispiele von Herzen mit chronischer Stenose. Die Verengung der Koronararterie führt zu einer Veränderung der Flussgeschwindigkeit und somit zu einem veränderten TOF-Effekt in diesem Teil des Gefäßabschnittes. In der MIP-Darstellung äußert sich dies in einem schwächeren Kontrast zwischen Gefäß und umliegendem Gewebe. Der Kontrast ist umso schwächer, je größer die Verengung des Gefäßes ist und kann daher bei hochgradigen Stenosen zu einem Bruch in der Gefäßdarstellung führen.

3.4.2 Flussmessung am Phantom

Die Validierung der quantitativen Flussmessung wurde an einem Flussphantom durchgeführt. Abbildung 3.4 zeigt die Korrelation der mittleren Flussgeschwindigkeit (v_{theo}),

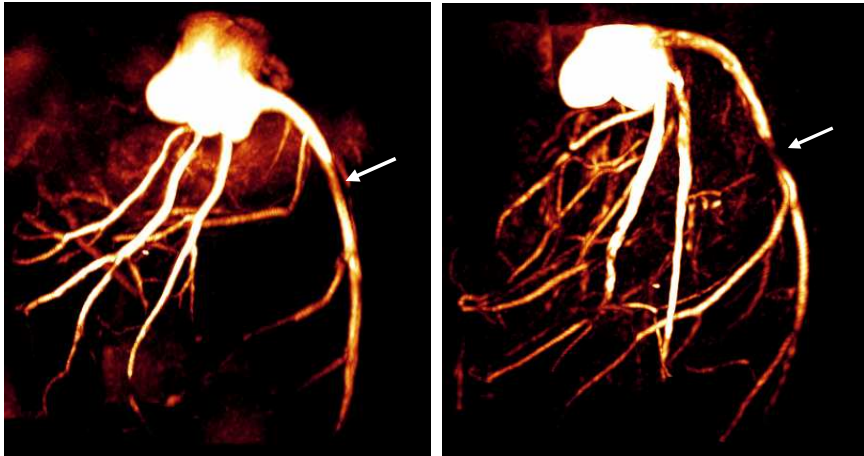


Abbildung 3.3: Gezeigt sind MIP-Darstellungen von Gefäßverläufen mit unterschiedlich stark ausgeprägten chronischen Stenosen.

die mit dem Ultraschallflussmessgerät bestimmt wurde, und den Flussgeschwindigkeiten, die sich aus den Phasenkontrast-Flussmessungen (v_{exp}) ergaben. Ein linearer Fit weist die gute Übereinstimmung zwischen den theoretischen und experimentell bestimmten Flussgeschwindigkeiten nach und demonstriert somit die hohe Genauigkeit der NMR-Experimente: $v_{exp} = (0.993 \pm 0.011) \cdot v_{theo} - (0.003 \pm 0.006)$.

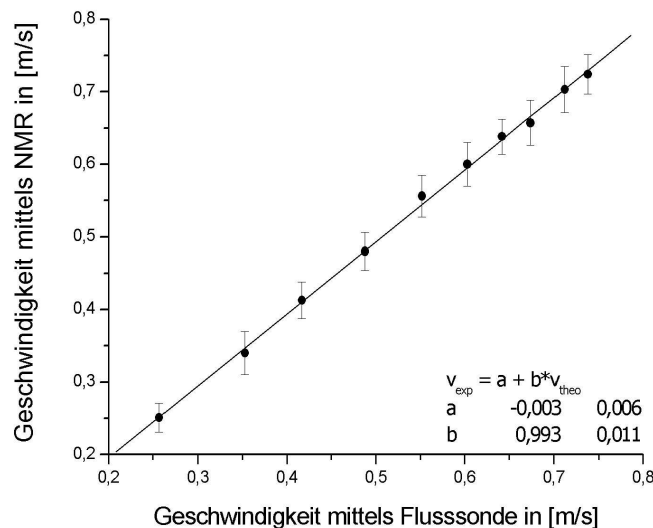


Abbildung 3.4: Korrelation der mittleren Flussgeschwindigkeiten gemessenen mit dem Ultraschallflussmessgerät (v_{theo}) und mit Phasenkontrast-Flussmessungen (v_{exp}). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung der mittleren Geschwindigkeit v_{exp} an.

3.4.3 Flussmessung am intakten Koronargefäß

Abbildung 3.5 zeigt eine 3D-Darstellung eines diastolischen Flussprofils der linken Koronararterie. Der Gefäßdurchmesser beträgt $490 \mu\text{m}$. Die maximale Flussgeschwindigkeit bestimmte sich zu $(15.3 \pm 2.4) \text{ cm/s}$, wohingegen sich für die mittlere Geschwindigkeit $(7.6 \pm 3.7) \text{ cm/s}$ ergab. Dieser mittlere Geschwindigkeitswert entspricht fast exakt der Hälfte der maximalen Flussgeschwindigkeit, wie es für laminares Flussverhalten zu erwarten ist. Bei den untersuchten Herzen variierte der Durchmesser der linken Koronararterie zwischen $440 \mu\text{m}$ und $530 \mu\text{m}$. In einigen Fällen wurde während der Diastole eine Geschwindigkeit größer als 40 cm/s gemessen. In Abbildung 3.6a

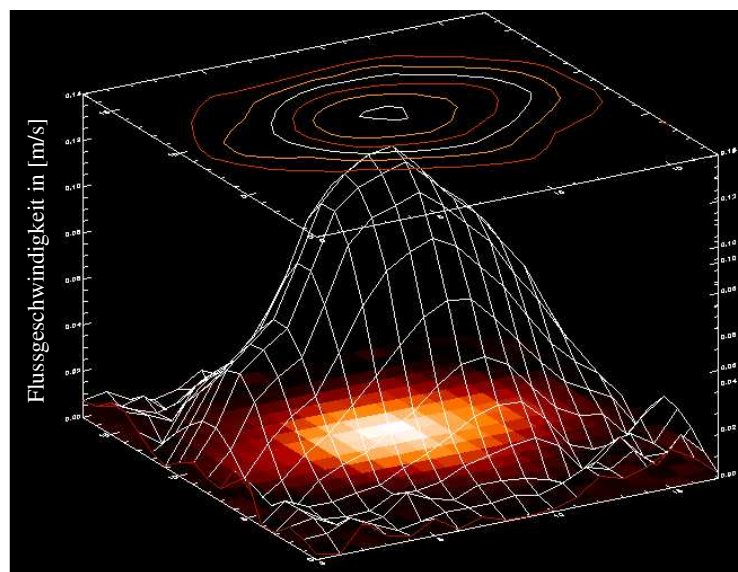


Abbildung 3.5: 3D-Darstellung eines diastolischen Flussprofils der linken Koronararterie. Der Gefäßdurchmesser beträgt $490 \mu\text{m}$. Deutlich zu erkennen ist ein parabolisches Geschwindigkeitsprofil, wie es eine laminare Strömung zeigt. Die maximale Flussgeschwindigkeit bestimmte sich zu $(15.3 \pm 2.4) \text{ cm/s}$, wohingegen sich für die mittlere Geschwindigkeit $(7.6 \pm 3.7) \text{ cm/s}$ ergab. Dieser mittlere Geschwindigkeitswert entspricht ziemlich genau der Hälfte der maximalen Flussgeschwindigkeit, wie es für laminares Flussverhalten zu erwarten ist.

ist die Zeitabhängigkeit des Koronarflusses während des Herzzyklus zu sehen und in Abbildung 3.6b eine Kontur-Darstellung der Flussgeschwindigkeiten. Der Koronarfluss zeigt eine deutliche Abhängigkeit vom Herzzyklus und eine gute Übereinstimmung mit dem linksventrikulären Druck. Dieser verhält sich beim isolierten Herzen ähnlich einer Sinus-Funktion und ist in Abbildung 3.6c dargestellt. Während der Diastole sinkt der linksventrikuläre Druck auf ein Minimum, wohingegen der Koronarfluss während dieser Ruhephase des Herzens ein Geschwindigkeitsmaximum erreicht. In der Systole hingegen zeigt der linksventrikuläre Druck ein Maximum, und der Koronarfluss ist während dieser Kontraktionsphase des Herzens auf ein Minimum reduziert. Dieses Minimum entspricht bei den untersuchten Herzen in etwa 50% der maximalen Flussrate.

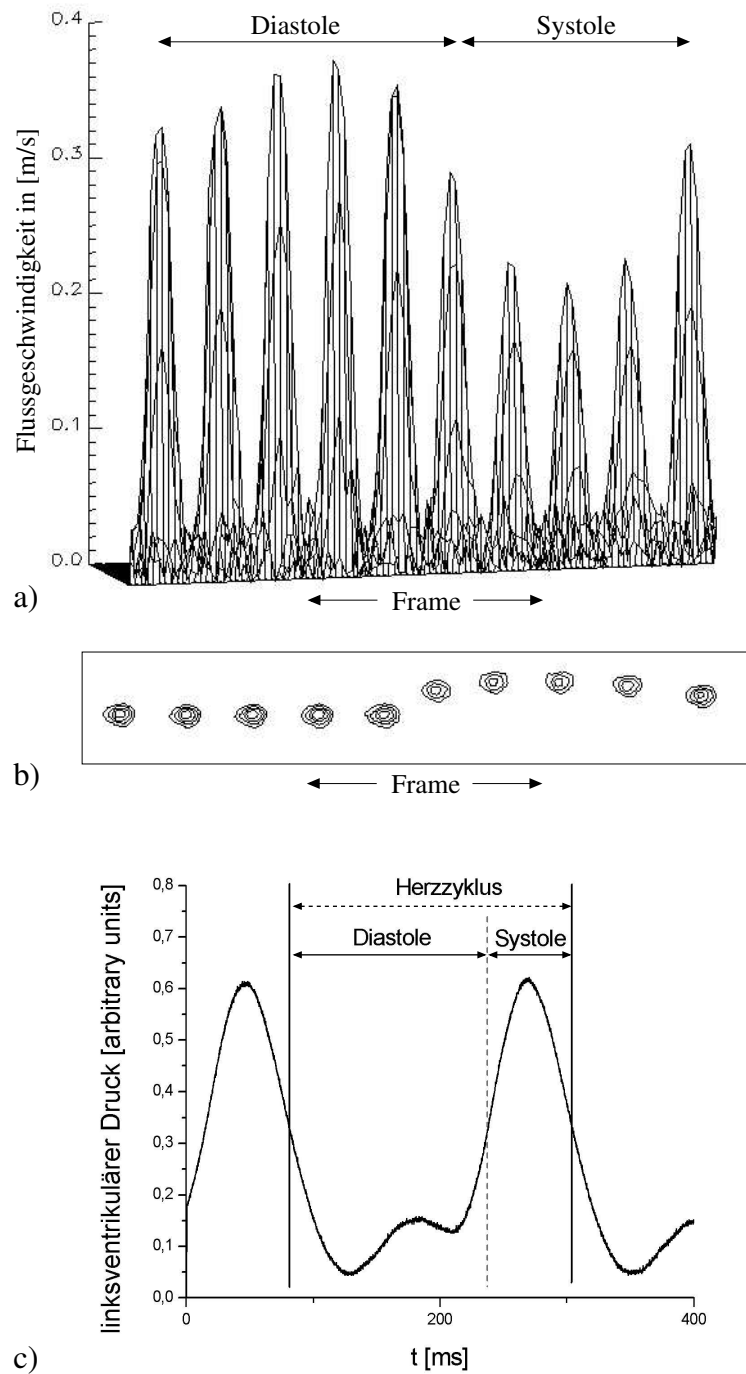


Abbildung 3.6: Zeitliches Verhalten des Koronarflusses während eines Herzzyklus (a) und Kontur-Darstellung der entsprechenden Flussgeschwindigkeiten (b). Der zeitliche Abstand zwischen zwei Flussprofilen beträgt 20 ms. Die maximale Flussgeschwindigkeit während der Diastole ergibt sich zu 40 cm/s. In der Systole sinkt die Geschwindigkeit bis auf 20 cm/s. Somit zeigt der gemessene Koronarfluss ein gegenphasisches Verhalten zum linksventrikulären Druck (c).

3.4.4 Flussmessung am stenotischen Koronargefäß

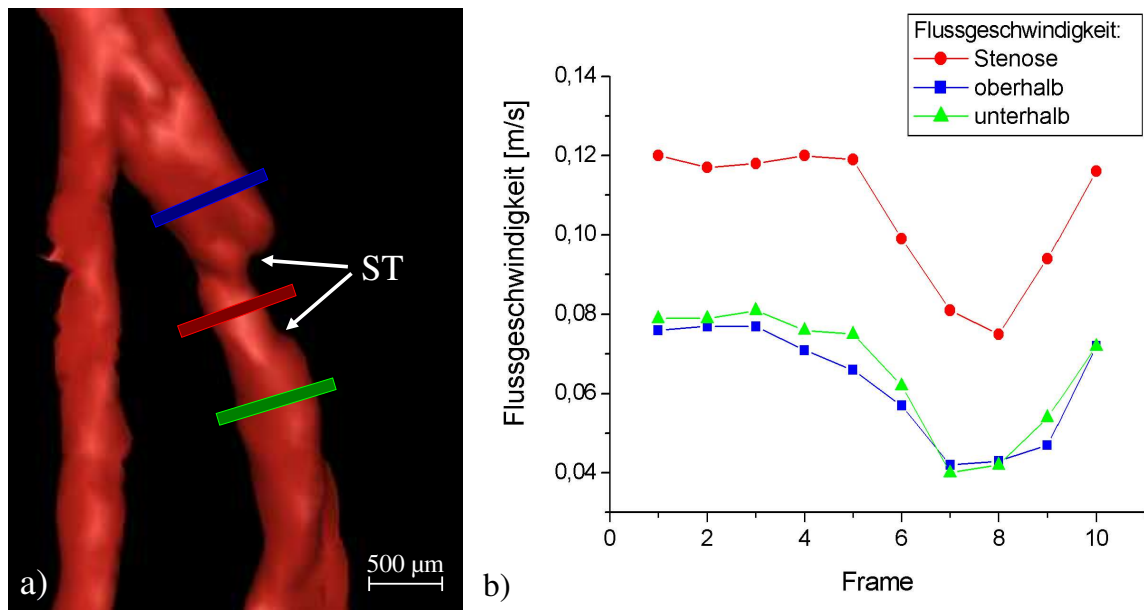


Abbildung 3.7: Oberflächenrekonstruktion der linken Koronararterie (a). Deutlich zu sehen ist die Querschnittsverengung im stenotischen Areal (ST). Eine schematische Orientierung der Bildschichten für die Flussmessungen ist eingezeichnet. Aufgrund der Gefäßverengung kommt es zu einer Erhöhung der Flussgeschwindigkeit in der Stenose (b).

An vier Herzen mit akuter Stenose wurde das Flussverhalten im Koronargefäß untersucht. Die Einschnürung des Gefäßes konnte mit der TOF-MRA eindeutig nachgewiesen werden. Abbildung 3.7a zeigt eine Oberflächenrekonstruktion eines 3D-TOF-Datensatzes, in der die Querschnittsverengung im stenotischen Areal des Herzkranzgefäßes deutlich zu erkennen ist. Anhand dieser anatomischen Information konnten die Bildschichten für die Flussmessungen genau positioniert werden. Das Flussverhalten wurde sowohl im stenotischen Gefäßbereich als auch ober- und unterhalb der Stenose untersucht. Eine schematische Orientierung der Bildschichten ist in Abbildung 3.7a eingezeichnet. Die Verengung der Koronararterie führt konsequenterweise zu einer Erhöhung der Flussgeschwindigkeit in diesem Gefäßabschnitt (siehe Abbildung 3.7b). Bei allen vier untersuchten Herzen konnte eine Erhöhung der Flussgeschwindigkeit im stenotischen Bereich der Koronararterie nachgewiesen werden, jedoch wurde kein turbulenter Fluss beobachtet.

3.5 Diskussion

Koronarangiographie

Die implementierte TOF-Sequenz ermöglicht eine genaue Rekonstruktion der Gefäßstruktur des Herzens. Akute und chronische Stenosen sowie Infarkte können eindeutig nachgewiesen und aufgrund der hohen Ortsauflösung genau lokalisiert werden. Dies gestattet die genaue Schichtpositionierung für Flussmessungen in stenotischen Koronargefäßen.

Flussmessung

Die Ergebnisse der Flussmessungen zeigen, dass hochaufgelöste Phasenkontrast-Bildgebung die Quantifizierung von Flussgeschwindigkeiten in den Koronararterien isolierter Herzen ermöglicht. Dabei konnte ein parabolisches Geschwindigkeitsprofil in den Koronararterien eindeutig nachgewiesen werden (siehe Abbildung 3.5). Maximale Flussgeschwindigkeit ergab sich in der Ruhephase des Herzens, wohingegen minimaler Fluss während der Kontraktionsphase gemessen wurde. Aus dem Kontur-Plot (siehe Abbildung 3.6b) ist ersichtlich, dass das Koronargefäß während der Diastole nahezu arretiert ist, wobei während der Systole eine deutliche Bewegung des Gefäßes erkennbar ist.

In den untersuchten stenotischen Herzen wurde kein turbulenter Fluss beobachtet, obwohl in allen Fällen eine Erhöhung in der Flussgeschwindigkeit gemessen wurde. Diese Erhöhung der Flussgeschwindigkeit wird durch eine Verringerung der Querschnittsfläche im stenotischen Areal des Koronargefäßes hervorgerufen. Der Anstieg der Geschwindigkeit sollte folglich mit der Gefäßverengung korreliert sein und somit den Grad der Stenose widerspiegeln. Das Verhältnis aus Flussgeschwindigkeit oberhalb des stenotischen Areals und in der Stenose verhält sich umgekehrt proportional zu den jeweiligen Querschnittsflächen:

$$\frac{A_2}{A_1} = \frac{v_1}{v_2}, \quad (3.6)$$

wobei A_i die Querschnittsfläche i und v_i die korrespondierende mittlere Geschwindigkeit beschreibt. Somit lässt sich der Stenosegrad sowohl über das Verhältnis der Querschnittsflächen A_2/A_1 als auch über das der Geschwindigkeiten v_1/v_2 bestimmen. In Tabelle 3.1 sind die so bestimmten Stenosegrade für die vier untersuchten Herzen zusammengefasst. Diese Ergebnisse zeigen, dass der Anstieg der Flussgeschwindigkeit sehr gut mit der Abnahme der Querschnittsfläche im stenotischen Bereich des Gefäßes korreliert. Demnach ist anhand von Phasenkontrast-Flussmessungen der Stenosegrad des Herzens abschätzbar.

Herz	A_2/A_1	v_1/v_2
1	0.66	0.68
2	0.63	0.65
3	0.57	0.58
4	0.60	0.59

Tabelle 3.1: Stenosegrad: berechnet aus dem Verhältnis der Querschnittsflächen und aus dem Verhältnis der Flussgeschwindigkeiten. Die Querschnittsfläche bestimmt sich aus der Anzahl der Bildpixel des segmentierten Gefäßes und als Flussgeschwindigkeit wird die mittlere Geschwindigkeit in diesem Gefäßquerschnitt berechnet.

Die Genauigkeit der Bestimmung des Stenosegrades wurde an einem Phantom mit unterschiedlichen Querschnittsflächen untersucht und wird im Wesentlichen beeinflusst von den Voxeldimensionen in Bezug auf die Gefäßausdehnung. Tang et al. [Tan93] zeigte, dass mindestens 16 Voxel im Gefäßlumen liegen müssen, um eine Messgenauigkeit von 10% zu gewährleisten. Bei den hier gezeigten Experimenten wurde die Querschnittsfläche des Koronargefäßes von ungefähr 60 Voxeln ausgefüllt, während die Querschnittsfläche im stenotischen Areal immerhin noch mindestens 34 Voxel beinhaltete. Folglich ist die erzielte Auflösung ausreichend, um Flussgeschwindigkeiten und Gefäßquerschnittsflächen von stenotischen Herzen zu bestimmen, ohne dass eine Korrektur für Partialvolumen-Effekte erforderlich ist. Eine weitere mögliche Fehlerquelle bei der quantitativen Flussmessung könnte eine mangelhafte Übereinstimmung zwischen Flusskodierichtung und tatsächlicher Flussrichtung sein. So werden die Geschwindigkeitswerte verfälscht, wenn die Bildschicht nicht exakt senkrecht zum Gefäß orientiert, sondern um einen gewissen Winkel verkippt ist. Da der Messwert für die Geschwindigkeit jedoch nur vom Kosinus dieses Winkels abhängt [Fir90], ist dieser Effekt vernachlässigbar. Selbst bei einer Verkipfung um 8° läge der relative Fehler unterhalb von 1%.

Die Übertragung der in diesem Kapitel beschriebenen NMR-Techniken auf das Tier *in vivo* bleibt eine große Herausforderung. Zum einen muss für die Genauigkeit der Messungen eine hohe räumliche Auflösung erzielt werden. Zum anderen müssen die Probleme, die aus der Atembewegung und der Bewegung des Blutes in den Ventrikeln resultieren, gelöst werden.

3.6 Ausblick

Die 3D-TOF-MRA ermöglicht, den Status von Koronargefäßen unter verschiedenen pathologischen Bedingungen zu charakterisieren. Die morphologischen Veränderungen im Gewebe, die aus einer Unterversorgung des Herzmuskels resultieren, können beispiels-

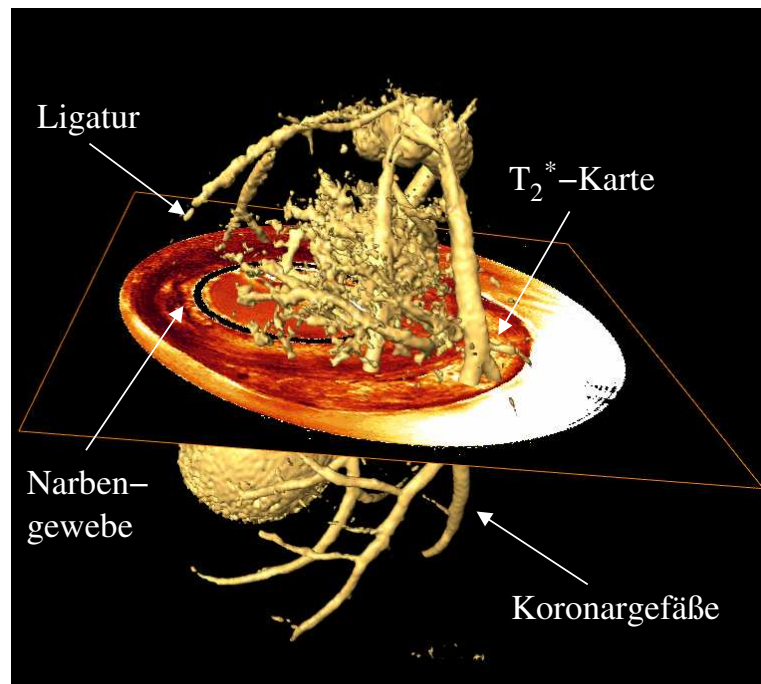


Abbildung 3.8: Fusion einer T_2^* -Karte mit einer Oberflächenrekonstruktion der Koronararterien eines chronisch infarzierten Herzens. Diese Darstellung liefert gleichzeitig Informationen über die Morphologie und den Gefäßstatus des Herzens.

weise mit einer T_2^* -gewichteten Sequenz detektiert werden (siehe Kapitel 4). Durch Fusionierung der Angiographie-Daten mit T_2^* -Daten erhält man gleichzeitig visuelle Informationen über die Korrelation zwischen Gefäßstatus und Morphologie des Herzmuskels (siehe Abbildung 3.8).

Im Rahmen einer umfangreichen Studie zur Untersuchung des Stenose-Modells der Ratte mit NMR-Methoden wurde die 3D-TOF-MRA mit spektroskopischer Bildgebung kombiniert [Gre03][Nah03]. Mit dieser Fusionsdarstellung können Aussagen über die Auswirkungen von Lage und Grad der Stenose auf den Herzmetabolismus getroffen werden.

In Zukunft könnte somit die Fusionsbildung eine umfassendere Charakterisierung der koronaren Herzerkrankung liefern, da sie anatomische Gefäßinformationen mit morphologischen oder metabolischen Veränderungen im Herzmuskel verknüpft.

Kapitel 4

NMR-Mikroskopie am Herzmuskel mittels T_2^* -Bildgebung

4.1 Motivation

Der morphologische Aufbau der Herzmuskulatur ist von grundlegender Bedeutung für die Kontraktionsfähigkeit des Herzens. Hierbei spielt die Orientierung der Muskelfasern eine entscheidende Rolle für die elektromechanischen Eigenschaften des Herzens und beeinflusst somit auch den Sauerstoffverbrauch und die Perfusion des Herzmuskels [Sco98]. Darüber hinaus ist bekannt, dass es bei myokardialen Erkrankungen zu morphologischen Veränderungen in der Muskelstruktur des Herzens kommt [Wic92][Tez75]. Aus diesen Gründen ist eine genaue Kenntnis der Faserstruktur in gesunden und erkrankten Herzen von großer Relevanz für ein umfassendes Verständnis normaler und abnormaler Elektromechanik des Herzmuskels.

Zur Untersuchung von Muskelfaserstrukturen wird konventionell die Diffusionsbildgebung (siehe Kapitel 5) verwendet. Da diese Technik sehr zeitaufwendig und darüber hinaus bei bewegten Objekten nur schwer zu realisieren ist, sollte im Rahmen dieser Arbeit ein neuer Ansatz zur Visualisierung von Mikrostrukturen auf Anwendbarkeit am schlagenden Herzen getestet werden.

Wie in Kapitel 1.2.2 beschrieben, ist der Herzmuskel aus diskreten Muskelschichten aufgebaut, die einen sehr komplexen Faserverlauf aufweisen. Zwischen diesen Muskelschichten befinden sich unterschiedlich große Extrazellulärbereiche. Somit weist der Herzmuskel eine sehr heterogene Suszeptibilitätsverteilung auf, die zu lokalen Magnetfeldinhomogenitäten führt. Da der Relaxationszeitparameter T_2^* durch diese gewebe-spezifischen Inhomogenitäten beeinflusst wird, liefert die T_2^* -Bildgebung direkte Informationen über die untersuchte biologische Mikrostruktur.

Das Ziel dieses Abschnitts der vorliegenden Arbeit war es aufzuzeigen, dass die Mikrostruktur des Herzmuskels mittels hochaufgelöster T_2^* -Bildgebung dargestellt werden kann. Insbesondere sollte geklärt werden, ob sich die charakteristische Verlaufsrichtung der Muskelfasern mittels T_2^* nachweisen lässt. Darauf aufbauend sollten die morphologischen Veränderungen im chronisch infarzierten Herzmuskel nachgewiesen werden.¹

4.2 Theoretische Grundlagen

Um das zeitliche Signalverhalten in der Gegenwart lokaler Magnetfeldinhomogenitäten bei der Gradientenecho-Bildgebung exakt beschreiben zu können, ist die Kenntnis der Feldverteilung $p(B)$ in jedem Bildvoxel erforderlich (siehe Kapitel 1.1.4). Für die meisten biologischen Systeme lässt sich die durch eine heterogene Suszeptibilitätsverteilung verursachte Feldverteilung $p(B)$ im Allgemeinen durch eine Lorentzverteilung beschreiben [Suk01]. Folglich ist die Annahme eines monoexponentiellen Signalzerfalls gerechtfertigt, der mit der T_2^* -Relaxationszeit charakterisiert wird:

$$S(TE) \propto e^{-\frac{TE}{T_2^*}}, \quad (4.1)$$

wobei T_2^* durch die Spin-Spin-Relaxationszeit T_2 und eine Relaxationszeit T_2' definiert ist:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2'}. \quad (4.2)$$

Hierbei beschreibt die Zeitkonstante T_2' Signalverluste aufgrund von Dephasierungseffekten, hervorgerufen durch lokale Feldinhomogenitäten. Die relative Ausdehnung dieser Feldinhomogenitäten, verglichen mit der Voxelgröße eines Bildes, lässt sich in drei Kategorien einteilen [Yab98]:

- **Makroskopische** Feldinhomogenitäten werden von Magnetfeldverzerrungen an Grenzflächen wie zum Beispiel zwischen dem Herzen und der Lunge, größeren Lufteinschlüssen oder von einem inhomogenen B_0 -Feld verursacht. Sie erstrecken sich in der Regel über mehrere Voxel und enthalten keine physiologischen oder anatomischen Informationen.
- **Mikroskopische** Feldinhomogenitäten sind auf den atomaren und molekularen Bereich beschränkt und somit in ihrer räumlichen Ausdehnung viel kleiner als die Dimensionen eines Voxels. Sie resultieren hauptsächlich aus der zeitabhängigen

¹Der Inhalt dieses Kapitels ist in der Zeitschrift *Magnetic Resonance in Medicine* veröffentlicht [Köh03a][Köh03d].

Dipol-Dipol-Wechselwirkung wie auch aus der skalaren Wechselwirkung und führen zu irreversiblen Signal-Dephasierungen, die mit der Relaxationskonstanten T_2 beschrieben werden.

- **Mesoskopische** Feldinhomogenitäten gehen zwar über den molekularen Bereich hinaus, bleiben aber in der Regel auf Voxelgröße beschränkt. Sie enthalten gewebespezifische Informationen und sind bei der Untersuchung von biologischen Gewebestrukturen und Funktionen von Interesse, so zum Beispiel bei funktioneller Bildgebung [Oga90][Bell91] und bei Strukturuntersuchungen am Knochenmark [Weh91][Maj91].

Um den Einfluss der Inhomogenitäten auf das Signalverhalten analysieren zu können, muss die räumliche Verteilung und die Geometrie der Quellen, die für die Erzeugung von Feldinhomogenitäten verantwortlich sind, genau charakterisiert werden.

Können die Feldinhomogenitäten als statisch betrachtet werden, so wird das NMR-Signal durch zwei unterschiedliche Prozesse beeinflusst:

1. Ein Unterschied in den lokalen Resonanzfrequenzen führt zu einem Verlust an Phasenkohärenz und somit zu einer reversiblen Spindephasierung und einem daraus resultierenden Signalverlust in der Gradientenecho-Bildgebung. Dieser Beitrag zur Relaxation wird mit dem **statisch dephasierenden Regime** beschrieben.
2. Diffusion von Spins zwischen Regionen mit unterschiedlicher magnetischer Feldstärke führt ebenfalls zu einem Verlust an Phasenkohärenz. Die daraus resultierende Signalabnahme wird mit dem **dynamisch dephasierenden Regime** beschrieben.

Signalverlust durch statische Dephasierung kann mit Hilfe von konventionellen Spin-echo-Sequenzen refokussiert werden, wohingegen Diffusionseffekte zu einem irreversiblen Signalverlust führen. Für eine genauere Analyse des statischen Effektes betrachten wir zunächst ein Gewebemodell bestehend aus zwei Kompartimenten mit unterschiedlichen Suszeptibilitäten ($\Delta\chi = \chi_2 - \chi_1$). Die Relaxationsrate aufgrund statischer Dephasierung ergibt sich für dieses Gewebemodell zu [Yab94][Yab97][Yab98]

$$\frac{1}{T_{2,static}'} = V \cdot f \cdot \pi \cdot \gamma \cdot \Delta\chi \cdot B_0, \quad (4.3)$$

wobei V das Volumenverhältnis des kleineren Kompartimentes angibt und der Koeffizient f von der Geometrie des Subsystems abhängig ist. Für bekannte Geometrien lässt sich f berechnen [Yab94]. Wird die lokale Feldinhomogenität beispielsweise von

kugelförmigen Objekten erzeugt, bestimmt sich f zu $\frac{8\cdot\pi}{9\cdot\sqrt{3}}$. Für zufällig orientierte Zylinder ist f gegeben durch $4/3$ und für zueinander parallel orientierte Zylinder ergibt sich eine Winkelabhängigkeit von $2\cdot\sin^2\vartheta$, wobei ϑ den Winkel zwischen Zylinderachse und \vec{B}_0 angibt. Gleichung 4.3 lässt erkennen, dass im statisch dephasierenden Regime der Dephasierungseffekt linear mit der Größe des B_0 -Feldes und linear mit dem Suszeptibilitätsunterschied $\Delta\chi$ zwischen den zwei Kompartimenten skaliert. Im dynamisch dephasierenden Regime kann der Signalverlust aufgrund von Diffusionseffekten angenähert werden durch [Bar02][Ken94][Maj88][Mic02][Yab98]

$$\frac{1}{T'_{2,dynamisch}} = \frac{1}{12} \cdot D \cdot \gamma^2 \cdot G_{sus}^2 \cdot TE^2, \quad (4.4)$$

wobei mit D die Diffusionskonstante und mit G_{sus} der magnetische Feldgradient - verursacht durch eine heterogene Suszeptibilitätsverteilung im betrachteten Gewebe - bezeichnet wird. Dieser Suszeptibilitätsgradient G_{sus} zeigt auch eine lineare Abhängigkeit von dem Suszeptibilitätsunterschied $\Delta\chi$ im Gewebe und von der Stärke des Grundmagnetfeldes B_0 . Sind die geometrischen Quellen der Inhomogenität bekannt, kann G_{sus} exakt berechnet werden.

Experimentell lässt sich $T'_{2,statisch}$ mit einer modifizierten *Two-Point-Dixon-Sequenz* quantifizieren [Dix84][Ber91][Glo96]. Diese Methode wurde entwickelt, um Suszeptibilitätseffekte zu bestimmen und macht Gebrauch von der Akquisition von zwei Spinecho-Bildern bei gleicher Echozeit TE , wobei aber während der Akquisition des zweiten Bildes die Position des 180° -Pulses um ein Zeitintervall ΔT verschoben wird (siehe Abbildung 4.1a). Der Betrag des Verhältnisses der Signalintensitäten S_2/S_1 liefert Informationen über Signalverluste, die bei der Akquisition des zweiten Bildes aufgrund einer unvollständigen Rephasierung von Suszeptibilitätseffekten auftreten. Diese Signalverluste A' lassen sich mit einer Relaxationszeit $T'_{2,statisch}$ beschreiben:

$$A' \equiv \frac{S_2}{S_1} = \exp\left(-\frac{2 \cdot \Delta T}{T'_{2,statisch}}\right). \quad (4.5)$$

Der Einfluss von Diffusionseffekten, hervorgerufen durch interne Gradientenfelder, lässt sich mit Hilfe einer weiteren Akquisition einer *Carr-Purcell-Meiboom-Gill(CPMG)-Sequenz* [Mei58] mit gleicher Echozeit TE , aber mit zusätzlichen 180° -Refokussierungspulsen abschätzen (siehe Fig. 4.1b). Die Diffusionsabschwächung einer CPMG-Sequenz wird nämlich durch den zeitlichen Abstand der Refokussierungspulse beeinflusst, da dieser Abstand eine *effektive Zeit* beschreibt, in der Spins diffundieren können. Somit lässt sich die Diffusionsabschwächung einer CPMG-Sequenz durch eine Erhöhung der

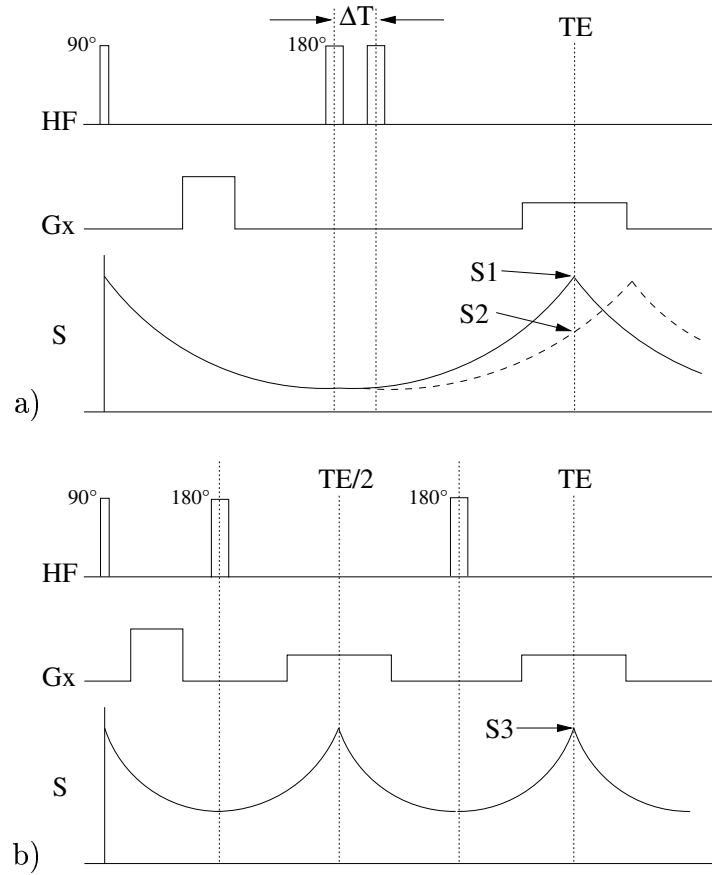


Abbildung 4.1: a) Two-Point-Dixon-Sequenz mit asymmetrischer Echo-Akquisition. Akquisition S_1 ist ein konventionelles Spinecho, wohingegen während der Akquisition des zweiten Bildes der 180° -Puls um ein Zeitintervall ΔT verschoben wurde. S_2 weist Signalverluste aufgrund einer unvollständigen Rephasierung von Suszeptibilitätseffekten auf. b) CPMG-Sequenz mit zwei 180° -Refokussierungspulsen. G_x , Gradient in x-Richtung; S_1 - S_3 , Signalintensitäten.

Anzahl N der Refokussierungspulse reduzieren [Car54]:

$$S_{CPMG} \propto \exp\left(-\frac{1}{12 \cdot N^2} \cdot D \cdot \gamma^2 \cdot G_{sus}^2 \cdot TE^3\right). \quad (4.6)$$

Eine Signalabschwächung H' aufgrund von Diffusionseffekten, verursacht durch interne magnetische Feldgradienten, lässt sich somit experimentell aus dem Signalverhältnis S_3/S_1 bestimmen:

$$H' \equiv \frac{S_3}{S_1} \propto \exp\left(\frac{1}{12} \cdot D \cdot \gamma^2 \cdot G_{sus}^2 \cdot TE^3 \cdot \left(1 - \frac{1}{N^2}\right)\right). \quad (4.7)$$

4.3 Material und Methoden

4.3.1 Material

Die Untersuchung der Morphologie des Herzmuskels mittels T_2^* -Bildgebung wurde an 12 intakten Rattenherzen durchgeführt. Die generelle Vorgehensweise bei der Herzpräparation ist in Kapitel 2.2.1 beschrieben. Für eine quantitative Beschreibung des auf T_2^* basierenden Muskelfaserkontrastes wurden weitere fünf gesunde Tiere untersucht. Bei diesen Experimenten wurde die Herzbewegung durch Perfusion mit einer kardioplegischen Pufferlösung angehalten, um einen möglichen Einfluss der Herzbewegung auf die diffusionsgewichteten Experimente zu vermeiden. Neben intakten Herzen wurde auch die Morphologie von sechs Herzen mit einem acht Wochen alten chronischen Infarkt mittels T_2^* -Bildgebung untersucht. Nach Abschluss des jeweiligen NMR-Versuchsprotokolls wurden die Herzen zunächst in Formalin fixiert. Nach dem Einbetten in Paraffin wurden 4 μm dicke Schnitte für einen Histologievergleich angefertigt.

Die Experimente zur T_2^* -Bildgebung wurden am 11.75 T AMX500 NMR-Mikroskopiesystem durchgeführt. Als HF-Spule diente ein quadraturbetriebener Birdcage-Resonator. Technische Einzelheiten zum Spektrometer und zur verwendeten HF-Spule finden sich in Kapitel 2.1.

4.3.2 T_2^* -Messung

Zur quantitativen T_2^* -Bestimmung wurde eine Multigradientenecho-Sequenz verwendet. Bei dieser Sequenz werden pro HF-Anregung mit Hilfe eines alternierenden Lesegradienten Echos mit unterschiedlicher Echozeit TE und folglich mit unterschiedlicher T_2^* -Wichtung erzeugt (siehe Abbildung 4.2). Nach Akquisition des ersten Echos wird durch Invertieren des Lesegradienten eine erneute Rephasierung der Spins erzielt. Dieser Gradientenzyklus wird NI -mal wiederholt. Da nur Echos unter dem positiven Lesegradienten aufgenommen werden, konnte der negative Gradientenpuls mit einer kürzeren Zeitdauer, dafür aber mit einem stärkeren Gradientenwert geschaltet werden, denn für eine vollständige Rephasierung der Spins ist nur die Fläche unter dem Gradienten entscheidend. Somit konnte ein zeitlicher Abstand TE_{inter} zwischen einzelnen Echos von 3.36 ms realisiert werden. Die minimale Echozeit betrug 2.05 ms. Mit einer Matrixgröße von 256 x 256 Bildpunkten und einem FOV von 20 mm x 20 mm ergibt sich eine nominale Auflösung von 78 μm x 78 μm . In den einzelnen Experimenten wurde eine Schichtdicke zwischen 250 μm und 1 mm gewählt. Um den Einfluss der Herzbewegung auf das Experiment zu minimieren, wurde die Bildgebungssequenz mit dem Herzschlag durch Triggern auf die Herzdruckkurve synchronisiert. Die Akquisition von 16 Echos pro Herzschlag konnte somit in der bewegungsärmsten Herzphase - der

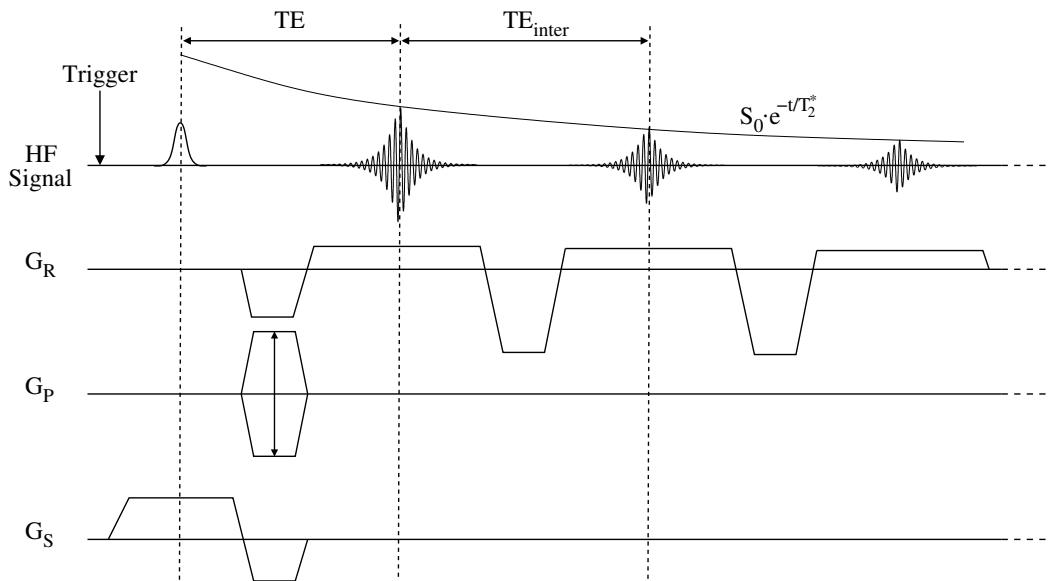


Abbildung 4.2: Multigradientecho-Sequenz. Durch die Anwendung eines alternierenden Lesegradienten G_R entstehen Gradientenechos mit unterschiedlicher T_2^* -Wichtung.

Diastole - durchgeführt werden. Zur Auswertung wurden die Messdaten auf eine Matrixgröße von 512×512 Fourier-interpoliert. Zur Berechnung quantitativer T_2^* -Karten wurde für jeden Bildpixel ein monoexponentieller Fit der Bilderserie durchgeführt.

4.3.3 Quantifizierung von T_2^* -Effekten

Den Einfluss des statisch dephasierenden Regimes auf die T_2^* -Relaxationszeit wurde mit Hilfe einer modifizierten Two-Point-Dixon-Sequenz bestimmt (siehe Abbildung 4.1a). Hierfür wurden zwei Spinecho-Experimente (S_1, S_2) mit $TR/TE = 1500 \text{ ms}/25 \text{ ms}$ durchgeführt, wobei die Position des 180° -Refokussierungspulses während der Akquisition des zweiten Bildes (S_2) um 5 ms verschoben wurde. Aus dem Verhältnis der Signalintensitäten S_2/S_1 lässt sich ein suszeptibilitätsgewichtetes Bild A' errechnen, das Signalverluste aufgrund statischer Dephasierungseffekte enthält.

Für die Untersuchung des Einflusses des dynamisch dephasierenden Regimes auf die T_2^* -Relaxationszeit wurde ein CPMG-Experiment mit gleicher Echozeit TE , aber mit zusätzlichen Refokussierungspulsen durchgeführt (S_3). Mit insgesamt drei 180° -Pulsen ist die Diffusionsabschwächung um einen Faktor $8/9$ reduziert im Vergleich zu dem konventionellen Spinecho-Experiment (S_1) mit nur einem 180° -Puls. Ein diffusionsgewichtetes Bild H' infolge von Diffusionseffekten in internen, probenspezifischen Magnetfeldgradienten erhält man durch Bestimmung des Verhältnisses S_3/S_1 .

Mit einem FOV von $20 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$ und einer Matrixgröße von 256×256 ergab

sich eine In-Plane-Auflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m}$ bei einer Schichtdicke von $500 \mu\text{m}$. Um einen möglichen Einfluss der Herzbewegung auf diese Experimente auszuschließen, wurden diese Experimente an einem kardioplegischen, also an einem nicht schlagenden Herzen durchgeführt.

4.4 Ergebnisse

4.4.1 Messungen am intakten Herzen

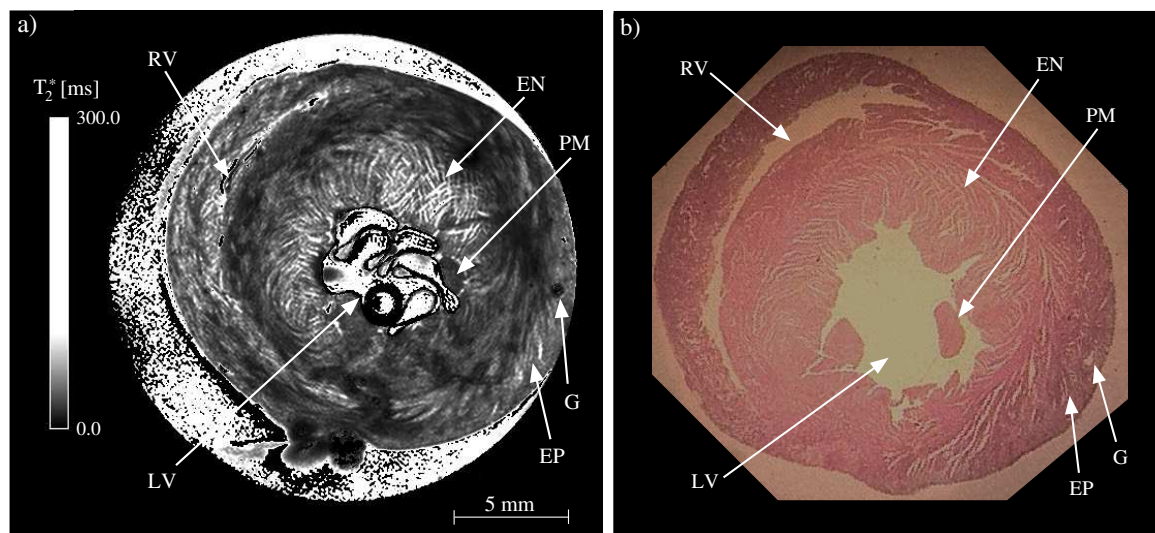


Abbildung 4.3: a) T_2^* -Karte eines isolierten, schlagenden Rattenherzens im Kurzachsschnitt mit einer In-Plane-Auflösung von $78 \mu\text{m}$ und einer Schichtdicke von $250 \mu\text{m}$. Die Gesamtmesszeit betrug 24 min. Zu sehen ist die unterschiedliche Verlaufsrichtung der Muskelfasern zwischen endokardialen (EN) und epikardialen (EP) Myokard. Eingezeichnet sind ferner der linke Ventrikel (LV) mit dem Druckballon, der kollabierte rechte Ventrikel (RV), der Papillarmuskel (PM) und ein Gefäß (G). b) Korrespondierender Histologie-Schnitt.

Abbildung 4.3a zeigt eine T_2^* -Karte des isolierten Herzens im Kurzachsschnitt. Die Auflösung beträgt $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$ bei einer Gesamtmesszeit von etwa 24 min. Zu sehen sind der *linke Ventrikel* mit dem Druckballon und der kollabierte *rechte Ventrikel*. Ein Vergleich mit dem korrespondierenden Histologie-Schnitt (Abbildung 4.3b) ermöglicht die genaue Zuordnung weiterer anatomischer Details wie zum Beispiel einzelner Gefäße oder die Lage des Papillarmuskels. Darüberhinaus lässt die T_2^* -Karte eine sehr komplexe Mikrostruktur erkennen, die auch die Histologie aufzeigt. Diese Mikrostruktur zeigt den Verlauf der *Muskelfasern* beziehungsweise der *Muskelfaserschichten* des Herzens auf. Zu erkennen ist ein Unterschied in der Verlaufsrichtung der

Fasern zwischen *endokardialem* und *epikardialem* Myokard. Im endokardialen Myokard verlaufen die Fasern vorwiegend radial im Vergleich zu den mehr umlaufenden epikardialen Fasern. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass der prinzipielle Faserverlauf von der jeweiligen Schichtposition und -orientierung abhängt. Auch unterscheidet sich die Dichte der Muskelfasern zwischen endokardialem und epikardialem Myokard. Der Abstand benachbarter Faserschichten ist im endokardialen Myokard größer und somit ergeben sich in diesem Gebiet höhere T_2^* -Werte. Folglich sind die T_2^* -Werte im Myokard über einen großen Bereich verteilt, der zwischen 20 ms und Werten größer als 200 ms liegt. Um die gute Übereinstimmung zwischen T_2^* -Karte und histologischem Schnittbild hinsichtlich der myokardialen Faserorientierung zu verdeutlichen, ist in Abbildung 4.4 eine Vergrößerung dieser Bilder zu sehen.

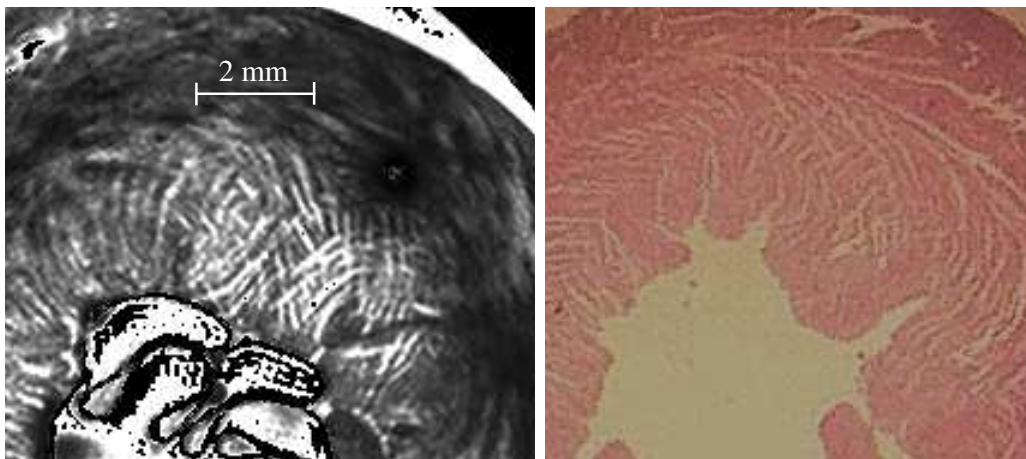
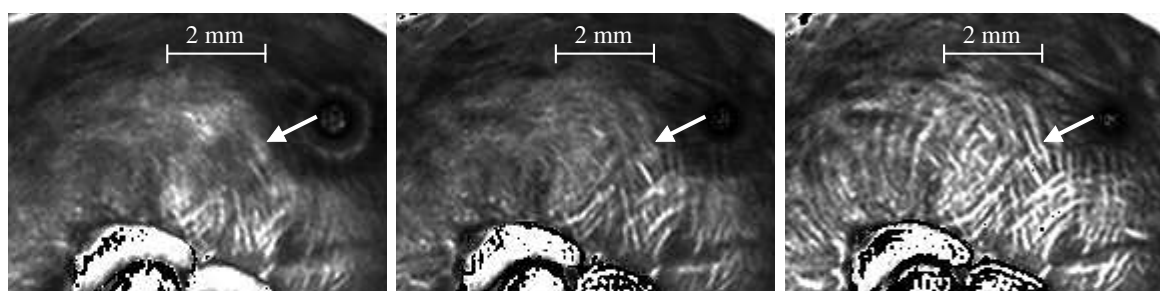


Abbildung 4.4: Ausschnittsvergrößerungen aus Abbildung 4.3.



(a) $\Delta z = 1\text{mm}$, $t = 3\text{min}$

(b) $\Delta z = 500\mu\text{m}$, $t = 12\text{min}$

(c) $\Delta z = 250\mu\text{m}$, $t = 24\text{min}$

Abbildung 4.5: Darstellung des Faserverlaufs in Abhängigkeit von der Ortsauflösung. Eine Verbesserung der Ortsauflösung in Schichtrichtung (Δz) liefert einen genaueren Faserverlauf, führt aber auch zu einer Verlängerung der Gesamtmesszeit t .

Die Abhängigkeit der Faserdarstellung von der Ortsauflösung ist in Abbildung 4.5 veranschaulicht. In der in Abbildung 4.5a angedeuteten Region ergibt sich aufgrund des Partialvolumen-Effektes nur ein mittleres T_2^* , wohingegen in Abbildung 4.5c einzelne Fasern deutlich zu erkennen sind.

Abbildung 4.6 zeigt eine T_2^* -Karte des isolierten Rattenherzens im Langachsschnitt. Zu erkennen ist der linke Ventrikel mit dem Druckballon und der komplexe Faserverlauf des Myokards.

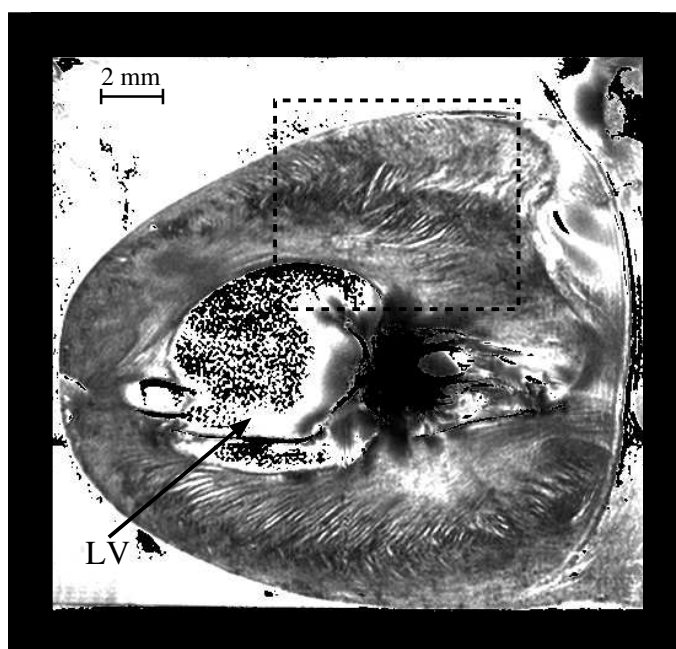
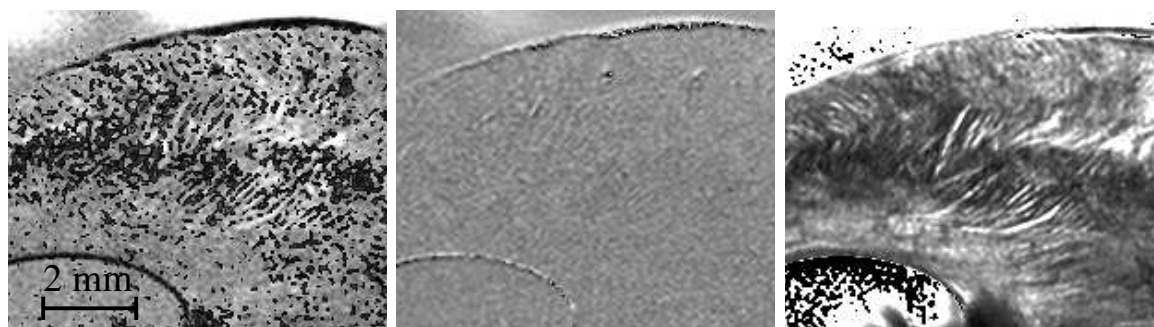


Abbildung 4.6: T_2^* -Karte eines isolierten, schlagenden Herzens im Langachsschnitt mit einer In-Plane-Auflösung von $78 \mu\text{m}$ und einer Schichtdicke von $250 \mu\text{m}$. Die Gesamtmesszeit hierfür betrug 24 min. Gekennzeichnet ist der linke Ventrikel mit dem Druckballon und der Bereich, der als Vergrößerung in Abbildung 4.7c zu sehen ist.

Einen Vergleich zwischen den Ergebnissen der modifizierten Two-Point-Dixon-Sequenz, der CPMG-Sequenz und dem T_2^* -Experiment zeigt Abbildung 4.7. Das susceptibilitäts-gewichtete Bild A' zeigt dunkle Bereiche infolge statischer Dephasierungseffekte, wohingegen das diffusionsgewichtete Bild H' keine signifikante Signalabschwächung aufgrund von Diffusionseffekten, verursacht durch probeninterne Gradienten, aufweist. Dunkle Pixel in Abbildung 4.7a kennzeichnen Areale mit einem kurzen $T'_{2, \text{statisch}}$ im Bereich zwischen 5.1 ms und 19.6 ms, helle Pixel Areale mit längeren $T'_{2, \text{statisch}}$ -Werten. Tabelle 4.1 gibt eine Zusammenfassung der Ergebnisse, die sich aus der Untersuchung von fünf Herzen ergaben. Hierbei wurde die maximale Signaländerung aufgrund *statischer* und *dynamischer* Dephasierungseffekte in den jeweiligen Parameter-Karten A' und H' bestimmt. Aufgrund von dynamischen Prozessen ergaben sich keine wesentli-



(a) suszeptibilitätsgewichtet

(b) diffusionsgewichtet

(c) T_2^* -Karte

Abbildung 4.7: Teilabbildung eines suszeptibilitätsgewichteten Bildes A' (a), eines diffusionsgewichteten Bildes H' (b) und einer T_2^* -Karte (c) (Vergrößerung aus Abbildung 4.6). Die Auflösung beträgt $78 \mu\text{m}$ in der Bildebene bei einer Schichtdicke von $500 \mu\text{m}$.

Herz	dynamische Dephasierung: $(S_3/S_1)_{max}$	statische Dephasierung: $(S_2/S_1)_{max}$	$(T'_{2,static})_{max}$ [ms]
1	1.10	0.14	5.1
2	1.15	0.12	4.7
3	1.05	0.2	6.2
4	1.16	0.06	3.6
5	1.12	0.08	4.0

Tabelle 4.1: Maximale Signalabschwächung aufgrund dynamischer (S_3/S_1) und statischer (S_2/S_1) Dephasierungseffekte für fünf untersuchte Herzen. Mit Hilfe von Gleichung 4.5 lässt sich aus der maximalen Signaländerung infolge statischer Dephasierungseffekte $(T'_{2,static})_{max}$ berechnen. Aus den fünf untersuchten Herzen ergibt sich ein mittleres $(T'_{2,static})_{max}$ von 4.7 ms.

chen Signaländerungen, jedoch konnte bei allen untersuchten Herzen eine signifikante Signalabschwächung infolge statischer Dephasierungsprozesse beobachtet werden. Der maximale Signalverlust, verursacht durch interne Diffusionseffekte, beträgt 16% von S_1 , während sich der maximale Signalverlust, hervorgerufen durch Suszeptibilitätseffekte, zu 94% von S_1 ergibt. Mit der Bestimmung von $(S_2/S_1)_{max}$ lässt sich mit Hilfe von Gleichung 4.5 $(T'_{2,static})_{max}$ berechnen (siehe Tabelle 4.1).

4.4.2 Messungen am chronisch infarzierten Herzen

Abbildung 4.8 zeigt eine repräsentative T_2^* -Karte eines chronisch infarzierten, isolierten Herzens. Die morphologischen Veränderungen im Infarktgewebe sind aufgrund einer

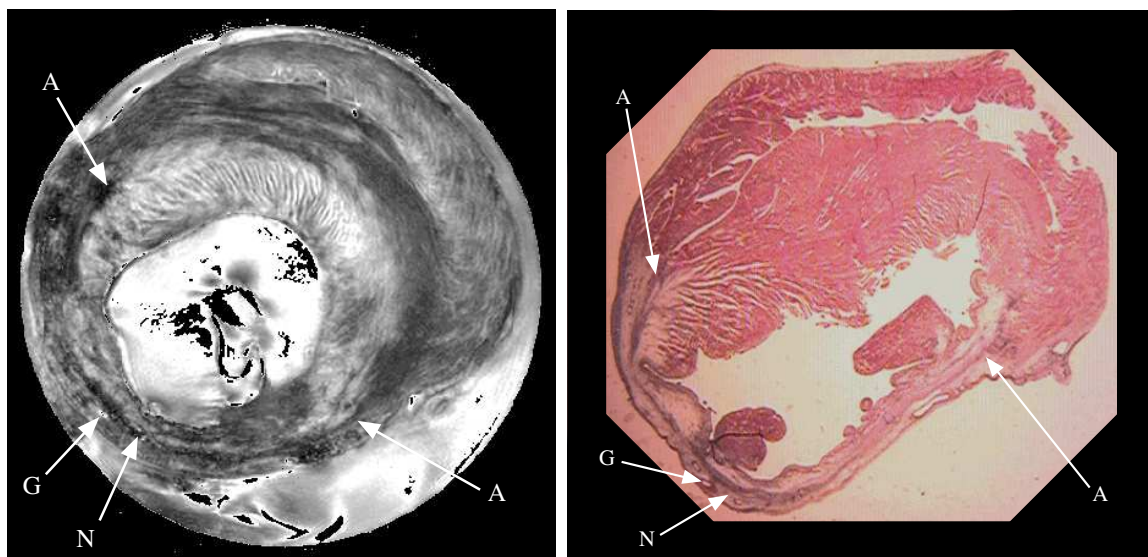


Abbildung 4.8: T_2^* -Karte eines chronisch infarzierten Herzens (links) und korrespondierende Histologie-Schicht (rechts). Die Auflösung der T_2^* -Karte beträgt $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 1 \text{mm}$. Die Messzeit hierfür betrug in etwa 3 min. G, Gefäß; N, Narbengewebe; A-A, Ausdehnung des Infarktes.

Verkürzung der T_2^* -Relaxationszeit in dieser Region deutlich zu erkennen. Die T_2^* -Zeit in der Narbenregion liegt bei 8 ms im Vergleich zu einem mittleren T_2^* -Wert von etwa 30 ms im gesunden Myokard. Im Vergleich mit der Histologie zeigt die T_2^* -Karte eine gute räumliche Übereinstimmung hinsichtlich der Quantifizierung von infarziertem Gewebe. Die Verkürzung von T_2^* im Narbengewebe wird von einem dichten Netzwerk von Kollagenfasern hervorgerufen. Dieses dichte Kollagennetzwerk ist als schmales Gewebebündel zwischen den Markern A-A in Abbildung 4.8 (rechts) zu sehen.

4.5 Diskussion

T_2^* -Bildgebung am intakten Herzen

Da bei den durchgeführten NMR-Messungen das isolierte Rattenherz von einer Krebs-Henseleit-Pufferlösung umspült wird, ist der Suszeptibilitätssprung zwischen Herz und Umgebungsmedium auf ein Minimum reduziert. Somit konnte mit einer manuellen Shim-Routine bei allen untersuchten Herzen eine globale Linienbreite kleiner als 30 Hz erreicht werden. Deshalb ist der Einfluss von makroskopischen Feldinhomogenitäten auf die T_2^* -Relaxationszeit vernachlässigbar klein und nur mesoskopische Inhomogenitäten spielen eine Rolle beim T_2^* -Relaxationsprozess. Diese mesoskopischen Feldinhomogenitäten enthalten strukturelle Informationen über das untersuchte biologische Gewebe und somit liefert die T_2^* -Bildgebung ein direktes Abbild der myokardialen Mikrostruktur.

Abbildungen 4.3 und 4.6 veranschaulichen deutlich, dass mit Hilfe hochauflösender T_2^* -Bildgebung der myokardiale Muskelfaserverlauf am isolierten, schlagenden Herzen dargestellt werden kann. Im Vergleich zur Histologie zeigt eine T_2^* -Karte eine sehr gute Übereinstimmung hinsichtlich der Darstellung der myokardialen Mikrostruktur. Es muss aber berücksichtigt werden, dass das NMR-Bild und das histologische Bild unterschiedliche Schichtdicken aufweisen und somit die Strukturen in den Bildern nicht genau übereinstimmen. Infolge einer dickeren Schicht des NMR-Bildes erscheinen manche Faserstrukturen unscharf. Darüberhinaus kann auch der Histologie-Schnitt Veränderungen der myokardialen Mikrostruktur aufweisen. Beispielsweise führt die Konservierung der Herzen mit Formalin zu einer Gewebeschrumpfung. Die anschließende Einbettung in Paraffin und die Erstellung von dünnen Gewebeschnitten kann eine Verformung der Herzstrukturen hervorrufen.

Abbildung 4.5 demonstriert eindrucksvoll, dass eine Reduzierung der Schichtdicke von 1 mm auf 250 μm zu einer wesentlich deutlicheren Darstellung des Faserverlaufs führt, wobei aber die Messzeit von 3 min auf 24 min ansteigt. Für eine makroskopische Betrachtung der Herzstruktur ist eine Schichtdicke von 1 mm ausreichend, für eine genaue Betrachtung des Muskelfaserverlaufs ist jedoch eine Schichtdicke von 250 μm oder weniger erforderlich.

Basierend auf den T_2^* -Werten im Myokard ist es möglich, Aussagen über die räumliche Variation der *Muskelfaserdichte* des Herzens zu treffen. Im endokardialen Myokard ist die Muskelfaserdichte geringer als im epikardialen Myokard, da der relative Anteil des Extrazellulärraumes im endokardialen Myokard erhöht ist [LeG95]. Dieser Unterschied in der Muskelfaserdichte ist in den T_2^* -Karten deutlich zu sehen. Im endokardialen Myokard sind wesentlich höhere T_2^* -Werte zu erkennen im Vergleich zu den Werten im epikardialen Myokard (siehe Abbildung 4.3). Diese starke Variation der T_2^* -Werte ist auf eine unterschiedliche Muskelfaserdichte und somit auf einen unterschiedlichen Abstand benachbarter Muskelfaserschichten im epikardialen und im endokardialen Myokard zurückzuführen. Dieser räumliche Spalt zwischen einzelnen Muskelfaserschichten besteht größtenteils aus extrazellulärer Flüssigkeit, die im Vergleich zum Muskelgewebe eine wesentlich höhere T_2^* -Zeit besitzt.

LeGrice et al. [LeG95] zeigte mit Rasterelektronenmikroskopie-Experimenten, dass der Herzmuskel aus diskreten Muskelschichten aufgebaut ist. Weitere Untersuchungen an perfusions-fixierten Herzen ergaben, dass im Mittel vier Muskelzellen über die Schichtdicke d hinweg angeordnet sind ($d = 48.4 \pm 20.4 \mu\text{m}$) [LeG95][You98]. Die beobachtbaren Muskelstrukturen in den Fourier-interpolierten T_2^* -Karten liegen in der Größenordnung von zwei Pixeln (siehe Abbildung 4.4). Dies entspricht einer räumlichen Ausdehnung von ungefähr 80 μm . Berücksichtigt man nun den Partialvolumen-Effekt, der zu einer gewissen Unschärfe der Mikrostrukturen in den NMR-Bildern führt, und die Gewebeschrumpfung von 15% - 20%, die bei den Experimenten von LeGrice et al. [LeG95] mit

perfusions-fixierten Herzen auftraten, dann liegt die Größenabschätzung der myokardialen Muskelstrukturen, die wir aus den T_2^* -Karten erhalten, in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von LeGrice et al. [LeG95].

Die Informationen über Faserorientierung in der T_2^* -Karte sind nicht nur qualitativer Natur, sondern können auch für eine quantitative Beschreibung der Winkelabhängigkeit des Muskelfaserverlaufs im Herzen benutzt werden. Dies ist in Abbildung 4.9 aufgezeigt.

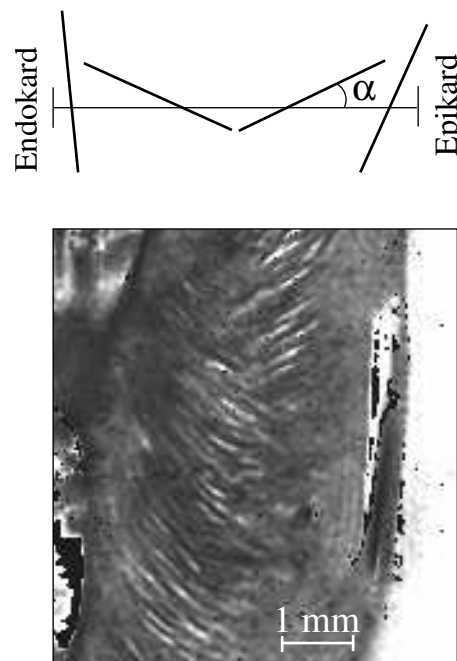


Abbildung 4.9: Schematische Darstellung der Faserorientierung beim Übergang vom Endokard zum Epikard und korrespondierende T_2^* -Karte von der linksventrikulären Wand eines isolierten Herzen.

Deutlich zu erkennen ist die charakteristische Winkelorientierung der Fasern (siehe Kapitel 1.2.2) in der linksventrikulären Wand, die sich ausgehend vom Endokard von -90° nach 30° bis 60° im Epikard dreht. Auch im Septum konnte die charakteristische Winkelabhängigkeit nachgewiesen werden. Somit lässt sich mit hochauflösender T_2^* -Bildgebung die Winkelabhängigkeit der Faserverlaufsrichtung quantifizieren. Dies war bisher nur mit Diffusionstensor-Bildgebung (siehe Kapitel 5) möglich.

Statische oder dynamische Dephasierungseffekte?

Infolge einer heterogenen magnetischen Suszeptibilitätsverteilung im Herzmuskelgewebe liefert die T_2^* -Bildgebung einen Einblick in den komplexen Verlauf der Herzmuskelfasern. Wie in Kapitel 4.2 beschrieben, wird die T_2^* -Relaxationsrate in Gegenwart

mesoskopischer Feldinhomogenitäten durch statische und dynamische Dephasierungsprozesse beeinflusst. Um die Auswirkungen dieser beiden Regimes auf den Relaxationsprozess unterscheiden zu können, wurden Versuche mit einer modifizierten *Two-Point-Dixon-Sequenz* und mit einer *CPMG-Sequenz* durchgeführt. In Abbildung 4.7 ist eindrucksvoll zu erkennen, dass für die Darstellung der myokardialen Mikrostruktur das *statisch dephasierende Regime* verantwortlich ist und dass Diffusionseffekte aufgrund interner, probenspezifischer Magnetfeldgradienten hinsichtlich ihres Einflusses auf den T_2^* -Relaxationsprozess vernachlässigt werden können. Bei allen fünf untersuchten Herzen konnte kein substantieller Signalverlust infolge dynamischer Dephasierung beobachtet werden, es ergab sich jedoch immer ein signifikanter Signalverlust aufgrund statischer Dephasierungseffekte. Der maximale Signalverlust, basierend auf internen Diffusionseffekten, bestimmte sich zu 16% von S_1 , wohingegen sich ein maximaler Signalverlust aufgrund von Suszeptibilitätseffekten von 94% von S_1 ergab (siehe Tabelle 4.1).

Mit der Bestimmung von $T'_{2,static}$ ist es möglich, die Suszeptibilitätsdifferenz $\Delta\chi$ zwischen Muskelgewebe und extrazellulärer Flüssigkeit zu berechnen. Hierfür benötigt man aber noch Informationen über die Volumenverhältnisse der einzelnen Kompartimente und über die geometrische Anordnung (siehe Gleichung 4.3). Der Volumenanteil des Extrazellularraumes nimmt in der linksventrikulären Wand von außen ($V = 0.12$) nach innen ($V = 0.25$) zu [LeG95]. Als Geometrie-Modell für die Anordnung der extrazellulären Flüssigkeit zwischen den einzelnen Muskelschichten wurden zufällig verteilte Zylinder angenommen. Mit $V = 0.25$ und einem mittleren $(T'_{2,static})_{max}$ von 4.7 ms (siehe Tabelle 4.1) ergibt sich eine Suszeptibilitätsdifferenz $\Delta\chi_{max}$ zwischen Muskelschichten und extrazellulärer Flüssigkeit von $6.5 \cdot 10^{-8}$, welche in der gleichen Größenordnung liegt wie der Suszeptibilitätsunterschied zwischen oxygeniertem und desoxygeniertem Blut ($\Delta\chi = 8 \cdot 10^{-8}$) [Ken94][Yab94].

T_2^* -Bildgebung am chronisch infarzierten Herzen

Bei allen sechs untersuchten Tieren mit einem acht Wochen alten chronischen Infarkt konnten mittels T_2^* -Bildgebung die morphologischen Veränderungen im Muskelgewebe nachgewiesen werden. Eine hohe Dichte von Kollagenfasern im Narbengewebe führt zu einer drastischen Reduktion der T_2^* -Zeit. Aufgrund dieser T_2^* -Verkürzung bildet eine T_2^* -Karte direkt die Infarktregion ab. Im Vergleich mit der Histologie zeigt die T_2^* -Karte eine gute Übereinstimmung in Bezug auf Infarktgröße und -verlauf (siehe Abbildung 4.8). Mit der T_2^* -Bildgebung ist es folglich möglich, chronisches Infarktgewebe zu lokalisieren und die Infarktgröße zu quantifizieren. Hierfür ist bei der T_2^* -Bildgebung eine Schichtdicke von 1 mm ausreichend, da die Ausdehnung des Infarktgewebes in z -Richtung wesentlich größer ist als die gewählte Schichtdicke. Somit erhält man mittels NMR-Bildgebung in relativ kurzer Messzeit (≈ 3 min) im Wesentlichen die gleichen

Informationen über die Morphologie des Herzmuskels wie mit konventioneller Histologie.

4.6 Ausblick

Wie in diesem Kapitel aufgezeigt wurde, lässt sich die Mikrostruktur des isolierten, schlagenden Herzen mittels T_2^* -Bildgebung darstellen. Der Informationsgehalt hinsichtlich Faserorientierung und morphologischen Veränderungen bei Infarkttieren ist dem der konventionellen Histologie, bei der mit fixierten Proben gearbeitet wird, gleichzusetzen. Will man nun diese am isolierten Organ etablierte Technik auf das *in vivo* Experiment übertragen, so treten zahlreiche Probleme auf. Das größte Problem liegt wohl im starken Suszeptibilitätssprung zwischen Herz und Lunge, so dass beim *in vivo* Experiment auch makroskopische Feldinhomogenitäten auftreten. Will man diese minimieren, indem man kleinere B_0 -Feldstärken wählt, so vermindert man auch den Einfluss der mesoskopischen Inhomogenitäten, die für die Visualisierung der Muskelstrukturen verantwortlich sind. Zudem ist es bei kleineren B_0 -Feldstärken schwieriger, das für eine entsprechend hohe Ortsauflösung nötige SNR zu erreichen. Auch können beim *in vivo* Experiment keine an die Herzgröße angepassten Spulen verwendet werden.

Um die Frage der Übertragbarkeit auf das Tier *in vivo* zu klären, wurden Experimente an einem NMR-Tomographen Biospec 70/20 (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Deutschland) mit einer Magnetfeldstärke von 7.05 T durchgeführt. Aufgrund von Stabilitätsproblemen der Gradientenhardware konnte nur ein Mikroskopiegradientensystem mit einem Innendurchmesser von 6 cm und einer maximalen Gradientenstärke von 870 mT/m verwendet werden. Infolge des geringen Innendurchmessers mussten die Experimente am Tiermodell der Maus vorgenommen werden. In einer Gesamtmesszeit von 30 min wurden T_2^* -gewichtete Bilder mit einer Echozeit zwischen 2 ms und 25 ms und einer Auflösung von $80 \mu\text{m} \times 80 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$ akquiriert. Durch eine geeignete Schichtwahl konnte der Einfluss makroskopischer Feldinhomogenitäten minimiert werden. Allerdings zeigten die berechneten T_2^* -Karten keinen eindeutigen Faserverlauf, was daran liegt, dass im Herzen der Maus die Abstände zwischen den Muskelschichten kleiner sind als im Rattenherzen und somit die erzielte Ortsauflösung für Untersuchungen am Mäuseherz nicht ausreicht. Die Übertragbarkeit der T_2^* -Bildgebung auf das Tier *in vivo* ist folglich kein prinzipielles Problem, sondern wird durch die Stabilität der vorhandenen Gradientenhardware begrenzt.

Doch auch die Anwendung der T_2^* -Bildgebung am isolierten Herzen bietet noch weitere Entwicklungsmöglichkeiten. Mit Hilfe einer 3D- T_2^* -Bildgebungstechnik ist es beispielsweise möglich, den Faserverlauf über das komplette Herz hinweg zu beobachten. An einem kardioplegischen Herzen konnten innerhalb einer Gesamtmesszeit von 45 min

40 Schichten mit einer Auflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$ akquiriert werden. Weiterhin lassen sich mit Hilfe einer T_2^* -gewichteten Cine-Bildgebungssequenz Unterschiede in der Faserorientierung zwischen Diastole und Systole erkennen. Somit bietet die T_2^* -Bildgebung die Möglichkeit, die Mechanik des gesunden als auch des infarzierten Herzmuskels zeitaufgelöst zu analysieren.

Kapitel 5

Diffusionsbildgebung am Herzmuskel

5.1 Motivation

Diffusion in biologischen Systemen kann in der NMR-Bildgebung genutzt werden, um einen Bildkontrast mit hohem Informationsgehalt über die biologische Mikrostruktur unabhängig von Relaxationszeitparametern zu erhalten. Dabei geht man davon aus, dass Gewebestrukturen in biologischen Objekten zu einer Anisotropie in der Diffusion führen. Diese gewebespezifischen Mikrostrukturen bilden Barrieren für Diffusionsprozesse und führen so zu einer eingeschränkten Beweglichkeit der Moleküle. Hierbei können sich die Moleküle entlang gerichteter Strukturen nahezu ungehindert bewegen, so dass sich eine Diffusionsvorzugsrichtung ergibt, die entlang dieser Mikrostrukturen verläuft [Hsu98][Hol00][Sco98].

Die Bedeutung der Diffusionsbildgebung für die medizinische Anwendung wurde schon bald erkannt [LeB86] und spielt heute bei der Diagnose akuter cerebraler Ischämie [War92] eine zentrale Rolle. Die Tatsache, dass sich Wassermoleküle entlang von Nervenfasern fast ungehindert bewegen können, wobei die Bewegung senkrecht zu den Fasern vorwiegend durch die relativ undurchlässigen Myelinschichten eingeschränkt wird, ermöglicht die Visualisierung der Verlaufsrichtung von Nervenfasern und bildet eine weitere wichtige Anwendung der Diffusionsbildgebung in der Gehirnforschung. Aber auch im Skelett- und Herzmuskel führt der Faseraufbau zu einer Vorzugsrichtung der Diffusion. Zahlreiche Studien haben mittlerweile belegt, dass mit Hilfe diffusionsgewichteter Bildgebung die Faserorientierung auch im Muskelgewebe bestimmt werden kann [Gar94][Ree95][Hsu01][Hsu95].

Gegenstand dieses Kapitels ist die Untersuchung des myokardialen Muskelfaserverlaufs mittels hochaufgelöster Diffusionsbildgebung. Hierbei soll der Zusammenhang zwischen Diffusionsanisotropie und räumlicher Auflösung des NMR-Experimentes näher analysiert werden. Darüberhinaus soll die Diffusionsbildgebung mit den Ergebnissen der

T_2^* -Bildgebung hinsichtlich der gewonnenen Informationen über die Mikrostruktur des Herzens verglichen werden.¹

5.2 Theoretische Grundlagen

Aufgrund der statistischen thermischen Bewegung der Moleküle - *Brownsche Molekularbewegung* - ändert sich die räumliche Position der Spins ständig. Dieser Vorgang wird als molekulare Selbstdiffusion bezeichnet. Ein Maß für die Größe der Diffusion ist das mittlere Verschiebungsquadrat. Für den Fall freier, isotroper Diffusion in allen drei Raumdimensionen ist das mittlere Verschiebungsquadrat durch die *Einstein-Beziehung* gegeben:

$$\langle \vec{r}(t_D) - \vec{r}_0 \rangle^2 = 6 \cdot D \cdot t_D. \quad (5.1)$$

Hierbei ist die Konstante D der Koeffizient der Selbstdiffusion und wird im Folgenden als Diffusionskonstante bezeichnet. Für Wasser bei Zimmertemperatur beträgt die Diffusionskonstante etwa $2 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$. Somit ergibt sich für eine *Diffusionszeit* t_D von 10 ms eine *mittlere Diffusionsstrecke* von 11 μm .

Für die NMR-Bildgebung bedeuten Diffusionseffekte irreversible Signalverluste, da diese zu einer erhöhten Dephasierung der Transversalmagnetisierung führen. Bereits Hahn beobachtete 1950 bei der Entdeckung des Spinechos eine diffusionsbedingte Abschwächung der Echoamplitude [Hah50]. Torrey konnte 1956 durch eine Erweiterung der Bloch-Gleichungen analytisch den Einfluss der Diffusion auf die Magnetisierung beschreiben [Tor56]. Darauf aufbauend wurde von Stejskal und Tanner 1965 das *Pulsed-Gradient-Spin-Echo (PGSE)-Experiment* zur genauen Bestimmung von Diffusionskonstanten entwickelt und mathematisch beschrieben [Ste65a].

Bei diesem PGSE-Experiment werden während einer konventionellen Spinecho-Sequenz vor und nach dem 180° -Puls jeweils ein Gradientenpuls der Stärke G_D und Dauer δ geschaltet (siehe Abbildung 5.1). Der zeitliche Abstand der Gradientenpulse beträgt Δ . Der erste Gradientenpuls führt zu einer ortsabhängigen Phasenverschiebung ϕ_1 eines Spins am Ort x_1 :

$$\phi_1 = \gamma \cdot \int_0^\delta G_D \cdot x_1 \cdot dt = \gamma \cdot G_D \cdot \delta \cdot x_1, \quad (5.2)$$

wobei angenommen wurde, dass der Gradient entlang der x-Richtung anliegt und die Position x_1 des Spins während der kurzen Zeitdauer δ des Gradientenpulses als konstant anzusehen ist. Der 180° -Puls transformiert die positive Phasenverschiebung $+\phi_1$ in eine negative Phasenverschiebung $-\phi_1$. Der zweite Gradientenpuls erzeugt nun eine

¹Teilaspekte dieses Kapitels sind in der Zeitschrift *Magnetic Resonance in Medicine* veröffentlicht [Köh03d].

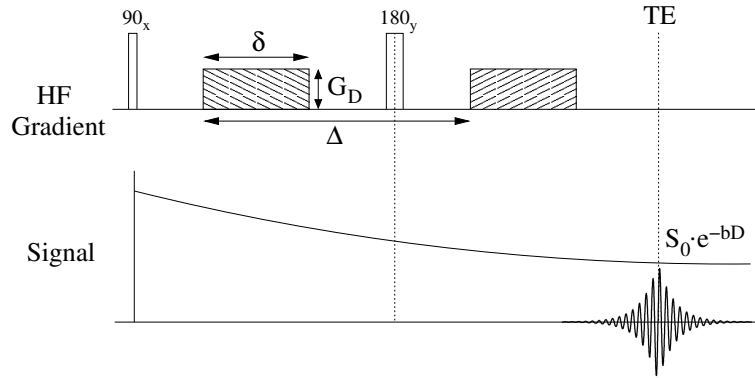


Abbildung 5.1: PGSE-Experiment. Das Schalten eines Gradientenpulses der Stärke G_D und der Dauer δ vor und nach dem 180° -Refokussierungspuls führt zu einer diffusionsbedingten Abschwächung des Spinecho-Signals.

Phasenverschiebung ϕ_2 , die von der Position x_2 unseres betrachteten Spins während des zweiten Gradientenpulses abhängig ist:

$$\phi_2 = \gamma \cdot \int_{\Delta}^{\Delta+\delta} G_D \cdot x_2 \cdot dt = \gamma \cdot G_D \cdot \delta \cdot x_2. \quad (5.3)$$

Für die resultierende Dephasierung folgt:

$$\Delta\phi = \phi_2 - \phi_1 = \gamma \cdot G_D \cdot \delta \cdot (x_2 - x_1). \quad (5.4)$$

Für stationäre Spins ($x_2 = x_1$) ergibt sich somit keine Nettodephasierung aufgrund des bipolaren Gradientenpaars, wohingegen sich für diffundierende Spins eine resultierende Dephasierung ergibt, die von der mittleren Diffusionsstrecke der Spins, die während der Zeit zwischen den beiden Gradientenpuls zurückgelegt wird, abhängt. Diese Dephasierung führt zu Signalverlusten, da sich das NMR-Signal aus der Vektorsumme aller Spins zusammensetzt:

$$\frac{S}{S_0} = \sum_{j=1}^N e^{i \cdot \Delta\phi_j}. \quad (5.5)$$

Die resultierende Diffusionsabschwächung bei einem PGSE-Experiment wurde schon 1965 von Stejskal und Tanner berechnet, wobei berücksichtigt wurde, dass die Gradientenpulsdauer δ gegenüber dem Abstand Δ der Pulse nicht vernachlässigbar ist [Ste65a]:

$$\frac{S(b)}{S_0} = e^{-b \cdot D} \quad (5.6)$$

$$\text{mit } b = \gamma^2 \cdot G_D^2 \cdot \delta^2 \cdot \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right).$$

Der so genannte *b-Wert* beschreibt die Größe der Diffusionswichtung eines PGSE-Experimentes.

Eingeschränkte Diffusion

Biologisches Gewebe besitzt mikroskopische Strukturen, die zu einer Einschränkung der freien Diffusion führen können. Sobald die mittlere Diffusionsstrecke in der Größenordnung der Gewebestrukturen liegt, kann der Diffusionsprozess nicht mehr als *frei* betrachtet werden. Der lineare Zusammenhang zwischen mittlerem Verschiebungswert und Diffusionszeit (Gleichung 5.1) ist somit nicht mehr gegeben. Die gemessene Diffusionskonstante zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der mikroskopischen Struktur des betrachteten Gewebes und von der gewählten Diffusionszeit t_D . Für den Grenzfall $t_D \rightarrow 0$ wird die gemessene Diffusionskonstante den wahren Diffusionswert widerspiegeln, während für $t_D \rightarrow \infty$ eine scheinbare Diffusionskonstante $D_{ADC}(t_D) < D$ gemessen wird, die auch als “apparent diffusion coefficient” (ADC) bezeichnet wird. In Abhängigkeit von der Diffusionszeit t_D lassen sich somit Rückschlüsse auf die biologische Gewebestruktur ziehen. Es muss aber berücksichtigt werden, dass der Diffusionsprozess auch von der Art der Beschränkung - durchlässige oder undurchlässige Barrieren - beeinflusst wird.

Anisotrope Diffusion

Die Anisotropie der Diffusion resultiert aus der Tatsache, dass die molekulare Beweglichkeit nicht für alle drei Raumdimensionen gleich sein muss. In biologischen Systemen existieren gerichtete Strukturen, wie zum Beispiel Muskelfaserstrukturen, die zu einer Anisotropie der Diffusion führen. Senkrecht zu den Fasern ist der Diffusionsprozess eingeschränkt, dagegen können sich die Moleküle in Faserrichtung nahezu ungehindert bewegen. Der Durchmesser einer Herzmuskelzelle beträgt 8 - 15 μm , die längliche Ausdehnung variiert zwischen 50 μm und 150 μm [Smo92]. Da einzelne Muskelzellen der Länge nach zu langen Fasern zusammengefügt sind, ist die Ausdehnung in Längsrichtung der Muskelfasern viel größer als ihr Durchmesser. Mit einer Diffusionszeit t_D von 20 ms und einem Diffusionskoeffizienten von $3 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$ bei Körpertemperatur ergibt sich eine mittlere Diffusionsstrecke von 19 μm für freies Wasser. Die Wassermoleküle treffen somit während des Diffusionsprozesses auf strukturelle Grenzmembranen, die zu einer Abschwächung des Diffusionseffektes senkrecht zur Faserverlaufsrichtung führen.

Im Gegensatz hierzu verläuft die Diffusion entlang der Faserhauptachse nahezu unbeschränkt. Der Durchmesser einer Muskelfaser ist aber weitaus geringer als die räumliche Auflösung eines konventionellen NMR-Experimentes. Allerdings sind in einem Muskelfaserbündel bzw. in einer Muskelfaserschicht viele, gleich orientierte Muskelfasern zusammengefasst, so dass dieser mikroskopische Effekt zu einer makroskopischen Anisotropie der Diffusion in einem Voxel führt.

Um *anisotrope Diffusion* beschreiben zu können, ist die Einführung eines Diffusionstensors \mathbf{D} notwendig [Bas94a]:

$$\mathbf{D} = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix}. \quad (5.7)$$

Dies muss in Gleichung 5.6 berücksichtigt werden. Für die Signalabschwächung aufgrund anisotroper Diffusion ergibt sich somit:

$$\frac{S(\mathbf{b})}{S_0} = \exp\left(-\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 b_{ij} \cdot D_{ij}\right), \quad (5.8)$$

wobei b_{ij} die Elemente der \mathbf{b} -Matrix beschreiben, die den skalaren b -Wert ersetzen, und D_{ij} die Elemente des Diffusionstensors \mathbf{D} . Aufgrund des Reziprozitätstheorems und der mikroskopischen Reversibilität der Nichtgleichgewichtsthermodynamik muss der Diffusionstensor \mathbf{D} symmetrisch sein ($D_{ij} = D_{ji}$) [Ons31a][Ons31b][Ste65b][Bas94a], d.h. \mathbf{D} hat nur 6 unabhängige Komponenten. Man kann also nur die Diffusion entlang einer Raumrichtung messen. Es ist aber nicht unterscheidbar, ob Diffusion in positiver oder negativer Richtung stattfindet.

Um die Echoabschwächung in x-Richtung zu messen, muss der Diffusionsgradient G_D so gewählt werden, dass er nur eine Komponente in x-Richtung besitzt: $b_{11} = b_{xx} \neq 0$. Somit ergibt sich für die Echoabschwächung:

$$\frac{S(\mathbf{b})}{S_0} = \exp(-b_{xx} \cdot D_{xx}). \quad (5.9)$$

Sind alle Einträge der \mathbf{b} -Matrix ungleich Null, dann beobachtet man gleichzeitig die Signalabschwächung für alle Komponenten des Diffusionstensors \mathbf{D} :

$$\frac{S(\mathbf{b})}{S_0} = \exp(-b_{xx} \cdot D_{xx} - b_{yy} \cdot D_{yy} - b_{zz} \cdot D_{zz} - 2 \cdot b_{xy} \cdot D_{xy} - 2 \cdot b_{xz} \cdot D_{xz} - 2 \cdot b_{yz} \cdot D_{yz}). \quad (5.10)$$

In dieser Gleichung sind die sechs unabhängigen Einträge des Diffusionstensors \mathbf{D} und das Signal ohne Diffusionsabschwächung S_0 unbekannt. Für eine eindeutige Bestim-

mung der Diffusionstensorelemente D_{ij} sind somit sieben Messungen mit Diffusionsrichtung in unterschiedlichen Richtungen (xx, yy, zz, xy, xz, yz, und Null) erforderlich.

Bei der Berechnung der \mathbf{b} -Matrix muss berücksichtigt werden, dass nicht nur der angelegte Diffusionsgradient G_D eine Signalabschwächung bewirkt, sondern dass auch alle Bildgebungsgradienten zu einer Diffusionsabschwächung des Signals führen können. Die Einträge der \mathbf{b} -Matrix lassen sich wie folgt berechnen [Bas94a][Mat94][Jon99]:

$$\mathbf{b} = \int_0^{TE} \vec{q}(t')^T \cdot \vec{q}(t') \cdot dt', \quad (5.11)$$

wobei der so genannte q -Vektor \vec{q} das zeitliche Integral des Gradientenvektors \vec{G} beschreibt:

$$\vec{q}(t) = \gamma \cdot \int_0^t \vec{G}(t') \cdot dt'. \quad (5.12)$$

Der im Gradienten-Referenzsystem gemessene Diffusionstensor \mathbf{D} kann durch Hauptachsentransformation in ein körpereigenes Koordinatensystem überführt werden, da \mathbf{D} eine reelle symmetrische Matrix ist [Bas94b]:

$$\mathbf{E}^T \cdot \mathbf{D} \cdot \mathbf{E} = \mathbf{\Lambda}. \quad (5.13)$$

Dabei sind die Diagonalelemente von $\mathbf{\Lambda}$ die Eigenwerte von \mathbf{D} , und die Spalten von \mathbf{E} sind die dazugehörigen normierten Eigenvektoren. Zur graphischen Darstellung der Anisotropie kann ein Diffusionsellipsoid erzeugt werden, dessen Hauptachsen durch die Eigenvektoren festgelegt und deren Länge durch die zugehörigen Eigenwerte bestimmt werden. Folglich zeigt der zum größten Eigenwert gehörende Eigenvektor (Haupt-eigenvektor) die Hauptdiffusionsrichtung an und liefert somit strukturelle Informationen über das untersuchte Objekt, zum Beispiel über die Verlaufsstruktur von Muskelfasern. Durch eine Projektion dieses Eigenvektors auf die zweidimensionale Bildebene kann die Orientierung der Fasern in dieser Ebene dargestellt werden. Dies kann als einfachste Form von *Fiber Tracking* angesehen werden.

Die Spur

$$Sp[\mathbf{D}] = (D_{xx} + D_{yy} + D_{zz})/3 \quad (5.14)$$

ist eine skalare Größe, die invariant ist hinsichtlich der Orientierung des Gradienten-Referenzsystems in Bezug auf das körpereigene Koordinatensystem. Da bei der Bildung der Spur aber strukturelle Informationen verlorengehen, haben Inglis et al. [Ing97] die Konstruktion einer *farbkodierten Spur* vorgeschlagen. Hierbei werden den Spurelementen D_{xx} , D_{yy} und D_{zz} jeweils eine einheitliche Farbe zugeordnet (blau, grün und rot) und die entsprechenden Karten aufsummiert. Da hier nicht die reale Spur dargestellt

wird, ist diese Darstellung auch nicht rotationsinvariant. Dennoch liefert die farbkodierte Spurdarstellung gleichzeitig Informationen über isotrope und anisotrope Diffusion in nur einem Bild.

5.3 Material und Methoden

5.3.1 Material

Die Untersuchung der Morphologie des Herzmuskels mittels Diffusionsbildgebung wurde am bereits beschriebenen NMR-Mikroskopiesystem AMX500 durchgeführt (Kapitel 2.1). Die nach Langendorff präparierten Rattenherzen wurden mit einer kardioplegischen Pufferlösung (siehe Kapitel 2.2.1) perfundiert. Diese Pufferlösung sorgt dafür, dass das Herz weiterhin Stoffwechsel betreiben kann, aber keine Herzkontraktionsbewegung mehr durchführt. Somit kann der Herzmuskel als stationäres Objekt angesehen werden. Dies ist besonders für diffusionsgewichtete Bildgebungsexperimente wichtig, da die makroskopische Herzbewegung die mikroskopischen Diffusionseffekte verfälschen könnte. Bis heute gibt es keine Standardexperimente, die bei bewegten Objekten eine zuverlässige Bestimmung der Diffusionskonstanten ermöglichen. Deshalb wurden im Rahmen dieser Arbeit alle Diffusionsexperimente an *nicht schlagenden* Herzen durchgeführt. Insgesamt wurden zehn Herzen untersucht, fünf mittels diffusionsgewichteter Bildgebung und fünf mittels Diffusionstensor-Bildgebung.

5.3.2 Diffusionsgewichtete Bildgebung

Zunächst wurden PGSE-Experimente mit Diffusionswichtung in Lese-, Phasen- und Schichtrichtung durchgeführt. Mit einer Gradientenpulsdauer δ von 2 ms und einem zeitlichen Abstand der Pulse Δ von 18 ms ergab sich ein b-Wert von $365 \frac{s}{mm^2}$. Die In-Plane-Auflösung betrug $78 \mu m \times 78 \mu m$ bei einer Schichtdicke von 1 mm (FOV: 20 mm x 20 mm, Matrix: 256 x 256 Bildpunkte). Mit einem TR/TE = 1200 ms/25 ms und 12 Mittelungen betrug die Gesamtmesszeit pro diffusionsgewichtetem Bild etwa 1 h. Somit konnten die drei diffusionsgewichteten Bilder inklusive T_2^* -Referenzbilder in einer Gesamtmesszeit < 4 h durchgeführt werden.

5.3.3 Diffusionstensor-Bildgebung

Für eine umfassende Charakterisierung des Herzmuskels mittels Diffusionsbildgebung ist die Bestimmung des kompletten Diffusionstensors notwendig. Mit der unter 5.3.2

beschriebenen Sequenz würde die Gesamtakquisitionszeit für die hierfür benötigten sieben Messungen etwa 7 h betragen. Die zur Verfügung stehende Gesamtmesszeit wird aber durch die Stabilität des perfundierten Herzens beschränkt. Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen am kardioplegischen Herzen betrug die Stabilitätsphase des Herzens etwa 4 h und ist somit nicht ausreichend für die Akquisition eines hochaufgelösten Diffusionstensors mittels konventioneller PGSE-Experimente. Aus diesem Grund wurde im Rahmen dieser Arbeit eine SNR-effizientere Diffusionssequenz entwickelt, um die Gesamtmesszeit für einen Diffusionstensor zu reduzieren. Bei diesem modifizierten PGSE-Experiment wird nicht nur das Spinecho akquiriert, sondern auch mehrere Gradientenechos symmetrisch um die Position des Spinechos (siehe Abbildung 5.2). Hierbei

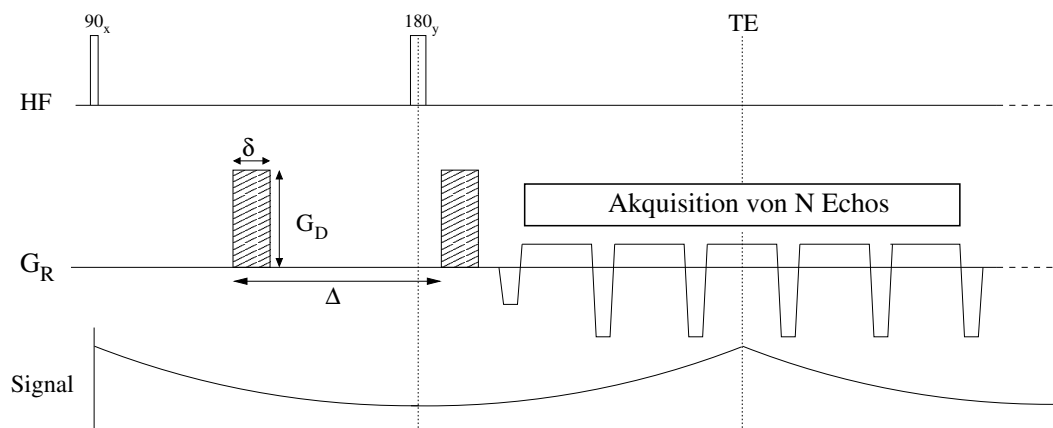


Abbildung 5.2: Sequenz zur Diffusionstensor-Bildgebung. Zur Steigerung der SNR-Effizienz wird gegenüber dem konventionellen PGSE-Experiment nicht nur das Spinecho ausgelesen, sondern auch $(N-1)$ Gradientenechos symmetrisch um die Position des Spinechos.

ist die zusätzliche Diffusionswichtung der einzelnen Echos durch den alternierenden Lesegradienten minimal, muss aber bei der b-Wertberechnung berücksichtigt werden. Zur Steigerung des SNR könnte man alternativ bei gleicher Akquisitionszeit das Spinecho mit niedrigerer Akquisitionsbandbreite aufnehmen. Dies führt aber in der Gegenwart von Feldinhomogenitäten zu Bildartefakten. Insbesondere bewirken bei niedriger Lesegradientenstärke schwache Feldinhomogenitäten starke Suszeptibilitätsartefakte, die geometrische Verzerrungen zur Folge haben [Lüd85]. Im Falle des isolierten Herzens führen gewebespezifische Inhomogenitäten zu einer mittleren T_2^* -Relaxationszeit, die in der Größenordnung der Akquisitionszeit ($AQ = 34$ ms) liegt, und somit ist die Multiecho-Methode hinsichtlich Vermeidung von Bildartefakten von Vorteil [Haa99].

Bei der Akquisition von N Echos erhält man N diffusionsgewichtete Bilder, die nach Berechnung der Diffusionskonstanten gemittelt werden können und dadurch eine Verbesserung des SNR liefern. Der SNR-Gewinn ist nicht proportional zu \sqrt{N} , da die Einzelbilder eine unterschiedlich starke T_2^* -Wichtung besitzen. Dennoch konnte durch den

Einsatz dieser modifizierten PGSE-Sequenz eine drastische Reduktion der Gesamtakquisitionszeit für einen Diffusionstensor erreicht und die Ortsauflösung in Schichtrichtung verbessert werden.

Zur Auswertung der Messdaten wurde der Diffusionstensor, dessen Eigenwerte und Eigenvektoren - wie in Kapitel 5.2 beschrieben - berechnet. Um gleichzeitig isotrope und anisotrope Diffusion hervorzuheben, wurde eine farbkodierte Spurdarstellung verwendet.

5.4 Ergebnisse

5.4.1 Diffusionsgewichtete Bildgebung

Abbildung 5.3a-c zeigt diffusionsgewichtete Bilder vom isolierten Rattenherzen im Langachsschnitt mit Diffusionsrichtung entlang Lese-, Schicht- und Phasenrichtung (b-Wert: $365 \frac{s}{mm^2}$). Die In-Plane-Auflösung liegt bei $78 \mu m \times 78 \mu m$ und die Schichtdicke bei 1 mm. Die Gesamtmesszeit für diese drei diffusionsgewichteten Bilder betrug 3 h. Die Anisotropie der Diffusion im Herzmuskel ist in diesen diffusionsgewichteten Bildern deutlich zu erkennen. Dunkle Areale bedeuten Bereiche mit hoher Diffusionsabschwächung, dagegen weisen helle Areale keine signifikante Signalabschwächung auf. Somit lassen sich schon mit diesen diffusionsgewichteten Bildern Rückschlüsse auf den Verlauf der Herzmuskelfasern ziehen. Eine große Diffusionsabschwächung ergibt sich bei paralleler Orientierung der Fasern zum Diffusionsgradienten, während Gebiete mit senkrecht verlaufenden Fasern eine geringere Signalabschwächung aufzeigen.

Abbildung 5.3d zeigt eine korrespondierende T_2^* -Karte mit einer In-Plane-Auflösung von $78 \mu m \times 78 \mu m$ und einer Schichtdicke von $500 \mu m$ bei einer Gesamtmesszeit von 6 min. In Abbildung 5.4 ist eine Vergrößerung einer Region aus Abbildung 5.3a im Vergleich zu dem korrespondierenden Ausschnitt aus der T_2^* -Karte und dem histologischen Schnittbild zu sehen. Dieser direkte Vergleich zeigt eine sehr gute Übereinstimmung der myokardialen Mikrostruktur zwischen diffusionsgewichteter und T_2^* -gewichteter Bildgebung. Zum einen ist eine Analogie des Faserverlaufs in der linksventrikulären Wand auf makroskopischer Ebene zu sehen. Zum anderen gibt es auch eine gute Übereinstimmung auf mikroskopischer Ebene bei der Darstellung der diskreten Muskelschichten und dem dazwischen liegenden mikrovaskulären System. Es muss aber berücksichtigt werden, dass die diffusionsgewichteten und T_2^* -gewichteten Bilder nicht die gleichen Schichtdicken aufweisen und somit die Strukturen in den diffusionsgewichteten Bildern verschwommener erscheinen.

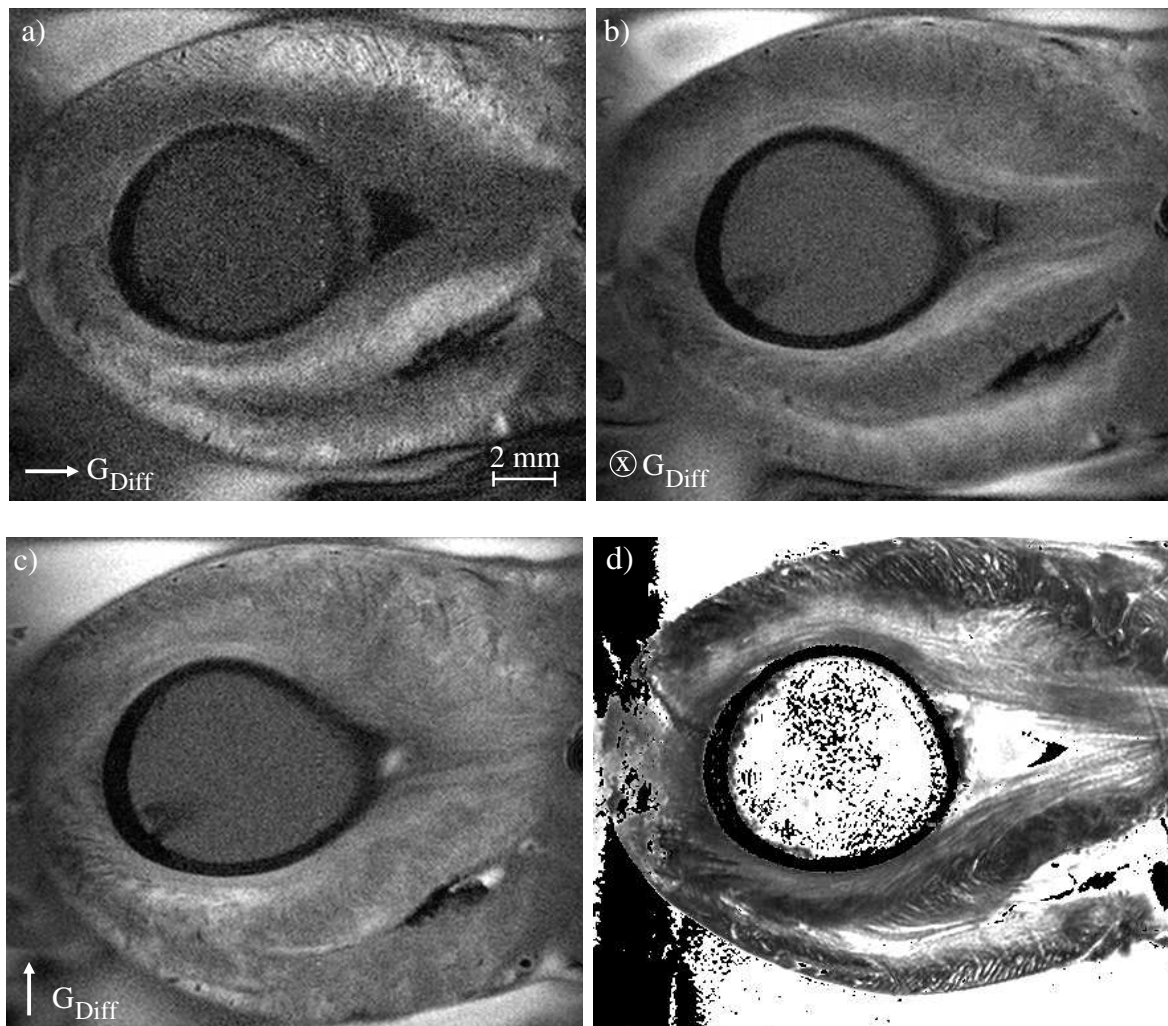


Abbildung 5.3: Diffusionsgewichtete Bildgebung am isolierten Rattenherzen mit Diffusionswichtung entlang a) Lese-, b) Schicht- und c) Phasenrichtung ($\text{TR}/\text{TE} = 1200 \text{ ms}/25 \text{ ms}$, $b\text{-Wert} = 365 \frac{\text{s}}{\text{mm}^2}$, räumliche Auflösung: $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 1 \text{ mm}$). Die Richtung des Diffusionsgradienten ist durch Pfeile angedeutet bzw. mit dem Symbol x für Orientierung senkrecht zur Bildschicht. d) Korrespondierende T_2^* -Karte mit einer In-Plane-Auflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m}$ und einer Schichtdicke von $500 \mu\text{m}$.

5.4.2 Diffusionstensor-Bildgebung

Abbildung 5.5 zeigt einen Vergleich zwischen der farbkodierten Spurdarstellung eines Diffusionstensors und einer korrespondierenden T_2^* -Karte des isolierten Herzen im Langachsschnitt mit einer In-Plane-Auflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m}$ und einer Schichtdicke von $500 \mu\text{m}$ ($b\text{-Wert}: 550 \frac{\text{s}}{\text{mm}^2}$). Die Hauptdiffusionsrichtung und somit auch die Hauptverlaufsrichtung der myokardialen Fasern ist durch die Farbgebung in der Spurdarstellung erkennbar. Einige Bereiche erscheinen überwiegend grün, was darauf schließen lässt, dass das Spurelement D_{yy} größer ist als die beiden anderen Elemente

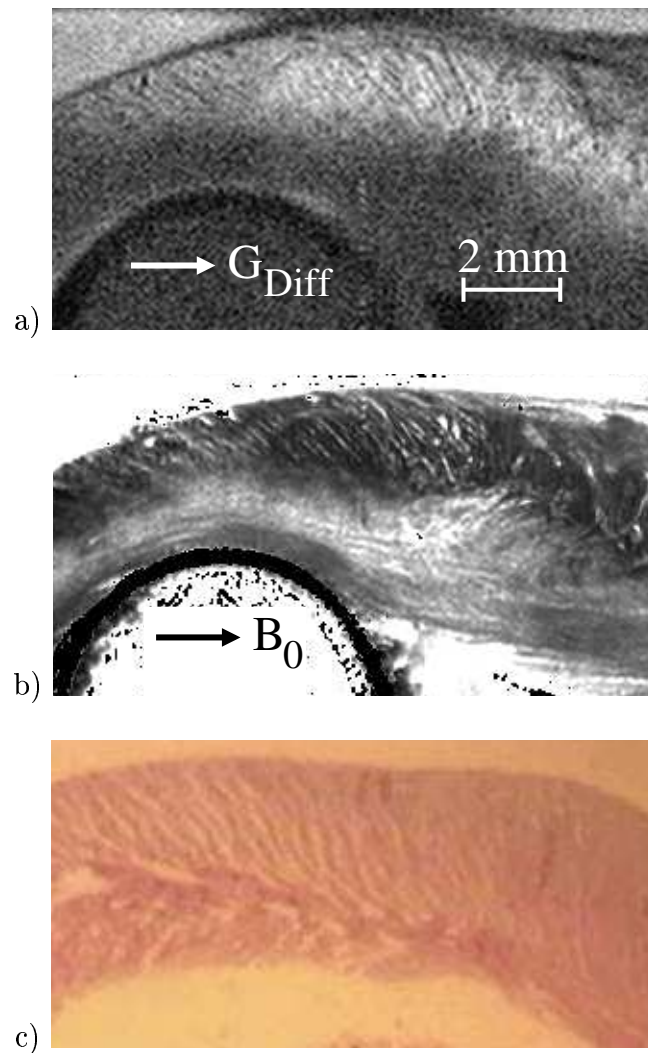


Abbildung 5.4: Vergrößerung eines diffusionsgewichteten Bildes (a), einer T_2^* -Karte (b) und des entsprechenden histologischen Schnittbildes (c).

D_{xx} und D_{zz} und somit die Hauptdiffusionsrichtung und auch die Hauptverlaufsrichtung der Fasern entlang der Raumorientierung von D_{yy} verlaufen. Die farbkodierte Spur-Karte zeigt aber auch weiße Bereiche, die auf freie, isotrope Diffusion in dieser Region hindeuten. In der korrespondierenden T_2^* -Karte erscheinen diese Gebiete ebenfalls weiß, was auf hohe T_2^* -Werte und somit auf Flüssigkeitsbereiche hindeutet. Aber auch die Hauptverlaufsrichtung der Fasern ist in der T_2^* -Karte deutlich zu erkennen. Somit zeigt die farbkodierte Spur-Karte und die T_2^* -Karte eine sehr gute Übereinstimmung hinsichtlich der myokardialen Mikrostruktur.

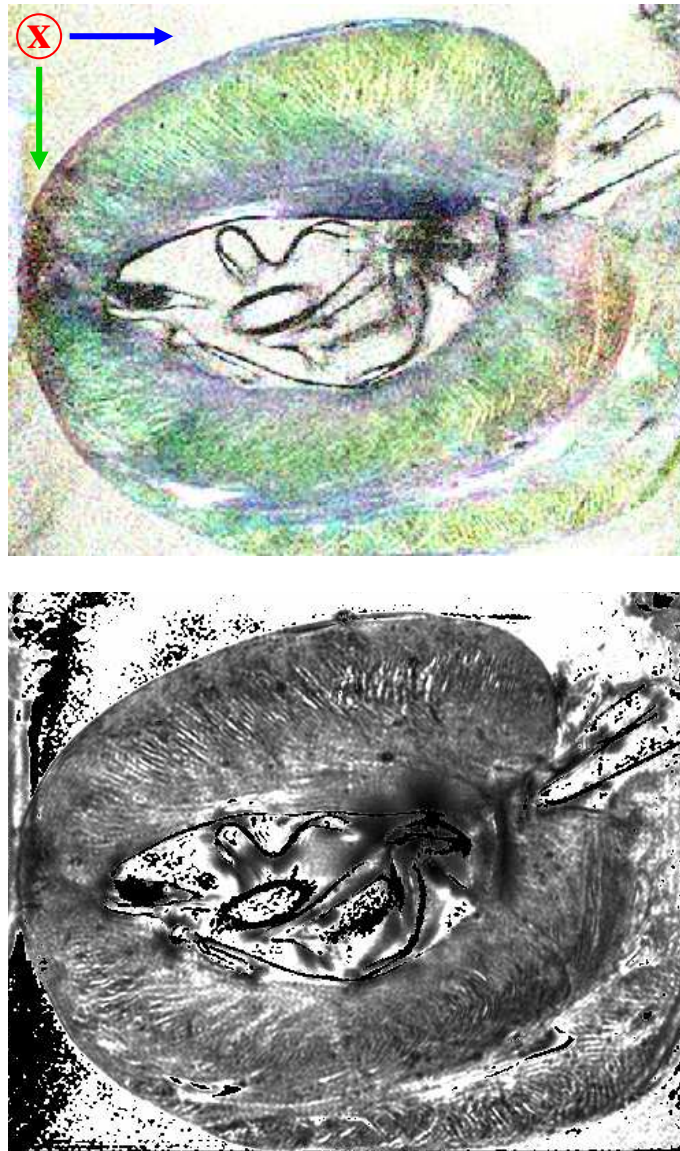


Abbildung 5.5: Farbgekodierte Spurdarstellung (oben) und korrespondierende T_2^* -Karte (unten) des isolierten Herzens im Langachsschnitt (Auflösung: $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$). Zur Konstruktion der farbgekodierten Spur wurde den Spurelementen D_{xx} , D_{yy} und D_{zz} die Farben blau, grün und rot zugeordnet. Die Gesamtmeßzeit betrug für den Diffusionstensor 80 min und für die T_2^* -Karte 6 min.

Fiber Tracking

In Abbildung 5.6 ist eine Projektion des Haupteigenvektors eines Diffusionstensors auf die zweidimensionale Bildebene im Langachsschnitt zu sehen. Für diese Darstellung wurde eine In-Plane-Auflösung von $156 \mu\text{m} \times 156 \mu\text{m}$ und eine Schichtdicke von 2 mm bei der Akquisition des Tensors gewählt. Die Gesamtmeßzeit hierfür betrug 20 min. In dieser Projektionsdarstellung ist die typische Faserorientierung des Herzmuskels sehr

gut zu erkennen. In der Mitte der linksventrikulären Herzwand verlaufen die Fasern nahezu parallel zur Normalen der Herzaußenwand, wohingegen im epikardialen Myokard die Faserorientierung zirka 60° und im endokardialen Myokard ungefähr -90° in Bezug auf die Normale der Außenwand beträgt. Im Septum dreht sich die Faserorientierung ausgehend vom linken Ventrikel von 90° bis zum rechten Ventrikel nach -90° . Eine Projektion des Haupteigenvektors auf die Kurzachseebene ist in Abbildung 5.7 gezeigt. In dieser Schichtebene verlaufen die endokardialen Fasern vorwiegend radial im Vergleich zu den umlaufenden epikardialen Fasern.

5.5 Diskussion

Diffusionsgewichtete Bildgebung

Mit diffusionsgewichteter Bildgebung konnte die Anisotropie der Diffusion im Herzmuskel eindeutig nachgewiesen werden. Die einzelnen diffusionsgewichteten Bilder zeigen eine klare Unterscheidung in der Faserorientierung zwischen epikardialen und endokardialen Myokard auf makroskopischer Ebene. Darüberhinaus zeigen diese makroskopischen Bereiche, die eine einheitliche Diffusionsabschwächung aufweisen, auch Strukturen auf mikroskopischer Ebene. In Abbildung 5.4a ist ein heller Bereich deutlich zu erkennen, der aber auch dunkle Strukturen aufgrund einer höheren Diffusionsabschwächung aufweist. Ein Vergleich mit der Histologie (Abbildung 5.4c) und mit der T_2^* -Bildgebung (Abbildung 5.4b) zeigt, dass in diesem Areal die Fasern vorwiegend senkrecht zum angelegten Diffusionsgradienten verlaufen und somit aufgrund eingeschränkter Diffusion keine signifikante Signalabschwächung zu sehen ist. Das dunkle Areal auf makroskopischer Ebene zeigt dagegen eine hohe Signalabschwächung, da hier die Fasern nahezu parallel zum Diffusionsgradienten verlaufen. Die dunklen Bereiche auf mikroskopischer Ebene weisen auf Diffusionsprozesse hin, die keiner räumlichen Einschränkung unterliegen. Diese Areale erscheinen in der T_2^* -Karte hell, was auf hohe T_2^* -Werte schließen lässt und somit auf Flüssigkeitsareale.

Folglich liefert die diffusionsgewichtete Bildgebung auch strukturelle Informationen über den mikroskopischen Aufbau des Herzmuskels. Ähnlich wie bei der T_2^* -Bildgebung sind in den diffusionsgewichteten Bildern diskrete Muskelschichten und das dazwischenliegende mikrovaskuläre System zu erkennen. Für die Annahme uneingeschränkter Diffusion zwischen den Muskelschichten müsste die mittlere Diffusionsstrecke kleiner sein als der Abstand benachbarter Muskelschichten. Für diesen Fall sollte die Diffusionskonstante der extrazellulären Flüssigkeit in der Größenordnung von freiem Wasser liegen. Unter der Annahme eines Diffusionskoeffizienten von $3 \cdot 10^{-3} \frac{mm^2}{s}$ und einer Diffusionszeit ($t_D = \Delta - \frac{\delta}{3}$) von 18.8 ms, wie bei dieser Studie verwendet, ergibt sich eine mittlere Diffusionsstrecke ($r_D = \sqrt{2 \cdot D \cdot t_D}$) von 10.6 μm . Die Untersuchungen von LeGrice et

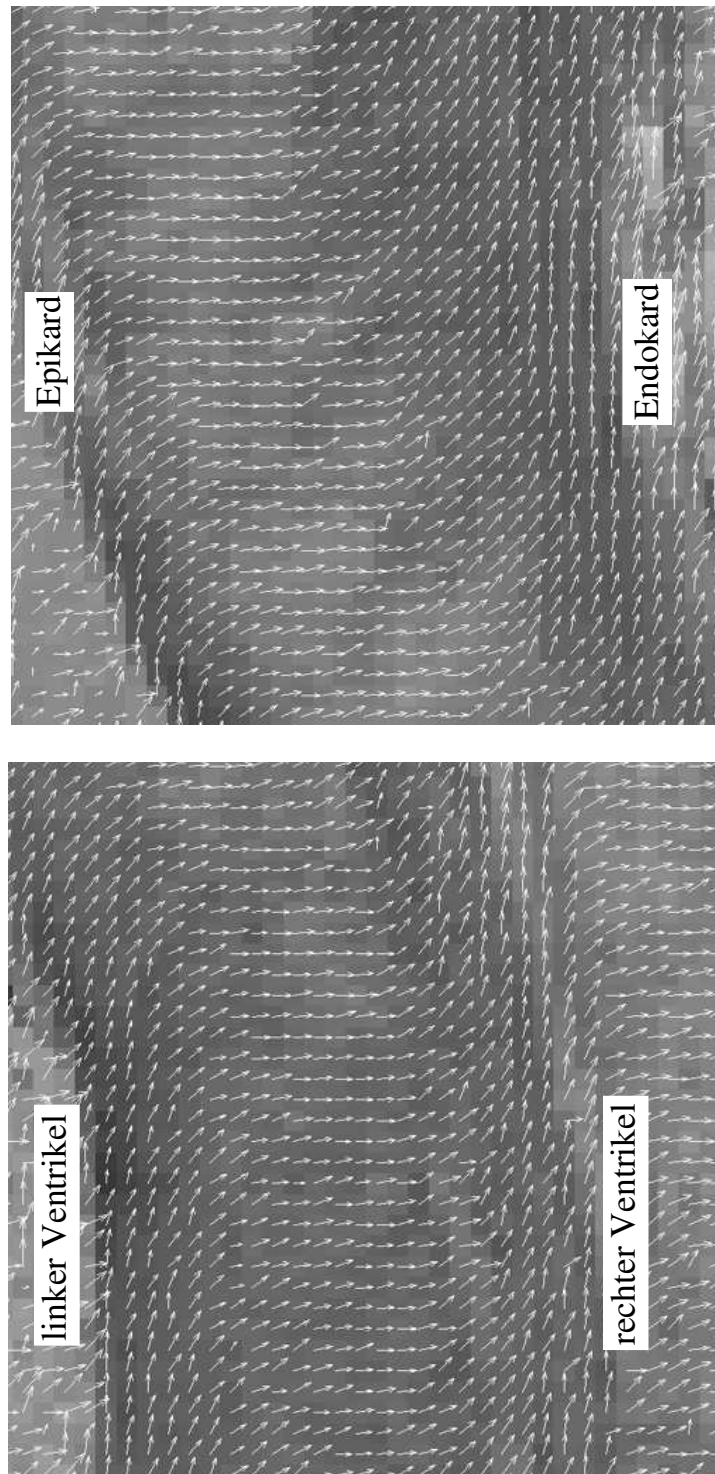


Abbildung 5.6: Projektionsdarstellung des Haupteigenvektors eines Diffusionstensors auf die zweidimensionale Bildebene im Langachsschnitt. Gezeigt sind Ausschnitte aus der linksventrikulären Wand (oben) und aus dem Septum (unten).

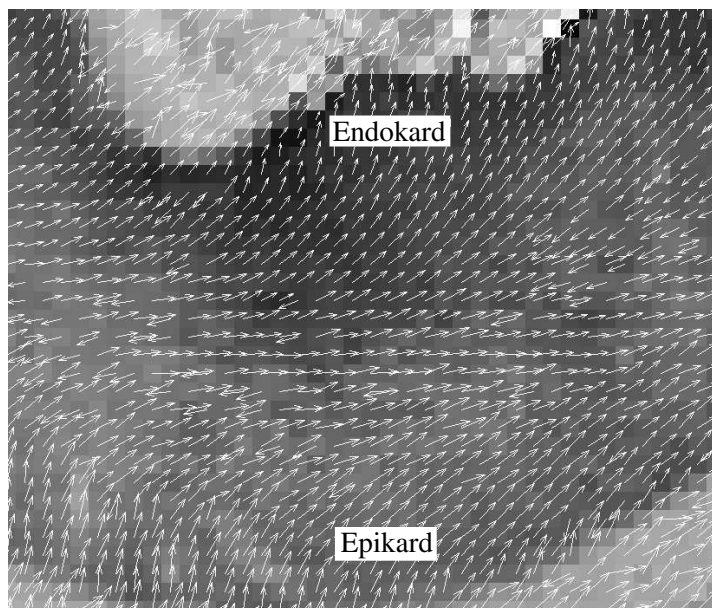


Abbildung 5.7: Projektion des Haupteigenvektors auf die Kurzachsschnittebene. Endokardiale Fasern verlaufen radial und epikardiale Fasern ringsum.

al. [LeG95] an Formalin fixierten Proben weisen darauf hin, dass ein Abstand der zwei- oder dreifachen mittleren Diffusionsstrecke zwischen den Muskelschichten nicht ungewöhnlich ist. Somit ist die Annahme freier Diffusion von Wassermolekülen zwischen den Muskelschichten gerechtfertigt. Dies wird auch durch die T_2^* -Messungen bestätigt, denn bei diesen Experimenten ergab sich ein Abstand benachbarter Muskelschichten von etwa $80 \mu\text{m}$. Es muss aber berücksichtigt werden, dass die Faserdichte und somit auch der Abstand der Muskelschichten zwischen endokardialen und epikardialen Myokard variiert und somit auch die Darstellung dieser Strukturen beeinflusst. Darüberhinaus führt der Partialvolumen-Effekt zu einer Unschärfe dieser Mikrostrukturen.

Diffusionstensor-Bildgebung

Für eine umfassende Charakterisierung der Mikrostruktur mittels Diffusionsbildgebung ist die Akquisition eines kompletten Diffusionstensors mit hoher räumlicher Auflösung nötig. Hierfür wurde eine Diffusionssequenz mit einer höheren SNR-Effizienz im Vergleich zu einem konventionellen PGSE-Experiment erfolgreich am NMR-Mikroskopiesystem AMX500 implementiert. Mit dieser Sequenz war es möglich, einen hochauflösenden Diffusionstensor ($78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$) in einer Gesamtmesszeit von 80 min und somit noch während der Stabilitätsphase des Herzens aufzunehmen.

Zur Analyse der Diffusionsdaten hat sich die *farbkodierte Spurdarstellung* als hilfreich erwiesen, da sie in einem Bild gleichzeitig Informationen über isotrope und anisotrope

Diffusion liefert. Die Orientierung der Muskelfasern lässt sich direkt anhand der Farbe im Spurbild bestimmen. Dominiert eine der drei Farben in der Spur-Karte, dann dominiert auch das zugehörige Tensorelement und die Hauptverlaufsrichtung der Fasern ist durch die Raumorientierung dieses Tensorelementes gegeben. In Abbildung 5.5 sind einige Bereiche zu erkennen, die entweder überwiegend blau oder überwiegend grün erscheinen, was darauf schließen lässt, dass das zugehörige Tensorelement D_{xx} bzw. D_{yy} die Hauptdiffusionsrichtung und somit auch die Hauptverlaufsrichtung der Muskelfasern anzeigt. Überlagern sich die Spurelemente bei der farbkodierten Darstellung gleichwertig, dann erscheinen diese Bereiche weiß, was ein Indiz für freie, isotrope Diffusion ist. Da in Abbildung 5.5 einige weiße Bereiche zu sehen sind, konnte mit der farbkodierten Spurdarstellung der experimentelle Beweis erbracht werden, dass zwischen benachbarten Muskelschichten freie Diffusion vorherrscht. Dies bedeutet, dass die extrazellulären Wassermoleküle während der Diffusionszeit t_D nicht an Struktur- grenzen stoßen.

Bei der Charakterisierung isotroper Diffusion spielt nicht nur die Diffusionszeit eine entscheidende Rolle, sondern auch die gewählte Ortsauflösung. Denn diese muss mindestens in der gleichen Größenordnung wie die Gewebestrukturen liegen. Ansonsten ist der Nachweis isotroper Diffusion aufgrund des Partialvolumen-Effektes nicht möglich. Im nächsten Abschnitt (Fiber Tracking) wird der Zusammenhang zwischen Ortsauflösung und Interpretation der Diffusionsergebnisse näher diskutiert.

Fiber Tracking

Um die Verlaufsstruktur von Fasern in biologischen Objekten darzustellen, nutzt man den Effekt, dass die Diffusion in diesen Systemen durch strukturelle Barrieren eingeschränkt ist, was im Allgemeinen zu einer Anisotropie in der Diffusion führt. Die Stärke der Diffusionseinschränkung hängt zum einen von der gewählten Diffusionszeit ab, zum anderen aber auch von dem Größenverhältnis zwischen Gewebestrukturen und räumlicher Auflösung des NMR-Experimentes. Diese Faktoren müssen bei der Interpretation der Diffusionsergebnisse und bei Aussagen über die biologische Mikrostruktur berücksichtigt werden.

Mit hochauflöser Diffusionstensor-Bildgebung ($78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$) war es möglich, freie Diffusion im mikrovaskulären System des Herzmuskels nachzuweisen. Will man nun mit diesen hochauflösten Daten den Verlauf der Herzmuskelfasern darstellen (*Fiber Tracking*), so erhält man keine eindeutige Verlaufsstruktur, da in den Gebieten mit isotroper Diffusion keine Vorzugsrichtung mehr existiert. Aufgrund der willkürlichen Orientierung der Eigenvektoren bei isotroper Diffusion ist es schwierig, bei der Projektionsdarstellung der Haupteigenvektoren eine zusammenhängende Verlaufsstruktur der Fasern zu erkennen.

Verschlechtert man die Ortsauflösung ($156 \mu\text{m} \times 156 \mu\text{m} \times 2 \text{mm}$), so sind die Bereiche mit freier Diffusion aufgrund des Partialvolumen-Effektes nicht mehr nachweisbar. Jedem Pixel wird vielmehr eine mittlere Vorzugsrichtung der Diffusion zugeordnet. Die Projektionsdarstellung des Haupteigenvektors liefert eine zusammenhängende Verlaufsstruktur der Muskelfasern und zeigt die bekannte Winkelabhängigkeit der Faserrichtung zwischen endokardialen Myokard über die Herzmittenwand bis hin zum epikardialen Myokard auf [Gee02][Hsu01][LeG95][Sco98], wie in Abbildung 5.6 deutlich zu sehen ist. Auch im Kurzachsschnitt (siehe Abbildung 5.7) liefert die Projektionsdarstellung die typische Verlaufsrichtung von endokardialen und epikardialen Fasern.

Vergleich mit T_2^* -Bildgebung

Diffusionsbildgebung und T_2^* -Bildgebung liefern über die myokardiale Muskelstruktur sowohl auf makroskopischer als auch auf mikroskopischer Ebene übereinstimmende Resultate. Hierbei erhält man mittels Diffusionstensor-Bildgebung vektorielle Informationen über die Winkelorientierung der Herzmuskelfasern. In Kapitel 4 wurde gezeigt, dass mit Hilfe hochaufgelöster T_2^* -Experimente ebenfalls quantitative Informationen über die Verlaufsrichtung der Fasern gewonnen werden können (siehe Abbildung 4.9). Der Vorteil der T_2^* -Bildgebung gegenüber der Diffusionsbildgebung liegt zum einen an der wesentlich kürzeren Messzeit, zum anderen ist diese Technik am schlagenden Herzen einsetzbar. Bei der T_2^* -Bildgebung werden die Informationen über die Mikrostruktur direkt in einer einzigen Messung gewonnen. Im Gegensatz dazu benötigt die Diffusionsbildgebung für eine vollständige Beschreibung mindestens sieben Einzelmessungen.

5.6 Ausblick

Die morphologischen Veränderungen im Herzmuskel bei Myokardinfarkt wirken sich natürlich auch auf die Diffusionseigenschaften der Wassermoleküle aus. An Formalin fixierten Herzen mit chronischem Infarkt konnte mittels Diffusionstensor-Bildgebung eine Unterscheidung zwischen gesundem und infarziertem Myokardgewebe getroffen werden [Che02]. Die Frage ist nun, ob die Diffusionsbildgebung, die bei der Diagnose von akuter cerebraler Ischämie als klinisches Standard-Verfahren eingesetzt wird, auch bei akutem Myokardinfarkt relevante diagnostische Informationen liefern kann? Diese Fragestellung wird, aufbauend auf die in diesem Kapitel vorgestellten Ergebnisse, im Teilprojekt A7 des Sonderforschungsbereichs *Pathophysiologie der Herzinsuffizienz* im Rahmen einer Promotionsarbeit behandelt.

Kapitel 6

NMR-Mikroskopie am Herzmuskel mittels TrueFISP-Bildgebung

6.1 Motivation

Das Ziel der NMR-Mikroskopie ist es, kleinste Strukturen biologischer Objekte darzustellen. In Kapitel 4, Abbildung 4.5 wurde gezeigt, dass eine erhöhte Ortsauflösung eine verbesserte Darstellung der myokardialen Muskelfasern ermöglicht. Mit der Erhöhung der räumlichen Auflösung ist aber gleichzeitig eine Verminderung des SNR verbunden, da sich mit abnehmenden Voxelvolumen auch die Anzahl der Spins pro Voxel verringert. Dies kann zum Teil durch optimierte HF-Spulen, Messungen bei höheren B_0 -Feldstärken oder durch eine Verlängerung der Messzeit kompensiert werden. Diese ist allerdings bei vielen *in vivo* Anwendungen limitiert. Bei Experimenten am isolierten Herzen beschränkt die Stabilität des Herzens die maximale Messzeit und somit auch die erreichbare Ortsauflösung. Durch den Einsatz von NMR-Techniken mit einer höheren SNR-Effizienz könnte die erreichbare Ortsauflösung verbessert oder die Dauer von Mikroskopie-Experimenten drastisch verkürzt werden.

SSFP-Sequenzen (**S**teady-**S**tate **F**ree **P**recession) liefern aufgrund einer vollständigen Refokussierung der Magnetisierung ein hohes SNR bei kurzen Repetitionszeiten. Das Prinzip der Refokussierung der Magnetisierung innerhalb eines Repetitionszeitintervalls wurde schon 1958 von Carr vorgeschlagen [Car58]. Die Übertragung auf die Bildgebung gelang 1986 Oppelt et al. [Opp86] mit der eingeführten FISP-Sequenz (Fast Imaging with Steady-State Precession). Mittlerweile existieren einige Akronyme für diese SSFP-Sequenz, wie zum Beispiel **TrueFISP** (**T**ru**e** **F**ast **I**maging with **S**teady-**S**tate **P**recession), **Balanced-FFE** (**B**alanced **F**ast **F**ield **E**ncoding), **FIESTA** (**F**ast **I**maging **E**mloying **S**teady-**S**tate **A**cquisition) [Har03a][Hen03][Foo02]¹. Da die TrueFISP-

¹In dieser Arbeit wird das Akronym TrueFISP verwendet.

Sequenz hohe Anforderungen an das Gradientensystem und an die Homogenität des B_0 -Feldes stellt, fand diese Sequenz erst mit der Entwicklung leistungsstarker Gradientensysteme Anwendung im klinischen Umfeld [Car01][Dur98][Bar01][Blo01]. Durch die Entwicklung von Magnetisierungspräparation [Sch01a][Des01] und Fettunterdrückung [Sch01b][Har03a] bietet TrueFISP weitere Einsatzmöglichkeiten in der klinischen Routine.

Bei Hochfeldsystemen wurde TrueFISP bis jetzt noch nicht eingesetzt. Dies liegt wahrscheinlich an der hohen Sensitivität von TrueFISP auf Feldinhomogenitäten. Vielleicht ist aber auch der typische T_2/T_1 -Bildkontrast von TrueFISP für Mikroskopieanwendungen unbrauchbar. Aufgrund der hohen SNR-Effizienz wäre allerdings der Einsatz von TrueFISP bei hochaufgelösten Mikroskopieuntersuchungen wünschenswert. Deswegen wurde im Rahmen dieser Arbeit die Anwendbarkeit von TrueFISP an Hochfeldsystemen getestet und die Fragestellung näher untersucht, ob TrueFISP den für Mikroskopieanwendungen nötigen hohen Bildkontrast liefern kann. In diesem Zusammenhang wurde auch der Einfluss mesoskopischer Inhomogenitäten auf das Kontrastverhalten von TrueFISP näher analysiert (siehe Kapitel 7).²

6.2 Theoretische Grundlagen

Bei Gradientenecho-Sequenzen, wie beispielsweise bei FLASH [Haa86], wird üblicherweise nach jeder Akquisition ein so genannter Spoilerpuls³ geschaltet, der die verbleibende Transversalmagnetisierung möglichst stark dephasiert. Alternativ kann auch so genanntes HF-Spoiling eingesetzt werden. Hierbei werden die HF-Pulse mit unterschiedlicher Pulsphase eingestrahlt, wodurch auch eine Zerstörung der Phasenbeziehung transversaler Magnetisierung erreicht wird. Für die nächste Anregung steht somit nur der Anteil der relaxierten longitudinalen Magnetisierung zur Verfügung. Dies bedeutet, dass bei kurzen Repetitionszeiten nur eine schwache Transversalmagnetisierung erzeugt werden kann. Um diese zu erhöhen, arbeiten SSFP-Sequenzen mit refokussierenden Gradientenpulsen. Bei einer vollständig refokussierten SSFP-Sequenz wie TrueFISP werden in alle drei Kodierrichtungen refokussierende Gradientenpulse geschaltet, so dass sich für die resultierende Gradientenfläche zwischen zwei HF-Pulsen der Wert *Null* ergibt. Weiterhin werden die HF-Pulse mit alternierender Phase ($\pm\alpha$) eingestrahlt. Somit ergibt sich ein vollkommen symmetrischer Sequenzaufbau, bei dem das Echo zum Zeitpunkt $TE = \frac{TR}{2}$ ausgelesen wird (siehe Abbildung 6.1). Kohärente Transversalmagnetisierung trägt zum Gesamtsignal in aufeinanderfolgenden Repetitionszeitintervallen bei, wodurch ein höheres SNR als mit gespoilten Gradientenecho-Sequenzen

²Der Inhalt dieses Kapitels ist in der Zeitschrift *Journal of Magnetic Resonance* veröffentlicht [Köh03b].

³Gradientenpuls mit großem Produkt $G \cdot t_G$.

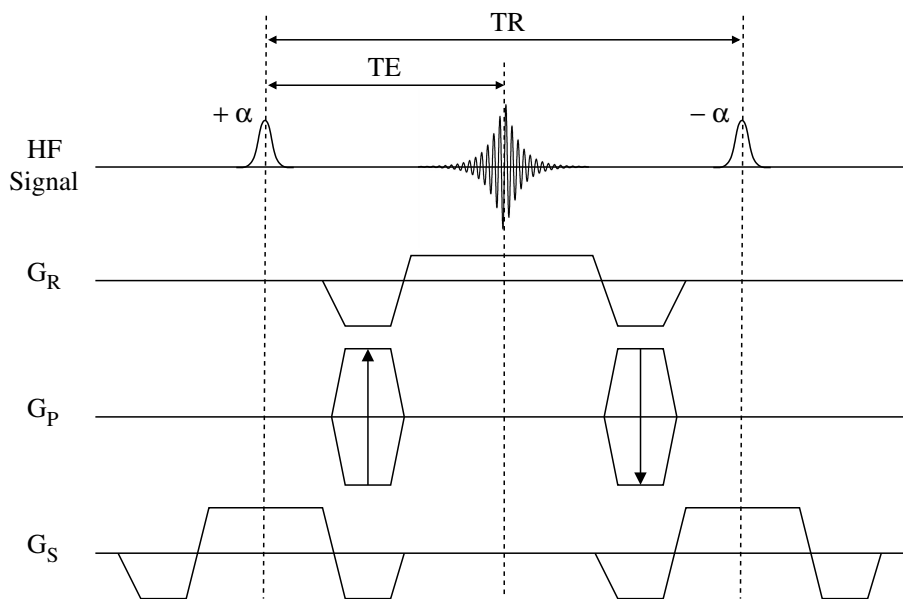


Abbildung 6.1: Schematische Darstellung der TrueFISP-Sequenz. Die Verwendung alternierender HF-Pulse und rephasierender Gradientenpulse führt zu einer vollständigen Refokussierung der Steady-State-Magnetisierung innerhalb eines TR-Intervalls. Durch den symmetrischen Sequenz-Aufbau wird das Echo zum Zeitpunkt $TE = \frac{TR}{2}$ ausgelesen.

erreicht wird. Für ein on-resonantes Spinsystem lässt sich die im Steady-State erreichte Magnetisierung mit nur einem Magnetisierungsvektor beschreiben, und nicht wie bei Gradientenecho- oder Multispinecho-Sequenzen als Überlagerung mehrerer dephasierter Zustände transversaler und longitudinaler Magnetisierung [Sch99]. Durch die alternierenden $\pm\alpha$ -Pulse wird die Steady-State-Magnetisierung für on-resonante Spins einmal um den Winkel $+\alpha/2$ und im nächsten Repetitionsintervall um $-\alpha/2$ aus der z-Richtung ausgelenkt.

Für off-resonante Spins kann es jedoch zu einer unvollständigen Refokussierung kommen. Dies führt zu einer starken Abhängigkeit der Steady-State-Magnetisierung von der Off-Resonanzverteilung der Spins [Zur88][Sch01c][Haa90]. Bei einem Off-Resonanzwinkel⁴ $\beta(TR) = \pm\pi$ zeigt das Intensitätsverhalten der Steady-State-Magnetisierung eine drastische Signalreduktion (siehe Abbildung 6.2), die zu den bekannten Streifenartefakten (*banding artifacts*) in TrueFISP-Bildern führen. Dieses Verhaltensmuster der Magnetisierung besitzt eine Periodizität von $1/TR$ und wird bestimmt durch die gewebespezifischen Relaxationszeiten T_1 und T_2 , sowie durch die Sequenzparameter α und TR . Die Streifenartefakte lassen sich vermeiden, wenn die Frequenzverteilung über der Bildgebungsebene innerhalb des Signalplateaus liegt. Die Variation in der Frequenz sollte somit innerhalb des Intervalls $\pm 1/(2 \cdot TR)$ liegen. Dies entspricht bei einem TR

⁴Allgemein bestimmt sich der Off-Resonanzwinkel (Phasenakkumulation während Zeitintervall t) zu: $\beta(t) = \Delta\omega \cdot t = \gamma \cdot \Delta B \cdot t$.

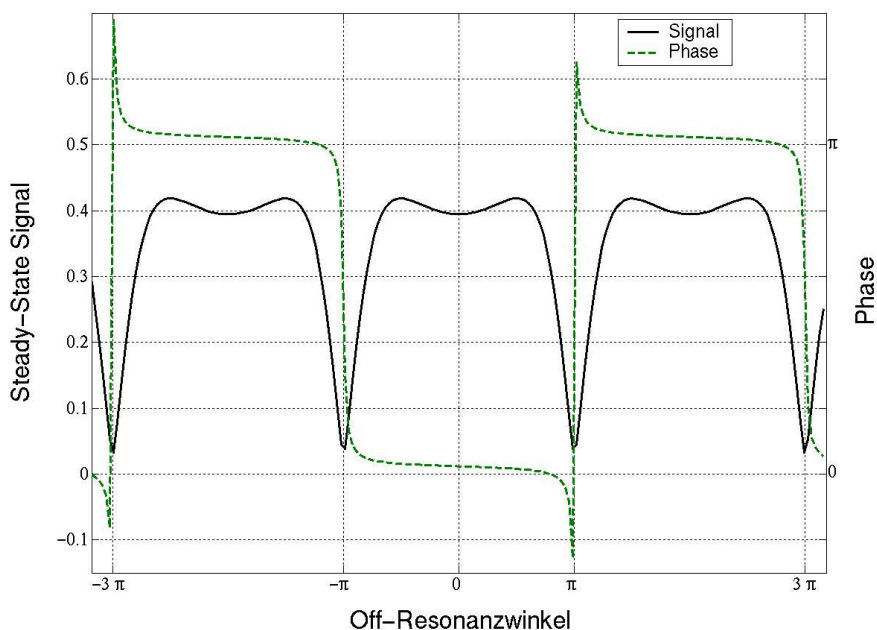


Abbildung 6.2: Steady-State-Signalverhalten (durchgezogene Linie) und Phasenverhalten (gestrichelte Linie) in Abhängigkeit vom Off-Resonanzwinkel $\beta(TR)$ für $TE = \frac{TR}{2}$ ($\alpha = 60^\circ$, $T_1 = 300$ ms, $T_2 = 200$ ms, $TR = 4.0$ ms). Die TR -unabhängige Skalierung kann durch Division mit $(2 \cdot \pi \cdot TR)$ in eine Frequenzachse umgewandelt werden. Die Signalintensität zeigt ein periodisches Verhalten von $1/TR$, während die Signalphase zwischen aufeinanderfolgenden Perioden ein alternierendes Verhalten aufzeigt. Bei einem Off-Resonanzwinkel von $\pm\pi$ ist eine drastische Signalabnahme zu erkennen, die zu den bekannten Streifenartefakten führt.

von 4.0 ms einer Feldhomogenität von 125 Hz über die Bildebene. Sequenzen mit einem kürzeren TR können folglich eine größere Off-Resonanzverteilung tolerieren, ohne dass Streifenartefakte in der Bildebene entstehen.

Der Bildkontrast von TrueFISP ist näherungsweise proportional zu $\frac{1}{2} \cdot M_0 \cdot \sqrt{\frac{T_2}{T_1}}$ [Haa99]. Dies führt zu dem für TrueFISP typischen Gefäßkontrast, da T_2 in Flüssigkeiten sehr viel größer ist als im umliegenden Gewebe.

Das Off-Resonanzverhalten von TrueFISP muss nicht unbedingt als Nachteil dieser Sequenz angesehen werden. Es kann vielmehr als neuer Kontrastmechanismus genutzt werden. Mit einer geeigneten Wahl von TR lassen sich Spins in einem bestimmten Frequenzband unterdrücken, während alle anderen Spins ein hohes Signal liefern. Zudem lässt sich das spektrale Profil der Sequenz durch Anwendung bestimmter HF-Phasenzyklen fast beliebig modifizieren [Vas99][Vas00]. Zur Ausbildung eines Steady-State muss die Pulsphase aber folgende Bedingung erfüllen (siehe Kapitel 1.1.3): $\varphi_n = a + b \cdot n + c \cdot n^2$. Hierbei legt der Parameter a nur die Anfangsphase fest. Mit Hilfe von Parameter b lässt sich der Signalverlauf um einen Off-Resonanzwinkel b verschieben und mit Parameter c die Charakteristik der Signalkurve modifizieren. Ein konstanter

Phasenzklus 0-0 ($a = b = c = 0$) führt somit zu einer Verschiebung des Steady-State-Signalverlaufs um einen Off-Resonanzwinkel $\Delta\beta = \pi$ im Vergleich zu dem Signalverlauf bei alternierender Pulsphase 0-180 ($a = c = 0, b = \pi$), siehe Abbildung 6.3. Eine Verschiebung um $\Delta\beta = \pm\frac{\pi}{2}$ lässt sich durch einen Phasenzklus 0-90-180-270 ($b = +\frac{\pi}{2}$) bzw. 0-270-180-90 ($b = -\frac{\pi}{2}$) realisieren. Somit bietet TrueFISP die Möglichkeit, durch gezieltes Sequenz-Design frequenzselektive Filter zu erzeugen.

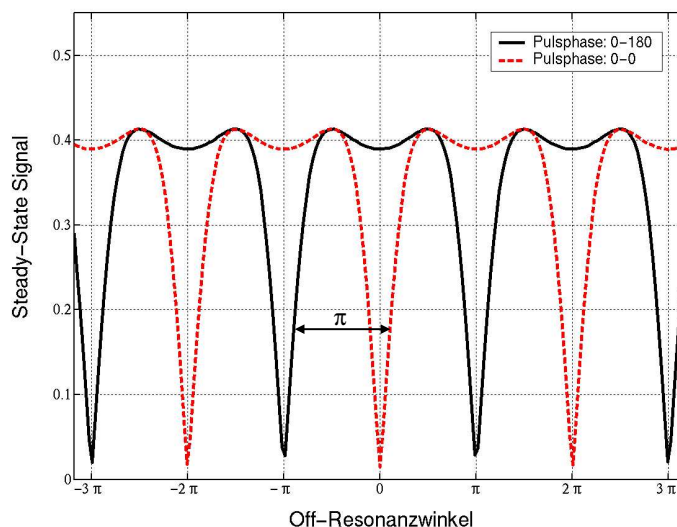


Abbildung 6.3: Steady-State-Signalverhalten in Abhängigkeit vom Off-Resonanzwinkel. Die Verwendung einer konstanten Pulsphase ($\varphi = 0 - 0$) führt zu einer Verschiebung der Signalkurve um einen Off-Resonanzwinkel $\Delta\beta = \pi$ in Bezug auf das Signalverhalten bei alternierender Pulsphase ($\varphi = 0 - 180$).

6.3 Material und Methoden

Pflanzen und Formalin fixierte Proben sind in der Mikroskopie interessante Untersuchungsobjekte. Deshalb wurde im Rahmen dieser Arbeit die Anwendbarkeit von TrueFISP bei hohem B_0 -Feld nicht nur am schlagenden isolierten Herzen, sondern auch an Formalin fixierten Herzen und an Pflanzen getestet. Hierbei wurde die Sensitivität von TrueFISP auf gewebespezifische Inhomogenitäten näher untersucht und das Kontrastverhalten analysiert. Weiterhin wurde der Bildkontrast und die SNR-Effizienz von TrueFISP mit konventionellen Gradientenecho- und Spinecho-Experimenten verglichen.

Sowohl 2D- als auch 3D-TrueFISP-Sequenzen wurden am 11.75 T AMX500 NMR-Mikroskopiesystem implementiert. Wie von Deimling und Heid vorgeschlagen [Dei94],

wurde jeder TrueFISP-Pulszug mit einem $\alpha/2$ -Vorpuls ausgestattet, um die Magnetisierung nahe an den Steady-State zu bringen und um Oszillationen in der Echoamplitude zu minimieren. Ein Anregungswinkel $\alpha = 60^\circ$ wurde für alle TrueFISP-Experimente verwendet. Bei einer Matrixgröße von 256×256 Bildpunkten konnte ein $TR/TE = 4.0 \text{ ms}/2.0 \text{ ms}$ und bei 512×512 Bildpunkten ein $TR/TE = 7.4 \text{ ms}/3.7 \text{ ms}$ realisiert werden. Dies entspricht bei einem FOV von $20 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$ einer In-Plane-Auflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m}$ bzw. $39 \mu\text{m} \times 39 \mu\text{m}$. Um Veränderungen des Bildkontrastes zu erzielen, wurden Experimente mit unterschiedlichen HF-Pulsphasenzyklen durchgeführt.

Für alle untersuchten Objekte konnte eine globale Linienbreite kleiner als 45 Hz erreicht werden. Beim Effizienz-Vergleich von TrueFISP mit konventionellen Gradientenecho- und Spinecho-Sequenzen wurde zunächst das SNR aus dem Verhältnis der über einen homogenen Bereich (*ROI: Region of Interest*) gemittelten Signalamplitude und der Standardabweichung des Rauschens bestimmt [Fir99]. Die *SNR-Effizienz* η berechnet sich aus SNR und Bildmesszeit nach folgender Gleichung:

$$\eta = \frac{SNR}{\sqrt{\text{Bildmesszeit}}}. \quad (6.1)$$

6.4 Ergebnisse

6.4.1 NMR-Mikroskopie an biologischen Proben

In Abbildung 6.4 ist ein Vergleich zwischen einem TrueFISP-, einem FLASH- und einem Spinecho-Bild einer Sonnenblume mit einer Auflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$ zu sehen. TrueFISP zeigt ein hohes SNR im Umgebungsmedium (ROI1) und im relativ homogenen Pflanzengewebe (ROI2). Jedoch sind im inhomogenen Pflanzengewebe (ROI3) signifikante Signalverluste zu erkennen. Tabelle 6.1 gibt eine Zusammenfassung über Bildmesszeit, SNR und SNR-Effizienz der einzelnen Techniken für die drei verschiedenen Bildregionen. Für ROI1 und ROI2 ergibt sich eine Steigerung der SNR-Effizienz um einen Faktor 4.1 bzw. 3.5 verglichen mit einem Gradientenecho-Experiment und eine Steigerung um einen Faktor 32.3 bzw. 28.9 bei einem Vergleich mit der Spinecho-Bildgebung. Im inhomogenen Bildbereich (ROI3) zeigt TrueFISP jedoch deutliche Signalverluste und somit auch einen Verlust der SNR-Effizienz im Vergleich zum FLASH-Experiment. Dieser Signalverlust wird durch gewebespezifische Feldinhomogenitäten verursacht.

Ein Vergleich zwischen einem FLASH- und einem TrueFISP-Bild einer Formalin fixierten Gewebeprobe eines menschlichen Herzens ist in Abbildung 6.5 zu sehen. Beide Bilder zeigen die gleiche räumliche Auflösung, jedoch ergibt sich für TrueFISP eine Steigerung der SNR-Effizienz um einen Faktor 2.2 im Myokardgewebe. Wie in Abschnitt

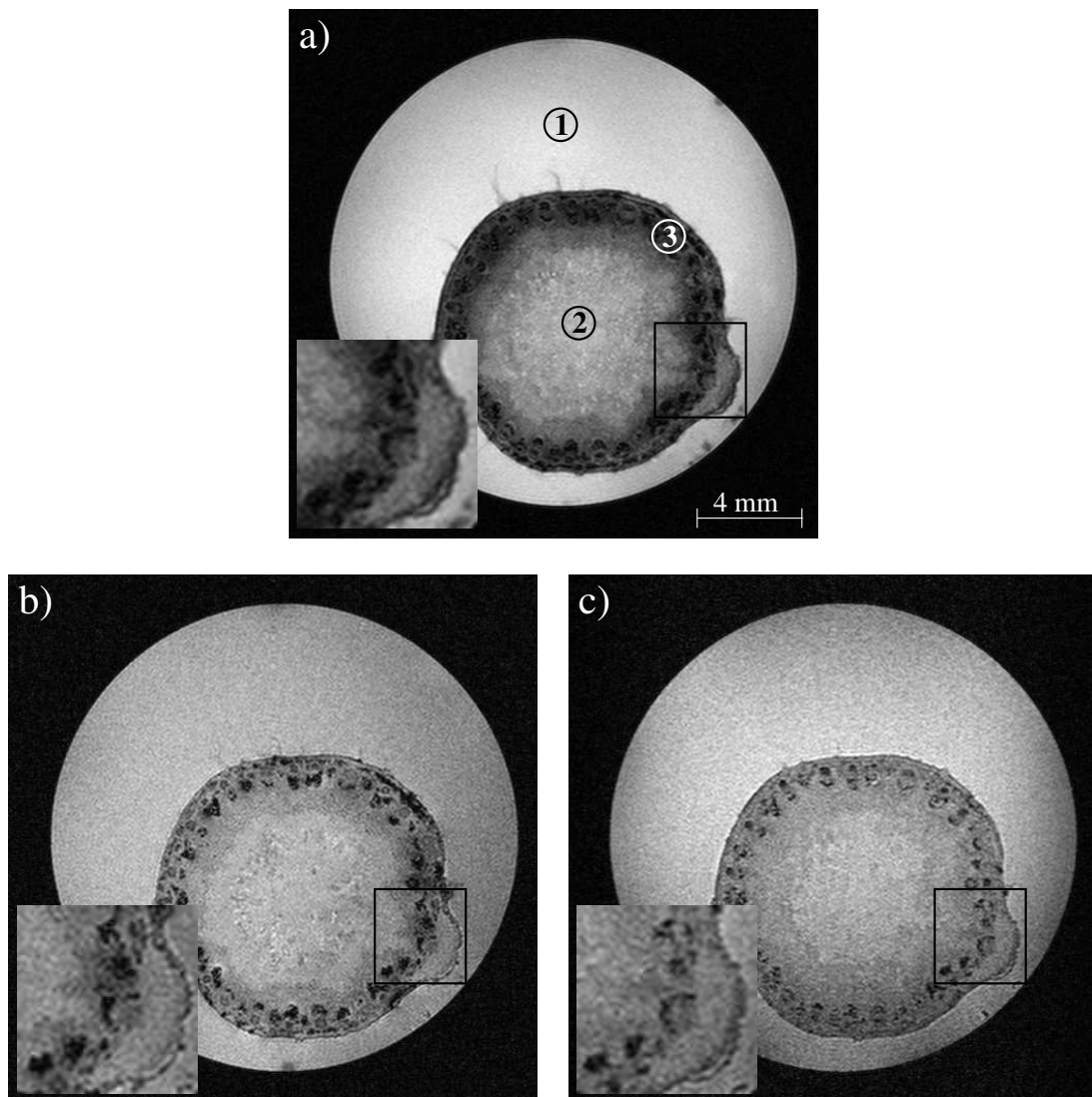


Abbildung 6.4: Vergleich zwischen einem TrueFISP-Bild (a), einem FLASH-Bild (b) und einem Spinecho-Bild (c) einer Sonnenblume (FOV: 20 mm x 20 mm, Auflösung: $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$). Tabelle 6.1 gibt einen Überblick über Bildmesszeit, SNR und SNR-Effizienz der einzelnen Techniken für drei verschiedene Bildareale: ROI1, Umgebungsmedium; ROI2, homogenes Pflanzengewebe; ROI3, inhomogenes Pflanzengewebe.

6.2 beschrieben, kann das Signalverhalten der TrueFISP-Sequenz durch Verwendung verschiedener Phasenzyklen der HF-Pulse modifiziert werden. Die daraus resultierenden Veränderungen im Bildkontrast sind für einen Phasenzyklus von 0-0 in Abbildung 6.5c zu sehen.

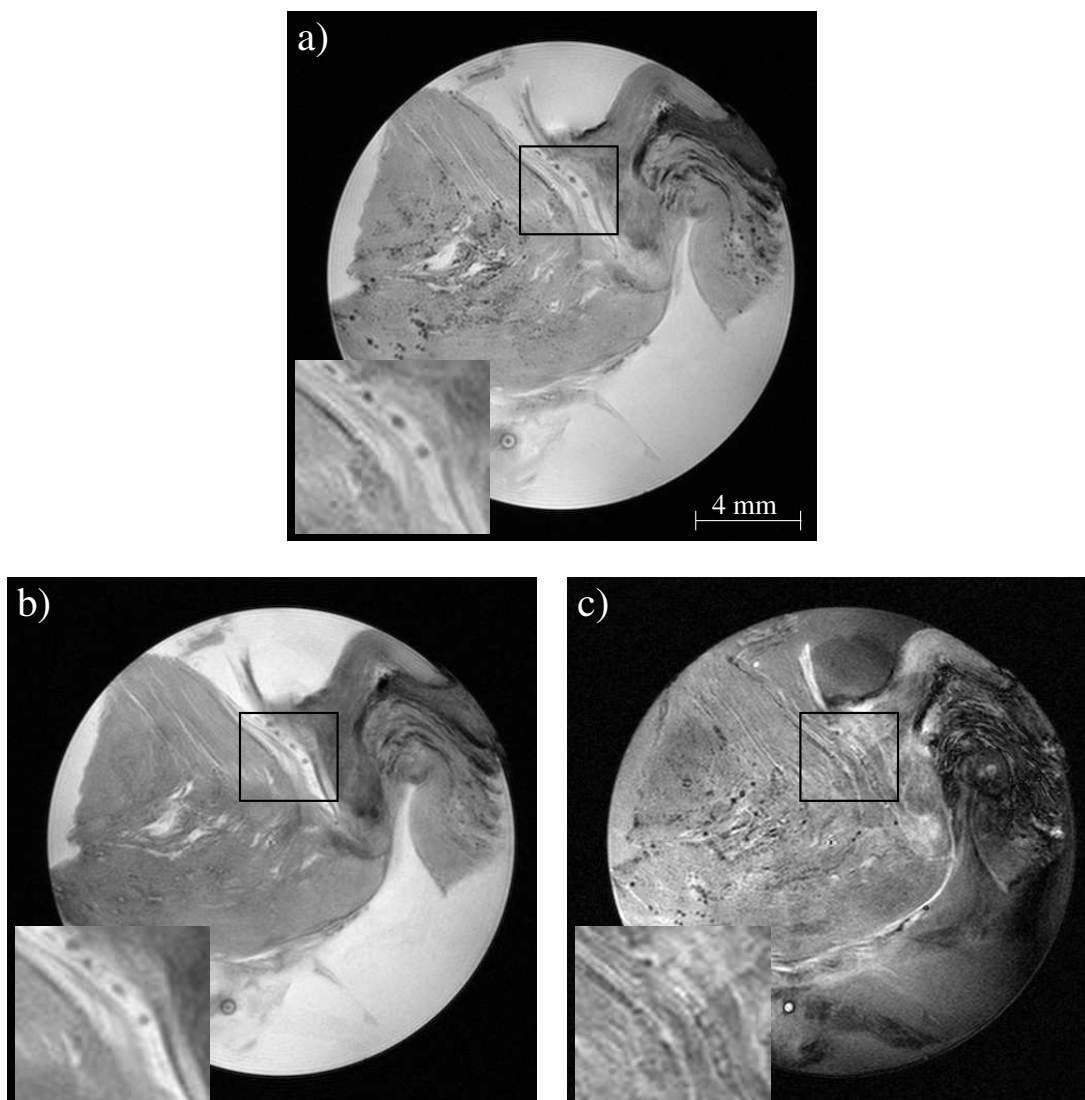


Abbildung 6.5: (a) FLASH-Bild, (b) TrueFISP-Bild mit alternierender HF-Pulsphase (0-180) und (c) TrueFISP-Bild mit konstanter HF-Pulsphase (0-0) einer Formalin fixierten Gewebeprobe eines menschlichen Herzens (FOV: 20 mm x 20 mm, Auflösung: $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$).

6.4.2 NMR-Mikroskopie am isolierten Herzen

Abbildung 6.6 zeigt ein TrueFISP-Bild eines schlagenden, isolierten Rattenherzens im Vergleich mit einem FLASH-Bild im Kurzachsschnitt. Die Auflösung in der Bildebene beträgt $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m}$ und die Schichtdicke $500 \mu\text{m}$. Um annähernd den gleichen Bildkontrast im Myokard zu erzielen, wurde für das FLASH-Experiment eine Echozeit von 19.0 ms gewählt. Die Gesamtmesszeit betrug für TrueFISP 51 s und für FLASH 14 min. Das SNR im Herzmuskel ist für beide Techniken nahezu gleich. TrueFISP liefert jedoch im Druckballon ein 20% höheres SNR. Deutlich zu sehen ist der für True-

	TrueFISP	FLASH	Spinecho
T_{ACQ}	16.4 s	41.0 s	1 h
SNR [ROI1]	46.6	17.8	21.5
η [ROI1]	89.1	21.5	2.8
SNR [ROI2]	39.8	18.0	20.9
η [ROI2]	76.1	21.8	2.7
SNR [ROI3]	7.4	12.4	15.7
η [ROI3]	14.2	15.0	2.0

Tabelle 6.1: Vergleich der Bildmesszeit T_{ACQ} , des SNR und der SNR-Effizienz η für TrueFISP-, FLASH- und Spinecho-Experimente an der Pflanze (ROI1: Umgebungsmedium, ROI2: homogenes Pflanzengewebe, ROI3: inhomogenes Pflanzengewebe).

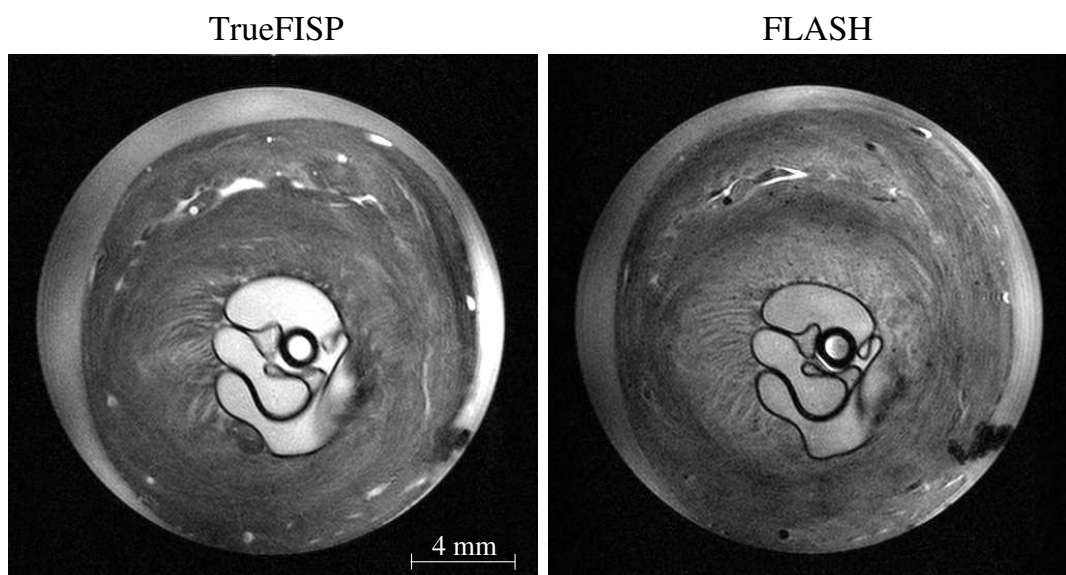


Abbildung 6.6: TrueFISP-Bild (links) eines schlagenden, isolierten Herzens im Vergleich mit einem FLASH-Bild (rechts) im Kurzachsschnitt. Die Gesamtmesszeit betrug für das TrueFISP-Experiment 51 s und für das FLASH-Experiment 14 min bei einer Auflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$.

FISP typische Gefäßkontrast, der auf einem hohen T_2/T_1 -Verhältnis in Flüssigkeiten beruht. Abbildung 6.7a zeigt eine Vergrößerung des Kurzachsschnittes aus Abbildung 6.6 und Abbildung 6.7b eine Vergrößerung eines Langachsschnittes. In den TrueFISP-Bildern deutlich zu sehen ist der myokardiale Muskelfaserverlauf. Hinsichtlich der Visualisierung dieser Faserstrukturen weisen die TrueFISP-Bilder im Vergleich zu den T_2^* -gewichteten Bildern teilweise einen höheren Kontrast auf.

Detailvergrößerungen eines hochaufgelösten TrueFISP-Bildes ($39 \mu\text{m} \times 39 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$) sind in Abbildung 6.8a gezeigt. Um die hierfür benötigte Messzeit mit 15 min relativ kurz zu halten, wurden diese Experimente an einem kardioplegischen Herzen durch-

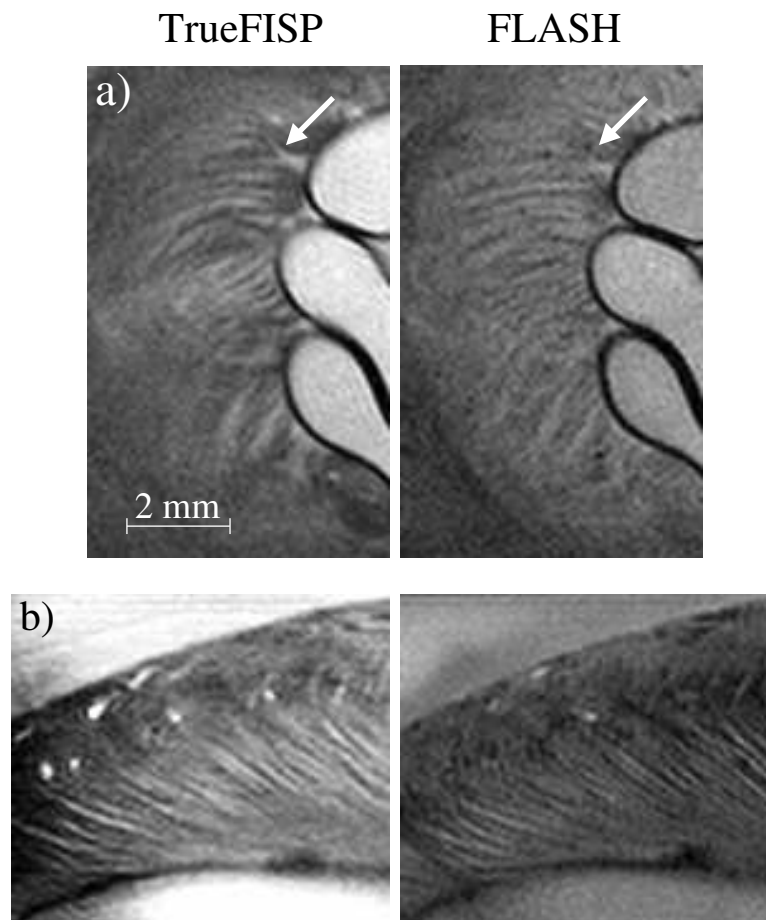


Abbildung 6.7: Vergleich zwischen TrueFISP (links) und FLASH (rechts): (a) Vergrößerung des Kurzachsschnittes aus Abbildung 6.6. Deutlich zu erkennen ist der hohe Kontrast myokardialer Faserstrukturen im TrueFISP-Bild. (b) Ausschnittsvergrößerung eines Langachsschnittbildes. Auflösung: $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$.

geführt. Abbildung 6.8b zeigt entsprechende Ausschnitte eines TrueFISP-Bildes mit einer Ortsauflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$ und einer Gesamtmesszeit von 16 s. Durch die verbesserte Ortsauflösung ist es möglich, kleinste Gefäße im Myokardgewebe zu detektieren.

Der Einfluss der HF-Pulsphase auf den Bildkontrast ist in Abbildung 6.9 demonstriert. Zu sehen sind TrueFISP-Bilder des isolierten Herzens mit unterschiedlicher Pulsphase: a) 0-180, b) 0-0 und c) 0-90-180-270. Die nominelle Ortsauflösung beträgt $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$ und die Messzeit pro Bild 51 s. Die einzelnen Bilder zeigen einen sehr unterschiedlichen Bildkontrast hinsichtlich der Mikrostruktur des Herzens. Dies liegt daran, dass durch eine Modifikation der Pulsphase auch das spektrale Profil der TrueFISP-Sequenz verändert wird und somit auch die Sensitivität auf gewebespezifische Inhomogenitäten.

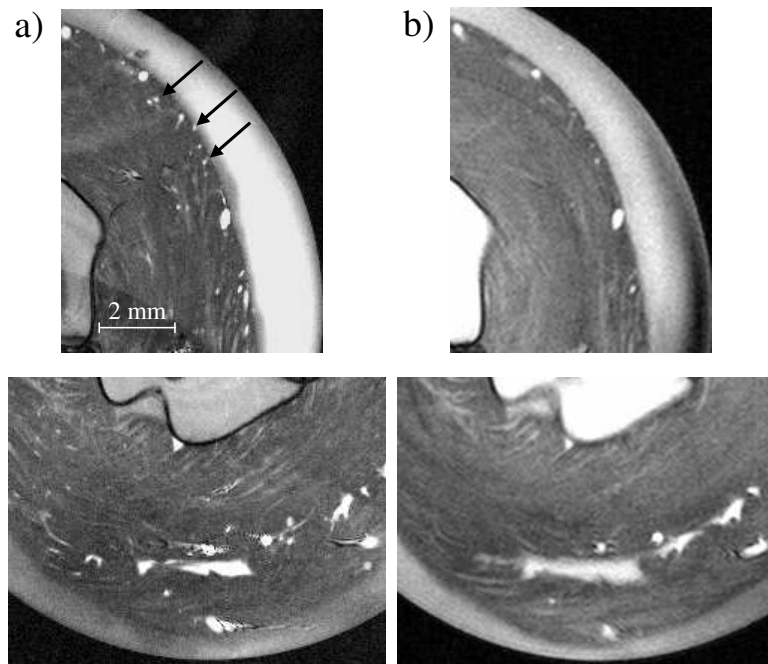


Abbildung 6.8: (a) Vergrößerungen eines hochauflösten ($39 \mu\text{m} \times 39 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$) TrueFISP-Bildes eines isolierten Herzens im Kurzachsschnitt. Kleinste Gefäße sind deutlich zu erkennen (durch Pfeile gekennzeichnet). (b) Entsprechende TrueFISP-Bildausschnitte mit einer Auflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$.

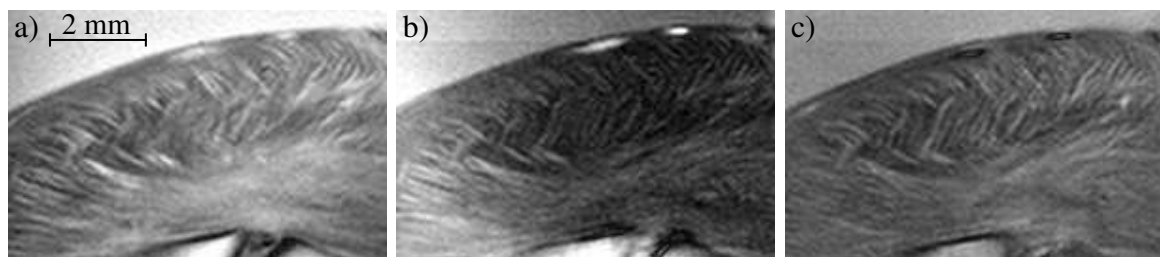


Abbildung 6.9: TrueFISP-Bildausschnitte des isolierten Herzens mit unterschiedlicher Pulsphase: a) 0-180, b) 0-0 und c) 0-90-180-270.

6.5 Diskussion und Ausblick

Einsatz in der Mikroskopie

Im Rahmen dieser Arbeit konnte der Anwendungsbereich von TrueFISP in der Mikroskopie bei hohen B_0 -Feldstärken erfolgreich aufgezeigt werden. Wenn sich makroskopische Feldinhomogenitäten vermeiden lassen, zum Beispiel durch ein optimiertes Shim-Verfahren, dann können artefaktfreie TrueFISP-Bilder auch bei hohen B_0 -Feldstärken erreicht werden. Für alle in diesem Kapitel beschriebenen Experimente wurde

eine globale Linienbreite kleiner als 45 Hz erzielt. Dies bedeutet, dass die geforderte Feldhomogenität von $\pm 1/(2 \cdot TR)$ erfüllt ist und somit die über der Bildebene auftretende Frequenzvariation innerhalb des Plateaus des Intensitätsprofils liegt (siehe Abbildung 6.2).

TrueFISP wurde auf dem Gebiet typischer NMR-Mikroskopie-Anwendungen getestet und in allen Fällen konnte ein SNR-Gewinn gegenüber konventionellen Gradientenecho- und Spinecho-Experimenten erzielt werden. Für die Untersuchungen an der Pflanze ergab sich eine Steigerung der SNR-Effizienz um einen Faktor 3.5 für homogenes Pflanzengewebe (ROI2) und eine Steigerung von 4.1 für das Umgebungsmedium (ROI1) im Vergleich mit den Gradientenecho-Experimenten (Tabelle 6.1). Gegenüber der Spinecho-Bildgebung zeigte TrueFISP eine Steigerung der SNR-Effizienz um einen Faktor 28.9 für ROI2 und 32.3 für ROI1. Bei diesem Vergleich muss allerdings berücksichtigt werden, dass eine konventionelle Spinecho-Sequenz bezüglich ihrer SNR-Effizienz noch optimiert werden kann. Beispielsweise ist es möglich, innerhalb eines Repetitionszeitintervalls mehrere Echos mit unterschiedlicher Phasenkodierung aufzunehmen (RARE-Sequenz) und so die Gesamtmesszeit zu verkürzen, was zu einer Steigerung der SNR-Effizienz führt.

Es konnte erfolgreich demonstriert werden, dass mit TrueFISP die für Mikroskopie-Experimente erforderliche räumliche und zeitliche Auflösung sowie ein hoher Bildkontrast erzielt werden kann. Aufgrund der hohen SNR-Effizienz von TrueFISP im Vergleich zu konventionellen Gradientenecho- und Spinecho-Techniken erlaubt TrueFISP - je nach Fragestellung - schnellere Mikroskopie-Experimente oder eine Verbesserung der Ortsauflösung. Da gerade die Auflösung in der Mikroskopie durch das erreichbare SNR pro Zeiteinheit limitiert ist, könnte TrueFISP zu einem wichtigen Bestandteil in der NMR-Mikroskopie werden. Jedoch kann nicht die Schlussfolgerung gezogen werden, dass TrueFISP bei hohen B_0 -Feldstärken immer konventionellen Gradientenecho- und Spinecho-Sequenzen überlegen ist. Bei extrem inhomogenen Objekten mit großen Suszeptibilitätssprüngen kann es gerade bei hohen B_0 -Feldern schwierig werden, die für TrueFISP erforderliche Feldhomogenität zu erreichen, um Streifenartefakte zu vermeiden. Außerdem können Signalverluste aufgrund von Intravoxel-Dephasierungseffekten (siehe Kapitel 7) auftreten. So zeigt TrueFISP für den inhomogenen Bereich der Pflanze (ROI3) einen Verlust an SNR-Effizienz im Vergleich zum FLASH-Experiment (siehe Abbildung 6.4/Tabelle 6.1).

Visualisierung der Mikrostruktur des isolierten Herzens

Abbildungen 6.6 und 6.7 veranschaulichen deutlich, dass auch mit Hilfe hochaufgelöster TrueFISP-Bildgebung der myokardiale Muskelfaserverlauf am isolierten, schlagenden Herzen dargestellt werden kann. Im Vergleich mit T_2^* -gewichteter Bildgebung zeigen

die TrueFISP-Bilder teilweise einen höheren Kontrast in Bezug auf die myokardiale Faserorientierung (Abbildung 6.7). Zusätzlich weisen die TrueFISP-Bilder einen sehr hohen Gefäßkontrast auf, der auf einem hohen T_2/T_1 -Verhältnis, wie er in Flüssigkeiten vorherrscht, beruht. Vergleicht man die Echozeiten zwischen TrueFISP ($TE = 2.0$ ms) und den T_2^* -gewichteten Experimenten ($TE = 19.0$ ms), so zeigt sich eine große Diskrepanz. Da diese unterschiedlichen Echozeiten aber einen relativ ähnlichen Bildkontrast liefern, könnte man vermuten, dass TrueFISP eine wesentlich höhere T_2^* -Sensitivität aufweist als FLASH. Diese scheinbar höhere Sensitivität von TrueFISP auf T_2^* -Effekte lässt sich mit dem Prinzip der *Intravoxel-Dephasierung* erklären, das in Kapitel 7 näher erläutert wird. Demzufolge ist die allgemein anerkannte Beschreibung des TrueFISP-Bildkontrastes mit dem Verhältnis aus T_2 - und T_1 -Relaxationszeit unzureichend. Vielmehr muss auch die Off-Resonanzverteilung innerhalb eines Voxels berücksichtigt werden, die zu Signalverlusten führen kann.

Die hohe SNR-Effizienz von TrueFISP erlaubt die Akquisition des myokardialen Muskelfaserverlaufs in einer wesentlich kürzeren Messzeit im Vergleich zur T_2^* -Bildgebung. Dies ermöglicht höchst aufgelöste NMR-Bilder ($39 \mu\text{m} \times 39 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$) des isolierten Herzens in einer Messzeit von 15 min, mit denen neben der Muskelstruktur infolge des hohen Gefäßkontrastes von TrueFISP auch kleinste Gefäße im Herzmuskel abgebildet werden können (siehe Abbildung 6.8). Damit konnte eine weitere, weitaus effizientere Methode etabliert werden, die im Vergleich mit konventioneller Histologie im Wesentlichen gleichwertige Informationen über die Morphologie des Herzmuskels liefert.

Variation des Bildkontrastes

Durch Verwendung spezieller Pulsphasenzyklen ist es möglich, das Intensitätsprofil von TrueFISP in Abhängigkeit von der Off-Resonanz zu verändern. Hierbei bewirkt ein Phasenzyklus 0-90-180-270 eine Verschiebung der Intensitätskurve um $\frac{\pi}{2}$ und ein Phasenzyklus von 0-0 eine Verschiebung um π gegenüber der Intensitätskurve bei alternierender Phase von 0-180. Somit ist es gezielt möglich, die Sensitivität von TrueFISP auf bestimmte Frequenzbereiche zu modifizieren. Dies führt zu einer Veränderung des Bildkontrastes, was sowohl am Beispiel des Formalin fixierten Herzens (Abbildung 6.5), als auch am schlagenden Rattenherzen (Abbildung 6.9) demonstriert wurde. Durch die Analyse der Signalintensität in Abhängigkeit vom verwendeten Pulsphasenzyklus lassen sich Aussagen über lokale Frequenzverteilungen treffen.

Der Einsatz von TrueFISP unter Verwendung verschiedener Phasenzyklen erlaubt es, einen detaillierten Einblick in die Mikrostruktur biologischer Objekte zu gewinnen. Die Möglichkeit, das Kontrastverhalten der Bildgebungssequenz zu variieren, könnte sich gerade in der Mikroskopie als sehr hilfreich erweisen, da hier ein hohes Kontrast-zu-Rausch Verhältnis essentiell ist.

Kapitel 7

Untersuchungen zum Kontrastverhalten von TrueFISP

7.1 Motivation

Die in Kapitel 6 gezeigten TrueFISP-Bilder weisen neben dem für TrueFISP typischen T_2/T_1 -Kontrast auch einen sehr hohen T_2^* -Kontrast auf, für den es bisher in der Literatur keine Beschreibung gibt. Unsere Beobachtungen haben gezeigt, dass diese T_2^* -Sensitivität von TrueFISP gerade bei sehr inhomogenen Objekten größer sein kann als bei Gradientenecho-Experimenten. Dies lässt die Vermutung zu, dass auch bei TrueFISP gewebespezifische Magnetfeldinhomogenitäten auf mesoskopischer Ebene zu einer erhöhten Spindephasierung innerhalb eines Voxels und somit zu einem erhöhten Signalverlust führen. Dieses Prinzip der *Intravoxel-Dephasierung*, das aus Gradientenecho-Experimenten hinreichend bekannt ist, soll in diesem Kapitel für TrueFISP analysiert werden.

Zur Erklärung der T_2^* -Sensitivität von TrueFISP wurde das Signalverhalten dieser Bildgebungssequenz unter dem Einfluss mesoskopischer Inhomogenitäten im Rahmen einer Diplomarbeit [Mai03] näher untersucht. Hierbei wurden die Quellen typischer magnetischer Feldinhomogenitäten durch geometrische Modelle angenähert und die Auswirkungen auf das Voxelsignal mathematisch simuliert und am Phantom experimentell überprüft. In diesem Kapitel beschränken wir uns auf die Untersuchungen des *Zylinder-Modells* in Form einer Glaskapillare, da dieses Modell in Kapitel 4.5 zur Beschreibung der Mikrostruktur des Herzens verwendet wurde. Weitere geometrische Modelle sind in der Diplomarbeit von Jens Maier erläutert [Mai03].

7.2 Theoretischer Ansatz

Das periodische Verhalten der Transversalmagnetisierung im Steady-State in Abhängigkeit von der Off-Resonanzfrequenz ist in Abbildung 6.2 zu sehen. Die Signalphase zeigt zum Echozeitpunkt $TE = \frac{TR}{2}$ ein nahezu konstantes Verhalten über ein Signalplateau, wohingegen sich für aufeinanderfolgende Signalplateaus ein Phasensprung um π ergibt [Har03b][Spe02]. Diese Phasencharakteristik von TrueFISP ist unabhängig vom Anregungswinkel und zeigt für unterschiedliche T_2 - und T_1 -Relaxationszeiten nur geringfügige Abweichungen von dem in Abbildung 6.2 dargestellten Verlauf. Dies bedeutet, dass die Magnetisierung - ähnlich wie bei einem Spinecho-Experiment - innerhalb einer Frequenzbandbreite von $\pm 1/(2 \cdot TR)$ um die On-Resonanzfrequenz refokussiert wird. Erstreckt sich hingegen die Frequenzverteilung innerhalb eines Voxels über einen breiten Bereich, so addieren sich die einzelnen Beiträge mit unterschiedlicher Phase. Dies führt zu einer Reduktion des Voxelsignals. Das Ausmaß dieser Signalreduktion wird sehr stark von der lokalen Frequenzverteilung beeinflusst. In Abhängigkeit von Breite und Lage der Off-Resonanzverteilung $p(\beta)$ innerhalb eines Voxels lässt sich das Intravoxel-Dephasierungsverhalten von TrueFISP in drei charakteristische Bereiche unterteilen, die mit dem **Plateau-Regime**, **Amplituden-Regime** und **Phasen-Regime** beschrieben werden können:

Plateau-Regime

Beschränkt sich die Off-Resonanzverteilung $p(\beta)$ in einem Voxel auf das Signalplateau um die On-Resonanzfrequenz ($\Delta\beta(TR) < \pm\pi$), so weisen alle Spins zur Echozeit die gleiche Phase auf und die vektorielle Addition der einzelnen Spinbeiträge liefert maximales Voxelsignal. In diesem Regime tritt somit keine Intravoxel-Dephasierung auf.

Amplituden-Regime

Bleibt die Breite der Off-Resonanzverteilung wie im Plateau-Regime auf einen schmalen Frequenzbereich beschränkt und ist zugleich nicht mehr um die On-Resonanz zentriert, so kann es - je nach Lage dieser Frequenzverteilung - zu drastischen Signalverlusten bis hin zu einer vollständigen Auslöschung des Voxelsignals kommen. Bei einer symmetrischen Off-Resonanzverteilung um einen Phasensprung ergibt sich nämlich eine gleichstarke Besetzung zweier entgegengesetzter Phasenplateaus. Dies führt bei der Bildung des Voxelsignals zu einer gegenseitigen Auslöschung der einzelnen Signalbeiträge und somit zu einem vollständigen Signalverlust. Bei dieser symmetrischen Frequenzverteilung hat die Breite von $p(\beta)$ keinen Einfluss auf das Voxelsignal, denn es ergibt sich in allen Fällen eine komplette Signalauslöschung. Ist die Off-Resonanzverteilung

hingegen nicht symmetrisch um einen Phasensprung, aber immer noch auf zwei Phasenplateaus verteilt, so erhält man ein resultierendes Voxelsignal, dessen Stärke vom Besetzungsunterschied der einzelnen Plateaus abhängt.

Phasen-Regime

Für den Fall, dass die Off-Resonanzverteilung über einen sehr großen Frequenzbereich verteilt ist, spielt auch bei TrueFISP die Lage von $p(\beta)$ keine entscheidende Rolle mehr. Denn bei der Besetzung von $(n+1)$ Plateaus werden sich aufgrund entgegengesetzter Signalphase mindestens n Plateaus auslöschen, so dass maximal *ein* Plateau zum Voxelsignal beitragen kann. Somit beschränkt sich das resultierende Voxelsignal auf maximal den $\frac{1}{n+1}$ -ten Teil eines Signalplateaus. Für den Grenzfall $n \rightarrow \infty$ ergibt sich auch im Phasen-Regime eine vollständige Signalauslöschung.

7.3 Simulationen

Im Folgenden wird aufgezeigt, wie sich das Voxelsignal für verschiedene Off-Resonanzverteilungen berechnen lässt.

Matrix-Darstellung des Signalverhaltens

Während einer NMR-Sequenz werden die Spins durch HF-Pulse, freie Präzession und Relaxation beeinflusst. HF-Pulse können im rotierenden Koordinatensystem als einfache Drehungen formuliert werden. So lässt sich beispielsweise die Auslenkung der Magnetisierung \vec{M} um den Winkel α als Drehung um die x-Achse mit folgender Drehmatrix beschreiben:

$$R_x(\alpha) = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \alpha & \sin \alpha \\ 0 & -\sin \alpha & \cos \alpha \end{pmatrix}. \quad (7.1)$$

Die freie Präzession während der Zeit t hängt nur vom Frequenzoffset $\Delta\omega$ ab und lässt sich deshalb als Drehung um die z-Achse mit dem Off-Resonanzwinkel $\beta(t) = \Delta\omega \cdot t$ angeben:

$$P(\beta, t) = R_z(\beta(t)) = \begin{pmatrix} \cos \beta(t) & \sin \beta(t) & 0 \\ -\sin \beta(t) & \cos \beta(t) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}. \quad (7.2)$$

Auch die T_1 - und T_2 -Relaxation während der Zeit t kann in Matrixform ausgedrückt

werden:

$$D(t) = \begin{pmatrix} e^{-t/T_2} & 0 & 0 \\ 0 & e^{-t/T_2} & 0 \\ 0 & 0 & e^{-t/T_1} \end{pmatrix}. \quad (7.3)$$

Die Präzession und Relaxation der Magnetisierung lässt sich somit schreiben als [Har01]:

$$\vec{M}(t) = P(\beta, t) \cdot D(t) \cdot \vec{M}(0) + M_0 \cdot (1 - e^{-t/T_1}) \cdot \vec{e}_z. \quad (7.4)$$

Die Auslenkung der Magnetisierung kann natürlich um jede beliebige Drehachse senkrecht zu \vec{e}_z erfolgen. Dabei wird die Orientierung der Drehachse durch den azimuthalen Winkel φ , der auch als Pulsphase bezeichnet wird, charakterisiert. Allgemein lässt sich der Einfluss eines HF-Pulses mit Pulsphase φ und Anregungswinkel α durch folgende Gleichung beschreiben

$$\vec{M}^+ = R_\varphi(\alpha) \cdot \vec{M}^-, \quad (7.5)$$

wobei mit \vec{M}^- die Magnetisierung vor und mit \vec{M}^+ die Magnetisierung nach dem HF-Puls bezeichnet wird. Somit lässt sich die resultierende Magnetisierung für beliebige NMR-Sequenzen durch entsprechende Anwendung der Gleichungen 7.4 und 7.5 berechnen.

Für eine TrueFISP-Sequenz ergibt sich die Steady-State-Magnetisierung vor (\vec{M}^-) bzw. nach (\vec{M}^+) jedem HF-Puls zu:

$$\begin{aligned} M_x^-(\infty) &= M_0 \cdot (1 - E_1) \cdot \frac{E_2 \cdot \sin \alpha \cdot \sin \beta}{d} \\ M_y^-(\infty) &= M_0 \cdot (1 - E_1) \cdot \frac{E_2 \cdot \sin \alpha \cdot (\cos \beta - E_2)}{d} \\ M_z^-(\infty) &= M_0 \cdot (1 - E_1) \cdot \frac{[(1 - E_2 \cdot \cos \beta) - E_2 \cdot \cos \alpha \cdot (\cos \beta - E_2)]}{d} \end{aligned} \quad (7.6)$$

bzw.

$$\begin{aligned} M_x^+(\infty) &= M_0 \cdot (1 - E_1) \cdot \frac{E_2 \cdot \sin \alpha \cdot \sin \beta}{d} \\ M_y^+(\infty) &= M_0 \cdot (1 - E_1) \cdot \frac{\sin \alpha \cdot (1 - E_2 \cdot \cos \beta)}{d} \\ M_z^+(\infty) &= M_0 \cdot (1 - E_1) \cdot \frac{[E_2 \cdot (E_2 - \cos \beta) + (1 - E_2 \cdot \cos \beta) \cdot \cos \alpha]}{d} \end{aligned} \quad (7.7)$$

mit

$$\begin{aligned} d &= (1 - E_1 \cdot \cos \alpha) \cdot (1 - E_2 \cdot \cos \beta) - E_2 \cdot (E_1 - \cos \alpha) \cdot (E_2 - \cos \beta) \\ E_1 &= e^{-TR/T_1} \\ E_2 &= e^{-TR/T_2}. \end{aligned}$$

Berechnung des Voxelsignals

Die resultierende Transversalmagnetisierung eines Voxels zur Echozeit TE lässt sich durch Integration über die Off-Resonanzverteilung $p(\beta)$ berechnen:

$$S_{Voxel}(TE) = \int_{Voxel} p(\beta) \cdot (M_y^+(\infty) + i \cdot M_x^+(\infty)) \cdot e^{-TE/T_2} \cdot e^{i\beta \cdot TE/TR} \cdot d\beta. \quad (7.8)$$

Mit Hilfe dieser Gleichung kann das Voxelsignal für verschiedene Off-Resonanzverteilungen bestimmt werden. Um genau definierte Frequenzverteilungen auch experimentell erzeugen zu können, wurden die Simulationen an einfachen Modellen durchgeführt. So wurde eine lorentzförmige Off-Resonanzverteilung und Frequenzverteilungen, die durch einen konstanten Gradienten oder durch Luft gefüllte Glaskapillaren erzeugt werden, untersucht. Exemplarisch wird an dieser Stelle die Auswirkung einer Glaskapillare auf die Feldverteilung behandelt. Für die Beschreibung weiterer Off-Resonanzverteilungen sei hier auf die Diplomarbeit von Jens Maier verwiesen [Mai03].

Für eine Glaskapillare mit Radius R , die mit dem \vec{B}_0 -Feld einen Winkel ϑ einschließt, ergibt sich der Off-Resonanzwinkel in Abhängigkeit vom Abstand r und vom Azimutwinkel ψ zu [Kis99]:

$$\beta(\vec{r}, TR) = \gamma \cdot \Delta B(\vec{r}) \cdot TR = 2 \cdot \pi \cdot \gamma \cdot \Delta \chi \cdot B_0 \cdot \left(\frac{R}{r}\right)^2 \cdot \sin^2 \vartheta \cdot \cos 2\psi \cdot TR. \quad (7.9)$$

Gleichung 7.9 lässt erkennen, dass eine senkrecht zum \vec{B}_0 -Feld orientierte Kapillare ($\vartheta = 90^\circ$) die größte Magnetfeldänderung in ihrer Umgebung hervorruft. Aufgrund des Faktors $\cos 2\psi$ weist die Abweichung vom homogenen Magnetfeld eine dipolartige Struktur auf, die vom Kapillarrand an mit wachsendem Abstand r quadratisch abfällt.

Durch Einsetzen von Gleichung 7.9 in Gleichung 7.8 kann das Voxelsignal für eine Glaskapillare je nach gewählter Steady-State-Magnetisierung ($M_y^+(\infty) + i \cdot M_x^+(\infty)$) sowohl für TrueFISP als auch für FLASH berechnet werden. Diese Berechnungen wurden mit

Hilfe der mathematischen Programmiersprache MATHEMATICA (Wolfram Research Inc., Champaign, IL, USA) für Luft gefüllte, senkrecht zum \vec{B}_0 -Feld orientierte Glaskapillaren mit unterschiedlichen Radien durchgeführt. Als Suszeptibilitätsdifferenz $\Delta\chi$ zwischen Luft und umgebenden Wasser wurde ein Wert von $9.35 \cdot 10^{-6}$ [Haa99] angenommen. Bei der Simulation des Voxelsignals wurde sowohl die Voxelgröße und somit die Auflösung als auch die Position der Kapillare im Voxel variiert.

7.4 Ergebnisse

Das simulierte Signalverhalten für TrueFISP und für FLASH in Gegenwart einer Luft gefüllten Kapillare ist in Abbildung 7.1a zu sehen. Im TrueFISP-Bild deutlich zu erkennen sind die drei Bereiche mit charakteristischem Signalverhalten. In großer Entfernung von der Kapillare ist die Abweichung vom \vec{B}_0 -Feld so gering, dass alle Spins eines Voxels nahezu on-resonant sind. Man befindet sich hier also im *Plateau-Regime* und erhält sowohl für TrueFISP als auch für FLASH maximales Signal. Bewegt man sich immer näher an die Kapillare, bewirkt die zunehmende Magnetfeldänderung einen immer größeren Frequenzshift. Bei hoher Ortsauflösung bleibt die Off-Resonanzverteilung allerdings immer noch auf einen schmalen Frequenzbereich beschränkt. Das Signalverhalten wird zunehmend vom *Amplituden-Regime* bestimmt. Obwohl bei FLASH immer noch kein Signalverlust zu erkennen ist, zeigt TrueFISP periodischen Signalverlust von 100% in den Signalminima und 0% in den Signalmaxima. Dabei ist die Lage dieser Extrema nicht von der Auflösung, sondern ausschließlich vom Frequenzshift abhängig. Signalauslöschung tritt immer dann auf, wenn der Frequenzshift eine symmetrische Off-Resonanzverteilung um einen Phasensprung bewirkt. Eine weitere Verringerung des Abstands zur Kapillare führt aufgrund der quadratischen Zunahme von $\Delta B(r)$ zu immer breiteren Off-Resonanzverteilungen in den Voxeln. Man nähert sich dem *Phasen-Regime*, in dem sich sowohl für TrueFISP als auch für FLASH deutliche Signalverluste ergeben.

Die Ergebnisse der Simulation konnten im Experiment für TrueFISP wie auch für FLASH bestätigt werden (siehe Abbildung 7.1b). Im TrueFISP-Bild deutlich zu erkennen ist die von der Simulation vorhergesagte dipolartige Struktur. Sowohl Anzahl als auch Lage der Extrema stimmen mit den Simulationsergebnissen sehr gut überein. Die pfeilförmige Struktur, die sich um die Kapillare ausbildet und sowohl im TrueFISP-Bild als auch im FLASH-Bild zu erkennen ist, resultiert aus einer Überlagerung der lokalen Dipolgradientenfelder mit den Bildgebungsgradienten, die zu geometrischen Verzerrungen [Lüd85] führen.

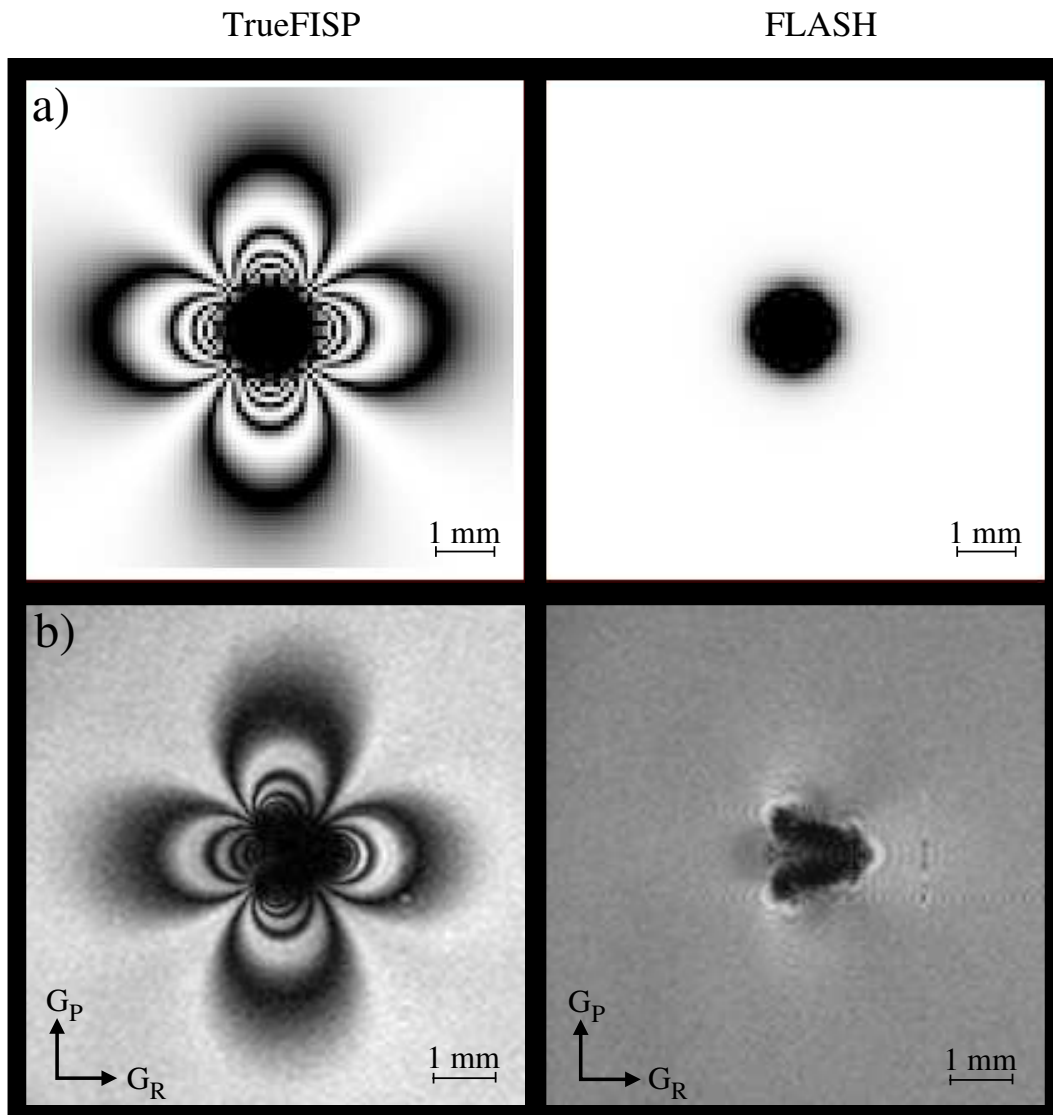


Abbildung 7.1: (a) Simuliertes Signalverhalten für TrueFISP (links) und FLASH (rechts). Als Geometrie-Modell wurde eine Luft gefüllte, senkrecht zum \vec{B}_0 -Feld orientierte Glaskapillare mit einem Durchmesser von $900 \mu\text{m}$ verwendet. (b) Experimentelles Signalverhalten von TrueFISP (links) und FLASH (rechts). Die Richtungen des Lesegradienten G_R und des Phasenkodiergradienten G_P sind durch Pfeile angedeutet. Auflösung: $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$.

7.5 Diskussion

Sowohl theoretisch als auch experimentell konnte gezeigt werden, dass TrueFISP in Gegenwart mesoskopischer Feldinhomogenitäten Signalverluste aufgrund von Intravoxel-Dephasierungseffekten aufzeigt. Hierbei lässt sich das Dephasierungsverhalten von TrueFISP in drei charakteristische Bereiche unterteilen: *Plateau-Regime*, *Amplituden-Regime* und *Phasen-Regime* (siehe Abbildung 7.2). Die Gültigkeit dieser Bereiche hängt sehr

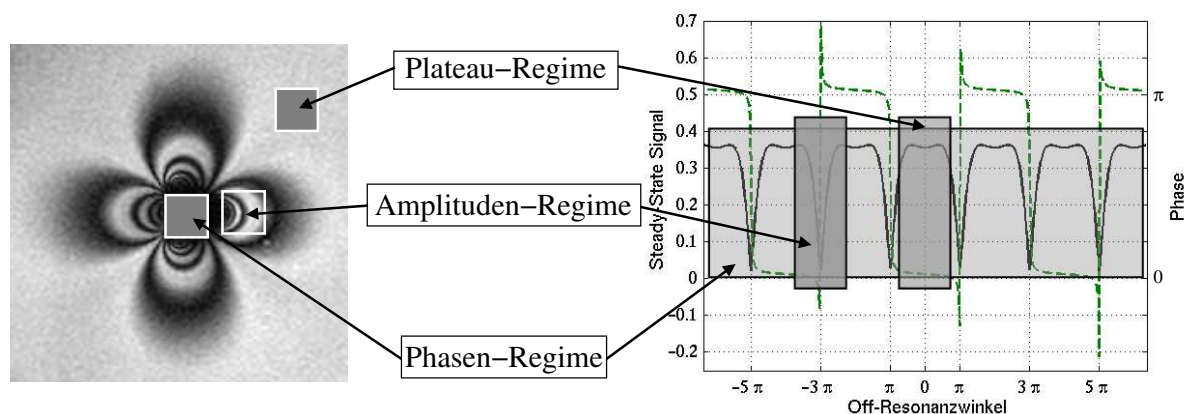


Abbildung 7.2: Darstellung der drei charakteristischen Frequenzverteilungen, die mit dem Plateau-Regime, Amplituden-Regime und Phasen-Regime beschrieben werden können.

stark von der Breite wie auch von der Lage der Off-Resonanzverteilung $p(\beta)$ innerhalb eines Voxels ab. Eine Verallgemeinerung des Signalverhaltens auf beliebige Feldinhomogenitäten ist somit nicht möglich. Da bei Gradientenecho-Sequenzen das Intravoxel-Dephasierungsverhalten nur durch die Breite der Off-Resonanzverteilung und nicht durch die spezielle Lage dieser Verteilung in Bezug zur On-Resonanzfrequenz bestimmt wird, kann die bei TrueFISP beobachtete hohe Sensitivität auf mesoskopische Inhomogenitäten nicht mit dem Parameter T_2^* charakterisiert werden. Dennoch konnte gezeigt werden, dass im Phasen-Regime sowohl TrueFISP als auch FLASH den gleichen Bildkontrast liefern. Da TrueFISP Eigenschaften von Gradientenecho- als auch von Spinecho-Sequenzen miteinander verbindet, lässt sich das Signalverhalten von TrueFISP nur in Abhängigkeit von Lage und Breite der im Voxel vorherrschenden Frequenzverteilung beschreiben.

Plateau-Regime

Für das Plateau-Regime gilt eine Beschränkung der Off-Resonanzverteilung $p(\beta)$ auf das Signalplateau um die On-Resonanzfrequenz ($\Delta\beta(TR) < \pm\pi$). In diesem Regime werden keine signifikanten Signalverluste durch Dephasierungseffekte beobachtet. Aufgrund der refokussierenden Eigenschaften verhält sich TrueFISP im Plateau-Regime wie eine Spinecho-Sequenz. Für ein Gradientenecho-Experiment hingegen ergeben sich beobachtbare Signalverluste aufgrund von Dephasierungseffekten, da sich hier die Signalphase linear über die Breite der Frequenzverteilung ändert und somit im Gegensatz zu TrueFISP kein konstantes Verhalten zeigt.

Amplituden-Regime

Aufgrund des periodischen Signalverhaltens von TrueFISP (siehe Abbildung 7.2) kann eine schmale Frequenzverteilung zu einer vollständigen Signalauslöschung führen, wenn diese symmetrisch um einen Phasensprung angeordnet ist. In diesem Regime wird das Signalverhalten von TrueFISP im Wesentlichen durch die Lage der Off-Resonanzverteilung bestimmt. So kann sich für eine schmale Frequenzverteilung - je nach Lage zur On-Resonanzfrequenz - ein Signalverlust von 0% bzw. von 100% ergeben. Für ein Gradientenecho-Experiment ist nur eine geringfügige Signalabnahme zu beobachten, da hier der Signalverlust unabhängig von der Lage der Off-Resonanzverteilung ist und einzig durch die Breite von $p(\beta)$ bestimmt wird. Somit zeigt TrueFISP im Vergleich zu Gradientenecho-Experimenten eine gesteigerte Sensitivität auf geringste Magnetfeldabweichungen.

Da sich das periodische Signalverhalten von TrueFISP durch Variation der HF-Pulsphase um einen bestimmten Off-Resonanzwinkel verschieben lässt, kann der Bildkontrast im Amplituden-Regime beliebig modifiziert werden. In diesem Regime ist man also in der Lage, zwischen 0% oder 100% Signalverlust zu wählen. Dies ist in Abbildung 7.3 verdeutlicht. Die unterschiedlichen Pulsphasenzyklen im TrueFISP-Experiment führen zu einer Verschiebung der dipolartigen Struktur, da das periodische Signalverhalten von Bild zu Bild um einen Off-Resonanzwinkel $\beta = \frac{\pi}{2}$ verschoben wurde. Durch Kombination dieser Bilddaten lässt sich ein Bild rekonstruieren, das keinen Signalverlust aufgrund des Amplituden-Regimes aufzeigt [Haa90][Vas99][Vas00].

Phasen-Regime

Für eine breite Off-Resonanzverteilung spielt die Lage von $p(\beta)$ keine entscheidende Rolle mehr. Aufgrund der alternierenden Signalphase kommt es zur gegenseitigen Auslöschung benachbarter Signalplateaus, so dass maximal ein Plateau zum Voxelsignal beitragen kann. Dies führt zu einem drastischen Signalverlust bis hin zur kompletten Auslöschung des Voxelsignals. In diesem Regime zeigt TrueFISP die gleiche Sensitivität auf Magnetfeldinhomogenitäten wie ein Gradientenecho-Experiment.

Theoretisch und experimentell konnte gezeigt werden, dass TrueFISP sowohl Eigenschaften einer Gradientenecho-Sequenz als auch einer Spinecho-Sequenz miteinander vereinigt, denn TrueFISP zeigt die für eine Spinecho-Sequenz typische Eigenschaft der Refokussierung als auch die für Gradientenecho-Sequenzen charakteristische Eigenschaft der Intravoxel-Dephasierung.

Die Untersuchungen der TrueFISP-Sequenzeigenschaften von Scheffler et al. [Sch03]

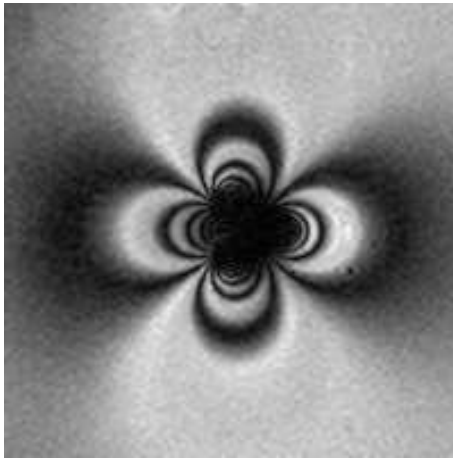
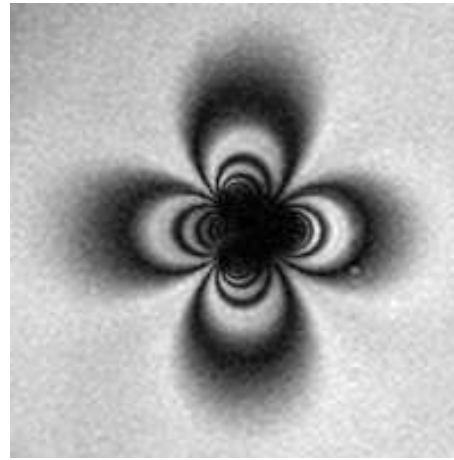
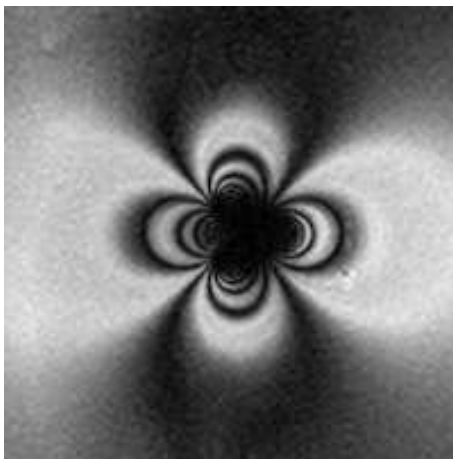
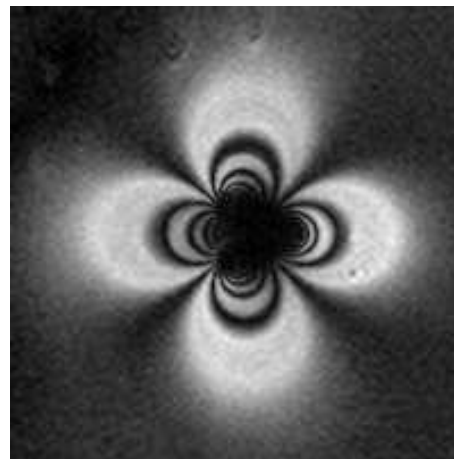
(a) $\varphi = 0-270-180-90$, $\Delta\beta = -\pi/2$ (b) $\varphi = 0-180$, $\Delta\beta = 0$ (c) $\varphi = 0-90-180-270$, $\Delta\beta = \pi/2$ (d) $\varphi = 0-0$, $\Delta\beta = \pi$

Abbildung 7.3: Experimentell bestimmtes Signalverhalten von TrueFISP in Gegenwart einer Luft gefüllten Glaskapillare. Durch Verwendung bestimmter Pulsphasenzyklen lässt sich das Signalverhalten und somit das Kontrastverhalten von TrueFISP modifizieren. Bei den hier verwendeten Pulsphasen φ wurde das periodische Signalverhalten von TrueFISP jeweils um einen Off-Resonanzwinkel $\Delta\beta = \frac{\pi}{2}$ verschoben.

beschränkten sich auf $\Delta\beta(TR) < \pm\pi$ und ergaben aufgrund der beobachteten Refokussierungseigenschaft, dass die Entstehung eines Echos in einem TrueFISP-Experiment vielmehr dem eines Spinecho-Experimentes gleicht. Da diese Untersuchungen sich auf das Plateau-Regime begrenzen, können die Aussagen von Scheffler et al. bestätigt werden. Allerdings ist die von Scheffler vorgestellte Beschreibung für eine umfassende Charakterisierung der Sequenzeigenschaften von TrueFISP unzureichend. Sobald lo-

kale Inhomogenitäten zu Frequenzverteilungen innerhalb eines Voxels führen, die nicht mehr auf ein Signalplateau beschränkt sind, zeigt TrueFISP Signalverluste aufgrund von Intravoxel-Dephasierungseffekten und somit Eigenschaften einer Gradientenecho-Sequenz.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass TrueFISP hinsichtlich des Sequenzverhaltens als Hybrid zwischen Gradientenecho und Spinecho anzusehen ist. Je nach Breite und Lage der Frequenzverteilung dominieren entweder die Eigenschaften einer Spinecho-Sequenz im Plateau-Regime oder die Eigenschaften einer Gradientenecho-Sequenz im Phasen-Regime. Im dazwischenliegenden Amplituden-Regime zeigt TrueFISP im Vergleich zu einer Gradientenecho-Sequenz eine wesentlich höhere Sensitivität auf Feldinhomogenitäten. Durch Anwendung spezieller HF-Phasenzyklen lässt sich das Intensitätsprofil von TrueFISP in Abhängigkeit von der Off-Resonanz verschieben, und so ist es im Amplituden-Regime möglich, zwischen maximalen und minimalen Signalverlust - je nach Phasenzyklus - zu wählen.

7.6 Ausblick

Aufgrund der Sequenzeigenschaften von TrueFISP könnte der Einsatz dieser Sequenz auf dem Gebiet der *Molekularen Bildgebung* einen entscheidenden Fortschritt bringen. Zum einen erlaubt TrueFISP aufgrund der SNR-Effizienz eine hohe Ortsauflösung, zum anderen besitzt TrueFISP eine hohe Sensitivität auf kleine Magnetfeldinhomogenitäten.

Superparamagnetische Eisenoxid-Kontrastmittel (SPIO) erzeugen schon in kleinen Konzentrationen aufgrund ihrer sehr großen magnetischen Suszeptibilität messbare Feldinhomogenitäten. Foster-Gareau et al. [Fos03] konnte zeigen, dass in Gelatine eingebettete und mit SPIO versehene Zellen mit Hilfe von TrueFISP lokalisiert werden können. Bei einer entsprechend hohen Ortsauflösung wäre es denkbar, einzelne markierte Zellen mit TrueFISP nachzuweisen, denn durch entsprechendes Sequenzdesign könnte die Sensitivität von TrueFISP genau auf die von den superparamagnetischen Partikeln hervorgerufene Feldinhomogenität angepasst werden. Somit wäre es beispielsweise möglich, biologische Prozesse auf zellulärer Ebene sichtbar zu machen. Da krankhaft veränderte Zellen eine veränderte Stoffwechsel- und Genaktivität aufzeigen, könnte die *Molekulare Bildgebung* bei der Diagnose von Krebserkrankungen und bei der Kontrolle von Gentherapien wichtige Informationen liefern. Ein weiteres mögliches Einsatzgebiet wäre die Beobachtung der Zellmigration bei einer Stammzelltherapie.

Zusammenfassung

Mit dem diesjährigen Nobelpreis für Medizin wurden Paul Lauterbur und Peter Mansfield für ihre Pionierarbeit auf dem Gebiet der Magnetresonanztomographie (MRT) ausgezeichnet. Heute gehört die MRT, die ohne ionisierende Strahlung Einblicke in den menschlichen Körper ermöglicht, zu den wichtigsten Diagnoseverfahren in der Medizin. Hierbei stellt die Bildgebung am schlagenden Herzen trotz technischer und methodischer Fortschritte immer noch eine große Herausforderung dar.

Ziel dieser Promotionsarbeit war es, neue Verfahren zu entwickeln, die eine umfassende Charakterisierung des Herzens ermöglichen. Im Vordergrund stand die Untersuchung des Gefäßstatus wie auch der Funktion und Morphologie am isolierten Rattenherzmuskel.

Zunächst wurde eine 3D-TOF-Bildgebungstechnik implementiert, die es ermöglichte, die dreidimensionale Gefäßanatomie hochaufgelöst abzubilden und Engstellen in den Koronargefäßen eindeutig zu lokalisieren. Darauf aufbauend konnte das Flussverhalten in intakten wie auch stenotischen Herzkranzgefäßen mit Hilfe einer Phasenkontrast-Cine-Sequenz zeitaufgelöst analysiert werden. Der Koronarfluss zeigte ein parabolisches Verhalten und die zu erwartende gegenphasige Korrelation mit dem zeitlichen Verlauf des linksventrikulären Drucks. Im stenotischen Gefäß konnte ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Gefäßverengung und Anstieg der Flussgeschwindigkeit nachgewiesen werden. Somit wurde erstmals gezeigt, dass mit Hilfe von Flussmessungen der Stenosegrad quantifiziert werden kann. Die Übertragung der Angiographie und Flussmessung auf das Tier *in vivo* bleibt allerdings eine große Herausforderung. Zum einen muss für die Genauigkeit der Messungen eine hohe räumliche Auflösung erzielt werden. Zum anderen müssen die Probleme, die aus der Atembewegung und der Bewegung des Blutes in den Ventrikeln resultieren, gelöst werden.

Mittels hochaufgelöster T_2^* -Bildgebung ist im Rahmen dieser Arbeit ein neuer Ansatz zur Darstellung biologischer Mikrostrukturen entstanden. Aufgrund einer heterogenen Suszeptibilitätsverteilung in biologischen Systemen entstehen lokale Magnetfeldinhomogenitäten, die zu einer erhöhten Dephasierung der Transversalmagnetisierung und folglich zu einer Verkürzung der T_2^* -Relaxationszeit führen. Somit liefert die T_2^* -Bildgebung ein direktes Abbild dieser biologischen Mikrostrukturen.

Für die Untersuchung der Morphologie des Herzmuskels wurde zunächst die T_2^* -Bildgebung am Hochfeldsystem (11.75 T) etabliert. Die charakteristische Winkelorientierung der Herzmuskelfasern konnte mittels hochaufgelöster T_2^* -Bildgebung eindeutig nachgewiesen werden. Der T_2^* -Bildkontrast basiert auf statischen Dephasierungsprozessen, wohingegen dynamische Effekte keinen signifikanten Einfluss auf die T_2^* -Relaxationszeit zeigten. Im Vergleich mit Rasterelektronenmikroskopie-Experimenten von LeGrice et al. [LeG95] an perfusions-fixierten Herzen konnten mit der T_2^* -Bildgebung übereinstimmende Ergebnisse hinsichtlich der myokardialen Mikrostruktur gewonnen werden. Im direkten Vergleich mit konventioneller Histologie zeigte sich eine eindeutige Entsprechung des Faserverlaufs zwischen histologischem Schnittbild und T_2^* -Parameterkarte. Die Abhängigkeit zwischen Ortsauflösung und Darstellbarkeit der Faserstrukturen wurde in einer Messreihe demonstriert. Im chronisch infarzierten Herzen konnte mit einer Auflösung von $78 \mu\text{m} \times 78 \mu\text{m}$ in der Bildebene und einer Schichtdicke von 1 mm die Infarktgröße quantifiziert werden. Die MRT liefert also in relativ kurzer Messzeit (≈ 3 min) nahezu die gleichen Informationen über die Herzmorphologie wie die konventionelle Histologie.

Zur Charakterisierung biologischer Mikrostrukturen steht der MRT neben der Bestimmung von Relaxationszeiten auch die Diffusion zur Verfügung. Die Tatsache, dass sich Wassermoleküle entlang von Muskel- oder Nervenfasern fast ungehindert bewegen können, während die Bewegung senkrecht zu den Fasern eingeschränkt ist, führt zu einer Anisotropie der Diffusion. Hierbei spiegelt die Hauptdiffusionsrichtung die Orientierung der Fasern wieder.

Die Bestimmung von Diffusionseffekten mittels NMR stellt eine extreme methodische Herausforderung dar. Insbesondere bei der Anwendung am Herzen könnte die makroskopische Herzbewegung mikroskopische Diffusionseffekte verfälschen. Um diese mögliche Fehlerquelle auszuschalten, wurden die Diffusionsexperimente an einem nicht schlagenden Herzen durchgeführt. Mittels diffusionsgewichteter Bildgebungsexperimente konnte die Anisotropie der Diffusion im Herzmuskel eindeutig nachgewiesen werden. Im Vergleich mit der T_2^* -Bildgebung zeigte sich eine Übereinstimmung auf makroskopischer und mikroskopischer Ebene hinsichtlich der myokardialen Mikrostruktur. Für eine vollständige Beschreibung der Diffusion ist allerdings die Akquisition eines Diffusionstensors notwendig. Hierfür musste zunächst eine schnellere Bildgebungssequenz etabliert werden, um die Gesamtmesszeit zu reduzieren, so dass der Tensor innerhalb der Stabilitätsphase des isolierten Herzens aufgenommen werden konnte. Zur Auswertung des Tensors wurde eine farbkodierte Spur konstruiert, die sowohl anisotrope Bereiche mit deutlicher Verlaufsrichtung der Fasern wie auch isotrope Bereiche aufzeigte. Somit konnte auch mit der Diffusionstensor-Bildgebung der Aufbau des Herzmuskels aus diskreten Muskelschichten und dem dazwischenliegenden mikrovaskulären System nachgewiesen werden. Im Vergleich mit der T_2^* -Bildgebung zeigten sich übereinstim-

mende Ergebnisse hinsichtlich der myokardialen Faserstrukturen.

Eine Erhöhung der Ortsauflösung bewirkt eine Verbesserung der Darstellung myokardialer Muskelfaserstrukturen. Bei vorgegebener Messzeit begrenzt allerdings das SNR die erreichbare Ortsauflösung. Daher wäre der Einsatz von NMR-Techniken mit einer hohen SNR-Effizienz in der Mikroskopie wünschenswert. Deshalb wurde im Rahmen dieser Arbeit die Anwendbarkeit von SSFP-Sequenzen an Hochfeldsystemen getestet. Auf dem Gebiet typischer Mikroskopie-Anwendungen konnte durch den Einsatz von SSFP-Sequenzen ein SNR-Gewinn gegenüber konventionellen Gradientenecho- und Spinecho-Experimenten erzielt werden. Am Beispiel des isolierten Herzens wurde gezeigt, dass in einer wesentlich kürzeren Messzeit (51 s) verglichen mit der T_2^* -Bildgebung (14 min) ein ähnlicher Bildkontrast hinsichtlich myokardialer Faserstrukturen erreicht werden kann. Mit dieser schnellen und SNR-effizienten Bildgebungstechnik war es möglich, höchst aufgelöste Bilder ($39 \mu\text{m} \times 39 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$) vom isolierten Herzmuskel aufzunehmen, in denen kleinste Gefäße lokalisiert werden konnten. Somit konnte durch erfolgreiche Implementierung der SSFP-Sequenz an einem Hochfeldsystem eine weitere, weitaus effizientere Methode etabliert werden, die im Vergleich mit konventioneller Histologie im Wesentlichen ähnliche Informationen über die Morphologie des Herzmuskels liefert.

Alle SSFP-Anwendungen zeigten einen hohen T_2^* -Bildkontrast, für den es bisher in der Literatur keine Beschreibung gibt. Zur Erklärung dieser Beobachtung wurde das Signalverhalten der SSFP-Sequenz näher untersucht. Hierfür wurden die Quellen typischer magnetischer Feldinhomogenitäten durch geometrische Modelle angenähert und die Auswirkungen auf das Voxelsignal mathematisch simuliert und am Phantom experimentell überprüft. Es zeigte sich, dass das Signalverhalten einer SSFP-Sequenz in drei charakteristische Bereiche unterteilt werden kann, die mit dem *Plateau-Regime*, *Amplituden-Regime* und *Phasen-Regime* beschrieben werden können. Somit gelang eine umfassende Charakterisierung der SSFP-Sequenzeigenschaften und des Kontrastverhaltens.

Aufgrund der Eigenschaften der SSFP-Sequenz könnte der Einsatz dieser Bildgebungstechnik in der Mikroskopieanwendung, gerade im Hinblick auf *Molekulare Bildgebung*, einen entscheidenden Fortschritt bringen. Zum einen erlaubt SSFP-Bildgebung aufgrund der SNR-Effizienz eine hohe Ortsauflösung und zum anderen besitzt diese Sequenz eine hohe Sensitivität auf kleine Magnetfeldinhomogenitäten. So wäre es denkbar, einzelne mit superparamagnetischem Kontrastmittel markierte Zellen mit dieser Technik nachweisen zu können.

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass mit der vorliegenden Arbeit Methoden etabliert werden konnten, die eine umfassende Charakterisierung des Herzmuskels ermöglichen. Erstmals konnte aufgezeigt werden, dass mit der T_2^* - und SSFP-Bildgebung Muskelfaserstrukturen dargestellt werden können. Im Vergleich mit der Diffusionstensor-

Bildgebung bietet der Einsatz von T_2^* - oder SSFP-Sequenzen neben der wesentlich kürzeren Messzeit auch den Vorteil, dass diese Techniken am schlagenden Herzen einsetzbar sind. Bei der Übertragung dieser Techniken auf das Tier *in vivo* ergeben sich auch hier zahlreiche Probleme. Dennoch konnte am Herzen der Maus die T_2^* -Bildgebung in einem *in vivo* Experiment erfolgreich demonstriert werden. Allerdings zeigten die T_2^* -Parameterkarten keinen eindeutigen Faserverlauf auf, was daran liegt, dass aufgrund der unterschiedlichen Größenverhältnisse zwischen Ratten- und Mäuseherz die erzielte Ortsauflösung für die Anwendung am Tiermodell der Maus nicht ausreichend war. Somit bleibt die Übertragung der entwickelten Methodik auf das Tier *in vivo* weiterhin eine Herausforderung, die wesentlich von der Stabilität und Leistung der Gradientenhardware abhängt.

Literaturverzeichnis

- [Bal02] Baltés Ch, Kozerke S, Boesiger P. Coronary flow quantification by Fourier velocity encoded MRI. *Biomed Tech* 2002;**47**:412-415
- [Bar01] Barkhausen J, Quick HH, Lauenstein T, Goyen M, Ruehm SG, Laub G, Debatin JF, Ladd ME. Whole-body MR imaging in 30 seconds with real-time true FISP and a continuously rolling table platform: feasibility study. *Radiology* 2001;**220**(1):252-256
- [Bar02] Bartha R, Michaeli S, Merkle H, Adriany G, Andersen P, Chen W, Ugurbil K, Garwood M. In vivo $^1\text{H}_2\text{O}$ T_2' measurement in the human occipital lobe at 4T and 7T by Carr-Purcell MRI: detection of microscopic susceptibility contrast. *Magnetic Resonance in Medicine* 2002;**47**(4):742-750
- [Bas94a] Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D. Estimation of the effective self-diffusion tensor from the NMR spin echo. *Journal of Magnetic Resonance, Series B*, 1994;**103**(3):247-254
- [Bas94b] Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical Journal* 1994;**66**(1):259-267
- [Bell91] Belliveau JW, Kennedy DN, McKinstry RC, Buchbinder BR, Weisskoff RM, Cohen MS, Vevea JM, Brady TJ, Rosen BR. Functional mapping of the human visual cortex by magnetic resonance imaging. *Science* 1991;**254**(5032):716-719
- [Ber91] Bergin JC, Glover GH, Pauly JM. Lung parenchyma: magnetic susceptibility in MR imaging. *Radiology* 1991;**180**(3):845-848
- [Blo46] Bloch F, Hansen WW, Packard M. Nuclear Induction. *Physical Review* 1946;**69**:127
- [Blo01] Bloomer TN, Plein S, Radjenovic A, Higgins DM, Jones TR, Ridgway JP, Sivananthan MU. Cine MRI using steady state free precession in the radial long axis orientation is a fast accurate method for obtaining volumetric data

- of the left ventricle. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 2001;**14**(6):685-692
- [Bro61] Brown RJS. Distribution of fields from randomly placed dipoles: free precession signal decay as result of magnetic grains. *Physical Review* 1961;**121**:1379-1383
- [Buo92] Buonocore MH, Bogren H. Factors influencing the accuracy and precision of velocity- encoded phase imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* 1992;**26**(1):141-154
- [Car54] Carr HY, Purcell EM. Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments. *Physical Review* 1954;**94**:630-638
- [Car58] Carr HY. Steady-state free precession in nuclear magnetic resonance. *Physical Review* 1958;**112**:1693-1701
- [Car01] Carr JC, Simonetti O, Bundy J, Li D, Pereles S, Finn JP. Cine MR angiography of the heart with segmented true fast imaging with steady-state precession. *Radiology* 2001;**219**(3):828-834
- [Che02] Chen J, Song S, Liu W, Mclean M, Allen S, Wickline SA, Yu X. Characterization of Myofiber Architecture in Post-Infarct Remodeling Myocardium Using Diffusion Tensor MRI. *Proceedings of the 10th ISMRM Scientific Meeting* 2002;No. 507
- [Che01] Cheng YC, Haacke EM, Yu YJ. An exact form for the magnetic field density of states for a dipole. *Magnetic Resonance Imaging* 2001;**19**(7):1017-1023
- [Dam71] Damadian R. Tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Science* 1971;**171**(976):1151-1153
- [Dei94] Deimling M, Heid O. Magnetization prepared true FISP imaging. In: Proceedings of the 2nd Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance, San Francisco, 1994;495
- [Des01] Deshpande VS, Shea SM, Laub G, Simonetti OP, Finn JP, Li D. 3D magnetization-prepared true-FISP: a new technique for imaging coronary arteries. *Magnetic Resonance in Medicine* 2001;**46**(3):494-502
- [Dix84] Dixon WT. Simple proton spectroscopic imaging. *Radiology* 1984;**153**(1):189-194

- [Dur98] Duerk JL, Lewin JS, Wendt M, Petersilge C. Remember true FISP? A high SNR, near 1-second imaging method for T2-like contrast in interventional MRI at .2 T. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 1998;**8**(1):203-208
- [Fir99] Firbank MJ, Coulthard A, Harrison RM, Williams ED. A comparison of two methods for measuring the signal to noise ratio on MR images. *Physics in Medicine and Biology* 1999;**44**(12):261-264
- [Fir90] Firmin DN, Nayler GL, Kilner PJ, Longmore DB. The application of phase shifts in NMR for flow measurement. *Magnetic Resonance in Medicine* 1990;**14**(2):230-241
- [Foo02] Foo TK, Ho VB, Marcos HB, Hood MN, Choyke PL. MR angiography using steady-state free precession. *Magnetic Resonance in Medicine* 2002;**48**(4):699-706
- [Fos03] Foster-Gareau P, Heyn C, Alejski A, Rutt BK. Imaging single mammalian cells with a 1.5 T clinical MRI scanner. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**49**(5):968-971
- [Gar94] Garrido L, Wedeen VJ, Kwong KK, Spencer UM, Kantor HL. Anisotropy of water diffusion in the myocardium of the rat. *Circulation Research* 1994;**74**:789-793
- [Gee02] Geerts L, Bovendeerd P, Nicolay K, Arts T. Characterization of the normal cardiac myofiber field in goat measured with MR-diffusion tensor imaging. *American Journal of Physiology Heart Circ Physiol* 2002;**283**(1):H139-H145
- [Glo96] Glover GH, Bergin CJ, Pauly JM. Application of Magnetic Resonance Imaging Techniques to Human Lung. In: Cutillo AG, Hrsg., *Application of Magnetic Resonance to the Study of Lung* 1996;177-204
- [Gre03] Greiser A. Dichte-gewichtete Phasenkodierung zur effizienten k-Raumabtastung in der NMR-Bildgebung. *Dissertation*, Physikalisches Institut der Universität Würzburg 2003
- [Haa86] Haase A, Frahm J, Matthaei D, Hänicke W, Merbolt KD. FLASH imaging: Rapid NMR imaging using low tip angle pulses. *Journal of Magnetic Resonance* 1986;**67**:258-266
- [Haa90] Haacke EM, Wielopolski PA, Tkach JA, Modic MT. Steady-state free precession imaging in the presence of motion: application for improved visualization of the cerebrospinal fluid. *Radiology* 1990;**175**(2):545-552

- [Haa99] Haacke EM, Brown RW, Thompson MR, Venkatesan R. Magnetic Resonance Imaging. New York: Wiley-Liss 1999;480
- [Hah50] Hahn EL. Spin echoes. *Physical Review* 1950;**80**:580-594
- [Ham94] Hamilton CA. Correction of partial volume inaccuracies in quantitative phase contrast MR angiography. *Magnetic Resonance Imaging* 1994;**12**(7):1127-1130
- [Har01] Hargreaves BA, Vasanawala SS, Pauly JM, Nishimura DG. Characterization and reduction of the transient response in steady-state MR imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* 2001;**46**(1):149-158
- [Har03a] Hargreaves BA, Vasanawala SS, Nayak KS, Hu BS, Nishimura DG. Fat-suppressed steady-state free precession imaging using phase detection. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**50**(1):210-213
- [Har03b] Hargreaves BA, Gold GE, Beaulieu CF, Vasanawala SS, Nishimura DG, Pauly JM. Comparison of new sequences for high-resolution cartilage imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**49**(4):700-709
- [Hen03] Hennig J, Speck O, Scheffler K. Optimization of signal behavior in the transition to driven equilibrium in steady-state free precession sequences. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**48**(5):801-809
- [Hun00] Hundley WG, Hillis LD, Hamilton CA, Applegate RJ, Herrington DM, Clarke GD, Braden GA, Thomas MS, Lange RA, Peshock RM, Link KM. Assessment of coronary arterial restenosis with phase-contrast magnetic resonance imaging measurements of coronary flow reserve. *Circulation* 2000;**101**(20):2375-2381
- [Hol00] Holmes AA, Scollan DF, Winslow RL. Direct histological validation of diffusion tensor MRI in formaldehyde-fixed myocardium. *Magnetic Resonance in Medicine* 2000;**44**(1):157-161
- [Hoo99] Hoogeveen RM, Bakker CJ, Viergever MA. MR phase-contrast flow measurement with limited spatial resolution in small vessels: value of model-based image analysis. *Magnetic Resonance in Medicine* 1999;**41**(3):520-528
- [Hsu95] Hsu E, Mori S. Analytical expressions for the NMR apparent diffusion coefficients in an anisotropic system and a simplified method for determining fiber orientation. *Magnetic Resonance in Medicine* 1995;**34**(2):194-200

- [Hsu98] Hsu EW, Muzikant AL, Matulevicius SA, Penland RC, Henriquez CS. Magnetic resonance myocardial fiber-orientation mapping with direct histological correlation. *American Journal of Physiology Heart Circ Physiol* 1998;**274**:H1627-H1634
- [Hsu01] Hsu EW, Buckley DL, Bui JD, Blackband SJ, Forder JR. Two-component diffusion tensor MRI of isolated perfused hearts. *Magnetic Resonance in Medicine* 2001;**45**(6):1039-1045
- [Ing97] Inglis BA, Yang L, Wirth ED 3rd, Plant D, Mareci TH. Diffusion anisotropy in excised normal rat spinal cord measured by NMR microscopy. *Magnetic Resonance Imaging* 1997;**15**(4):441-450
- [Jon99] Jones DK, Horsfield MA, Simmons A. Optimal strategies for measuring diffusion in anisotropic systems by magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* 1999;**42**(3):515-525
- [Kee02] Keegan J, Gatehouse P, Yang GZ, Firmin D. Coronary artery motion with the respiratory cycle during breath-holding and free-breathing: implications for slice-followed coronary artery imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* 2002;**47**(3):476-481
- [Ken94] Kennan RP, Zhong J, Gore JC. Intravascular susceptibility contrast mechanisms in tissues. *Magnetic Resonance in Medicine* 1994;**31**(1):9-21
- [Kis99] Kiselev VG, Posse S. Analytical model of susceptibility-induced MR signal dephasing: effect of diffusion in a microvascular network. *Magnetic Resonance in Medicine* 1999;**41**(3):499-509
- [Kre32] Krebs HA, Henseleit K. Untersuchung über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie* 1932;**210**:33-66
- [Köh03a] Köhler S, Hiller KH, Waller C, Jakob PM, Bauer WR, Haase A. Visualization of myocardial microstructure using high-resolution T_2^* imaging at high magnetic field. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**49**(2):371-375
- [Köh03b] Köhler S, Hiller KH, Griswold M, Bauer WR, Haase A, Jakob PM. NMR-microscopy with TrueFISP at 11.75T. *Journal of Magnetic Resonance* 2003;**161**(2):252-257
- [Köh03c] Köhler S, Hiller KH, Jakob PM, Bauer WR, Haase A. Time-Resolved Flow Measurement in the Isolated Rat Heart: Characterization of Left Coronary Artery Stenosis. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**50**(3):449-452

- [Köh03d] Köhler S, Hiller KH, Waller C, Bauer WR, Haase A, Jakob PM. Investigation of the Microstructure of the Isolated Rat Heart: A Comparison Between T_2^* - and Diffusion-Weighted MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**50**(6):1144-1150
- [Lan95] Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Arch. für die ges. Physiol.* 1895;**61**:291-332
- [Lau73] Lauterbur PC. Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance. *Nature* 1973;**242**:190-191
- [Lau90] Laub G. Displays for MR angiography. *Magnetic Resonance in Medicine* 1990;**14**(2):222-229
- [LeB86] LeBihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, Laval-Jeantet M. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology* 1986;**161**(2):401-407
- [LeG95] LeGrice IJ, Smaill BH, Chai LZ, Edgar SG, Gavin JB, Hunter PJ. Laminar structure of the heart: ventricular myocyte arrangement and connective tissue architecture in the dog. *American Journal of Physiology Heart Circ Physiol* 1995;**269**:H571-H582
- [Lüd85] Lüdeke KM, Röschmann P, Tischler R. Susceptibility artefacts in NMR imaging. *Magnetic Resonance Imaging* 1985;**3**(4):329-343
- [Mai03] Maier J. Untersuchung der Sensitivität von SSFP-Sequenzen auf Magnetfeldinhomogenitäten. *Diplomarbeit*, Physikalisches Institut der Universität Würzburg 2003
- [Maj88] Majumdar S, Gore JC. Studies of Diffusion in Random Fields Produced by Variations in Susceptibility. *Journal of Magnetic Resonance* 1988;**78**:41-45
- [Maj91] Majumdar S, Thomasson D, Shimakawa A, Genant HK. Quantitation of the susceptibility difference between trabecular bone and bone marrow: experimental studies. *Magnetic Resonance in Medicine* 1991;**22**(1):111-127
- [Man73] Mansfield P, Grannell PK. NMR 'diffraction' in solids? *Journal of Physics C* 1973;**6**:L422-L426
- [Man77] Mansfield P. Multiplanar image formation using NMR spin echoes. *Journal of Physics C* 1977;**10**:L55-L58

- [Mat94] Mattiello J, Basser PJ, LeBihan D. Analytical expression for the b matrix in NMR diffusion imaging and spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance, Series A*, 1994;**108**:131-141
- [Mei58] Meiboom S, Gill D. Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times. *Review of Scientific Instruments* 1958;**29**:688-691
- [Mic02] Michaeli S, Garwood M, Zhu XH, DelaBarre L, Andersen P, Adriany G, Merkle H, Ugurbil K, Chen W. Proton T2 relaxation study of water, N-acetylaspartate, and creatine in human brain using Hahn and Carr-Purcell spin echoes at 4T and 7T. *Magnetic Resonance in Medicine* 2002;**47**(4):629-633
- [Nah03] Nahrendorf M, Hiller KH, Greiser A, Köhler S, Neuberger T, Hu K, Waller C, Albrecht M, Neubauer S, Haase A, Ertl G, Bauer WR. Chronic coronary artery stenosis induces impaired function of remote myocardium: MRI and spectroscopy study in rat. *American Journal of Physiology Heart Circ Physiol* 2003;**285**(6):H2712-H2721
- [Oga90] Ogawa S, Lee T, Nayak AS, Glynn P. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high fields. *Magnetic Resonance in Medicine* 1990;**14**(1):68-78
- [Ons31a] Onsager L. Reciprocal relations in irreversible processes. Part I. *Physical Review* 1931;**37**:405
- [Ons31b] Onsager L. Reciprocal relations in irreversible processes. Part II. *Physical Review* 1931;**38**:2265
- [Opp86] Oppelt A, Graumann R, Barfuss H, Fischer H, Hartl W, Shajor W. FISP-a new fast MRI sequence. *Electromedica* 1986;**54**:15-18
- [Pel92] Pelc LR, Pelc NJ, Rayhill SC, Castro LJ, Glover GH, Herfkens RJ, Miller DC, Jeffrey RB. Arterial and venous blood flow: noninvasive quantitation with MR imaging. *Radiology* 1992;**185**(3):809-812
- [Pfe79] Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circulation Research* 1979;**44**(4):503-512
- [Pop93] Pope JM, Yao S. Quantitative NMR Imaging of Flow. *Concepts in Magnetic Resonance* 1993;**5**:281-302
- [Pur46] Purcell EM, Torrey HC, Pound RV. Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid. *Physical Review* 1946;**69**:37-38

- [Ree95] Reese TG, Weisskoff RM, Smith RN, Rosen BR, Dinsmore RE, Wedeen VJ. Imaging myocardial fiber architecture in vivo with magnetic resonance. *Magnetic Resonance in Medicine* 1995;**34**(6):786-791
- [Ruf00] Ruff J, Wiesmann F, Lanz T, Haase A. Magnetic resonance imaging of coronary arteries and heart valves in a living mouse: techniques and preliminary results. *Journal of Magnetic Resonance* 2000;**146**(2):290-296
- [Sch99] Scheffler K. A pictorial description of steady-states in rapid magnetic resonance imaging. *Concepts in Magnetic Resonance* 1999;**11**(5):291-304
- [Sch01a] Scheffler K, Hennig J. T_1 quantification with inversion recovery TrueFISP. *Magnetic Resonance in Medicine* 2001;**45**(4):720-723
- [Sch01b] Scheffler K, Heid O, Hennig J. Magnetization preparation during the steady state: fat-saturated 3D TrueFISP. *Magnetic Resonance in Medicine* 2001;**45**(6):1075-1080
- [Sch01c] Scheffler K, Seifritz E, Bilecen D, Venkatesan R, Hennig J, Deimling M, Haacke EM. Detection of BOLD changes by means of a frequency-sensitive trueFISP technique: preliminary results. *NMR in Biomedicine* 2001;**14**(7-8):490-496
- [Sch03] Scheffler K, Hennig J. Is TrueFISP a gradient-echo or a spin-echo sequence? *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**49**(2):395-397
- [Sco98] Scollan DF, Holmes A, Winslow R, Forder J. Histological validation of myocardial microstructure obtained from diffusion tensor magnetic resonance imaging. *American Journal of Physiology Heart Circ Physiol* 1998;**275**:H2308-H2318
- [Smo92] Smollich A, Michel G. Mikroskopische Anatomie der Haustiere. Jena/Stuttgart 1992
- [Sob96] Sobol WT, Gauntt DM. On the stationary states in gradient echo imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 1996;**6**(2):384-398
- [Spe02] Speck O, Scheffler K, Hennig J. Fast ^{31}P chemical shift imaging using SSFP methods. *Magnetic Resonance in Medicine* 2002;**48**(4):633-639
- [Ste65a] Stejskal EO, Tanner JE. Spin diffusion measurements: Spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *Journal of Chemical Physics* 1965;**42**:288-292

- [Ste65b] Stejskal EO. Use of spin echoes in a pulsed magnetic-field gradient to study anisotropic, restricted diffusion and flow. *Journal of Chemical Physics* 1965;**43**:3597-3603
- [Suk01] Sukstanskii AL, Yablonskiy DA. Theory of FID NMR signal dephasing induced by mesoscopic magnetic field inhomogeneities in biological systems. *Journal of Magnetic Resonance* 2001;**151**(1):107-117
- [Tan93] Tang C, Blatter DD, Parker DL. Accuracy of phase-contrast flow measurements in the presence of partial-volume effects. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 1993;**3**(2):377-385
- [Tan95] Tang C, Blatter DD, Parker DL. Correction of partial-volume effects in phase-contrast flow measurements. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 1995;**5**(2):175-180
- [Tez75] Tezuka F. Muscle fiber orientation in normal and hypertrophied hearts. *Tohoku J Exp Med* 1975;**117**(3):289-297
- [The82] Thews G, Mutschler E, Vaupel P. Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1982
- [Tor56] Torrey HC. Bloch equations with diffusion term. *Physical Review* 1956;**104**:563-565
- [Tro91] Tropp J, Derby K. The loss of signal to noise due to imperfect isolation between the channels of a quadrature nuclear magnetic resonance probe. *Review of Scientific Instruments* 1991;**62**:2646-2653
- [Vas99] Vasanawala SS, Pauly JM, Nishimura DG. Fluctuating equilibrium MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 1999;**42**(5):876-883
- [Vas00] Vasanawala SS, Pauly JM, Nishimura DG. Linear combination steady-state free precession MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 2000;**43**(1):82-90
- [War92] Warach S, Chien D, Li W, Ronthal M, Edelman RR. Fast magnetic resonance diffusion-weighted imaging of acute human stroke. *Neurology* 1992;**42**(9):1717-1723
- [Weh91] Wehrli FW, Ford JC, Attie M, Kressel HY, Kaplan FS. Trabecular structure: preliminary application of MR interferometry. *Radiology* 1991;**179**(3):615-621
- [Wei01] Weisser A. Hochfrequenzresonatoren und T₁-Bildgebung in der NMR. *Dissertation*, Physikalisches Institut der Universität Würzburg 2001

- [Wic92] Wickline SA, Verdonk ED, Wong AK, Shepard RK, Miller JG. Structural remodeling of human myocardial tissue after infarction. Quantification with ultrasonic backscatter. *Circulation* 1992;**85**(1):259-268
- [Wig99] Wigstrom L, Ebbers T, Fyrenius A, Karlsson M, Engvall J, Wranne B, Bolger AF. Particle trace visualization of intracardiac flow using time- resolved 3D phase contrast MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 1999;**41**(4):793-799
- [Wol93] Wolf RL, Ehman RL, Riederer SJ, Rossman PJ. Analysis of systematic and random error in MR volumetric flow measurements. *Magnetic Resonance in Medicine* 1993;**30**(1):82-91
- [Yab94] Yablonskiy DA, Haacke EM. Theory of NMR signal behavior in magnetically inhomogeneous tissues: the static dephasing regime. *Magnetic Resonance in Medicine* 1994;**32**(6):749-63
- [Yab97] Yablonskiy DA, Reinius WR, Stark H, Haacke EM. Quantitation of T2' anisotropic effects on magnetic resonance bone mineral density measurement. *Magnetic Resonance in Medicine* 1997;**37**(2):214-221
- [Yab98] Yablonskiy DA. Quantitation of T2' anisotropic effects on magnetic resonance bone mineral density measurement. *Magnetic Resonance in Medicine* 1998;**39**(3):417-428
- [You98] Young AA, Legrice IJ, Young MA, Smaill BH. Extended confocal microscopy of myocardial laminae and collagen network. *Journal of Microscopy* 1998;**192**(2):139-150
- [Zur88] Zur Y, Stokar S, Bendel P. An analysis of fast imaging sequences with steady-state transverse magnetization refocusing. *Magnetic Resonance in Medicine* 1988;**6**(2):175-193
- [Zur91] Zur Y, Wood ML, Neuringer LJ. Spoiling of transverse magnetization in steady-state sequences. *Magnetic Resonance in Medicine* 1991;**21**(2):251-263

Eigene Veröffentlichungen

Originalarbeiten:

Köhler S, Maier J, Hiller KH, Griswold M, Haase A, Jakob PM. The sensitivity of TrueFISP to mesoscopic field inhomogeneities. *Journal of Magnetic Resonance* (in Bearbeitung)

Köhler S, Hiller KH, Waller C, Bauer WR, Haase A, Jakob PM. Investigation of the Microstructure of the Isolated Rat Heart: A Comparison Between T_2^* - and Diffusion-Weighted MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**50**(6):1144-1150

Köhler S, Hiller KH, Jakob PM, Bauer WR, Haase A. Time-Resolved Flow Measurement in the Isolated Rat Heart: Characterization of Left Coronary Artery Stenosis. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**50**(3):449-452

Köhler S, Hiller KH, Griswold M, Bauer WR, Haase A, Jakob PM. NMR-microscopy with TrueFISP at 11.75 T. *Journal of Magnetic Resonance* 2003;**161**(2):252-257

Köhler S, Hiller KH, Waller C, Jakob PM, Bauer WR, Haase A. Visualization of myocardial microstructure using high-resolution T_2^* imaging at high magnetic field. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003;**49**(2):371-375

Nahrendorf M, Hiller KH, Greiser A, **Köhler S**, Neuberger T, Hu K, Waller C, Albrecht M, Neubauer S, Haase A, Ertl G, Bauer WR. Chronic coronary artery stenosis induces impaired function of remote myocardium: MRI and spectroscopy study in rat. *American Journal of Physiology Heart Circ Physiol* 2003;**285**(6):H2712-H2721

Nahrendorf M, Hiller KH, Greiser A, **Köhler S**, Neuberger T, Hu K, Waller C, Ertl G, Haase A, Bauer WR. Magnetic Resonance Fusion Imaging of Chronic Myocardial Ischemia. *LNCS* 2003;**2674**:272-277

Köhler S, Preibisch C, Nittka M, Haase A. Fast three-dimensional sodium imaging of human brain. *MAGMA* 2001;**13**(2):63-69

Konferenzbeiträge als Vortrag:

Köhler S, Hiller KH, Haase A, Jakob PM. Investigation of the microstructure of the heart: Comparison between T_2^* , diffusion tensor and SSFP imaging. 7th ICMRM, Snowbird 2003.

Köhler S, Hiller KH, Haase A, Jakob PM. Myocardial Imaging at high field using SSFP Methods. ISMRM 11th Scientific Meeting, Toronto 2003.

Köhler S, Hiller KH, Bauer WR, Haase A, Jakob PM. Investigation of the microstructure of the heart: Comparison between T_2^* imaging and diffusion-weighted imaging. ISMRM 11th Scientific Meeting, Toronto 2003.

Weber D, **Köhler S**, Hiller KH, Haase A, Jakob PM. Untersuchung der Myokardstruktur mittels MR-Diffusionstensor- und T_2^* -Bildgebung. 34. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Medizinische Physik, Heidelberg 2003.

Greiser A, Neuberger T, **Köhler S**, Nahrendorf M, Bauer WR, von Kienlin M, Haase A. ^1H Coronary Angiography and Quantitative Mapping of Reduced ^{31}P Metabolites by 3D awCSI in a Coronary Artery Stenosis Model of the Isolated Rat Heart. ISMRM 10th Scientific Meeting, Honolulu 2002.

Köhler S, Hiller KH, Waller C, Jakob PM, Bauer WR, Haase A. Visualization of Myocardial Microstructure by High Resolution T_2^* Imaging of Isolated Rat Heart at 11.75 T. ISMRM 10th Scientific Meeting, Honolulu 2002.

Köhler S, Hiller KH, Waller C, Heindl C, Bauer WR, Haase A. High resolution T_2^* imaging of the chronic infarcted isolated rat heart at 11.75 T. 6th ICMRM, Nottingham 2001.

Köhler S, Preibisch C, Haase A. Fast 3D Sodium Imaging of Human Brain. ESMRMB 16th Annual Meeting, Sevilla 1999.

Konferenzbeiträge als Poster:

Köhler S, Maier J, Hiller KH, Haase A, Jakob PM. NMR-microscopy with TrueFISP at 11.75 T. 7th ICMRM, Snowbird 2003.

Köhler S, Maier J, Hiller KH, Haase A, Jakob PM. The sensitivity of TrueFISP to

mesoscopic field inhomogeneities. ISMRM 11th Scientific Meeting, Toronto 2003.

Köhler S, Hiller KH, Jakob PM, Bauer WR, Haase A. Time resolved flow measurement in the isolated rat heart - characterization of left coronary artery stenosis. ISMRM 11th Scientific Meeting, Toronto 2003.

Hiller KH, **Köhler S**, Waller C, Jakob PM, Haase A, Ertl G, Bauer WR. Visualization of myocardial microstructure in the isolated rat heart using high resolution MR. 69. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Mannheim 2003.

Neuberger T, Greiser A, **Köhler S**, Nahrendorf M, Bauer WR, von Kienlin M, Haase A. Fusion of quantitative ^{31}P metabolite maps and ^1H TOF angiography in a coronary artery stenosis model of the isolated rat heart. ESMRMB 19th Annual Meeting, Cannes 2002.

Köhler S, Hiller KH, Griswold M, Bauer WR, Haase A, Jakob PM. NMR-Microscopy with TrueFISP at 11.75 T. ISMRM 10th Scientific Meeting, Honolulu 2002.

Köhler S, Streif JU, Herold V, Szimtenings M, Lanz TE, Nahrendorf M, Wiesmann F, Greiser A, Neuberger T, Rommel E, Waller C, Hiller KH, Griswold M, Bauer WR, Haase A. Charakterisierung der Funktion von Kleintierherzen mit NMR-Methoden. 17. Physiologen-/Kardiologen-Workshop, Würzburg 2001.

Hiller KH, **Köhler S**, Voll S, Nahrendorf M, Waller C, Bauer WR, Haase A. Coronary Angiography of the perfused mouse heart - Method and Visualization. ISMRM & ESMRMB Joint Annual Meeting, Glasgow 2001.

Köhler S, Hiller KH, Heindl C, Bauer WR, Haase A. Oxygenation dependence of T_2^* and T_1 in the isolated rat heart at 11.75 T. ISMRM & ESMRMB Joint Annual Meeting, Glasgow 2001.

Hiller KH, Waller C, Nahrendorf M, **Köhler S**, Hu K, Voll S, Heindl C, Ertl G, Haase A, Bauer WR. Combined NMR imaging of myocardial perfusion and 3D angiography under chronic coronary stenosis in the isolated rat heart. ESMRMB 17th Annual Meeting, Paris 2000.

Danksagung

Diese Arbeit wurde durch die Teilprojekte A7 und A8 des Sonderforschungsbereichs *Pathophysiologie der Herzinsuffizienz* ermöglicht. Bei der Erstellung dieses Werks habe ich tatkräftige Unterstützung bekommen. An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die direkt oder indirekt zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Ganz besonders danke ich ...

... **Prof. Dr. Axel Haase**, der es mir ermöglichte, am Lehrstuhl für Experimentelle Physik V zu promovieren. Er hat bei EP5 Voraussetzungen geschaffen, die einen wissenschaftlichen Austausch auf internationaler Ebene ermöglichen und einen großen Freiraum zur Verwirklichung eigener Ideen bieten. Auch nicht ganz selbstverständlich ist die alljährliche Seminarwoche.

... **Prof. Dr. Peter M. Jakob** für sein stetiges Interesse, seine wertvollen Ratschläge, für die zahlreichen Diskussionen ... Langer Rede kurzer Sinn: Ohne die Motivations- und Innovationsmaschine **PeJa** würden einige Seiten dieser Arbeit fehlen!

... **PD Dr. Dr. Wolfgang R. Bauer** für die Finanzierung im Rahmen des Teilprojektes A8 und für die Möglichkeit, in einer interdisziplinären Arbeitsgruppe mitwirken zu können.

... **Karl-Heinz Hiller**, der sich immer viel Zeit genommen hat, um mich mit wertvollen Informationen, aufschlussreichen Diskussionen und neuen Ideen zu unterstützen.

... **Sabine Voll** gebührt besonderer Dank, denn nur ihrem Einsatz ist es zu verdanken, dass diese Arbeit mit vielen schönen Herzbildern geschmückt ist. Ohne Sabine würde ich immer noch Experimente am Phantom durchführen.

... **Christiane Waller** und **Matthias Nahrendorf (Doc)**, die durch unkomplizierte Art einem Physiker das nötige medizinische Fachwissen nähergebracht haben. Dir, Christiane, danke ich für die histologische Aufarbeitung, und Dir, Doc, für immer wieder neue *Fusions-Ideen*.

... **Yvonne Vogt** für die schönen Histo-Bilder.

... **Mark Griswold** und **Andrew Webb** für ihre ständige Bereitschaft zu Beratung, Hilfe und Diskussionen. Außerdem vielen Dank für die Korrekturen meiner zahlreichen Manuskripte.

... **Silvia Olt** und **Peter Schmitt** für ihre Unterstützung, für viele nützliche Tipps, zahlreiche Diskussionen ... und für Eure Freundschaft.

... **Elsbeth Fekete**, **Andreas Greiser (ANdy)**, **Martin Blaimer**, **Felix Breuer** und unserem Franzosen **Xavier Helluy** für die super Stimmung im Party-Zimmer B016! ANdy, Dir sei Dank für Deine lockere Art, für die ständige Verbreitung guter Laune und für Deine Gesellschaft, wenn es wieder einmal ein bisschen später wurde.

... **Andreas Greiser** und **Martin Blaimer** für Ihre Bereitschaft, nach wissenschaftlichen Tagungen nicht gleich wieder abreisen zu müssen, so dass wir ausführliche, wissenschaftliche Diskussionen in Schottland und auf Hawaii durchführen konnten.

... der EP5-Diffusionsgruppe: **Thomas Weber**, **Thomas Schulze** und **Daniel Weber** für konstruktive Meetings.

... **Jens Maier** für die Unterstützung in Sachen TrueFISP.

... **Jörg Streif** für seine Hilfestellung am Biospec und **Cornelius Faber** für die Unterstützung am 750iger.

... **Volker Behr** für seinen Einsatz bei Lösung von Computerproblemen. Es ist faszinierend, wie er aus dem Stegreif seitenlange Kommandos zusammenbastelt.

... **Elsbeth Fekete** und **Sabine Voll** sei gedankt für ihre ständige Bereitschaft, Ordnung in das Chaos von EP5 zu bringen.

... **Silvia Olt**, **Peter Schmitt**, **Felix Breuer**, **Karl-Heinz Hiller**, **Thomas Weber** und **Cornelius Faber** fürs Korrekturlesen dieser Arbeit und für ihre Verbesserungsvorschläge. Für die übriggebliebenen Rechtschreibfehler und sprachlichen Verrenkungen sind **Sabine Voll** und **Elke Hummel** verantwortlich.

... last but not least ganz **EP5** für die tolle Arbeitsatmosphäre.

Lebenslauf

Sascha Köhler Theodor-Körner-Str. 6, 97072 Würzburg
geboren am 26.01.1974 in Bad Kissingen

Schulbildung

1980–1984 Grundschule Reiterswiesen
1984–1993 Gymnasium Bad Kissingen
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Studium

Nov. 1993–Jan. 1999 Studium der Physik an der
Bayerischen Julius–Maximilians–Universität Würzburg
Abschluss: Diplom-Physiker

Jan. 1998–Jan. 1999 Diplomarbeit am Lehrstuhl für Experimentelle Physik 5
der Universität Würzburg:
„Charakterisierung und Optimierung der ^{23}Na -Bildgebung
am menschlichen Gehirn “

Promotion

seit Nov. 1999 Promotion am Lehrstuhl für Experimentelle Physik 5
der Universität Würzburg:
„Entwicklung hochaufgelöster NMR-Methoden zur morpholo-
gischen und funktionellen Charakterisierung des Herzmuskels “

Auszeichnungen

Sept. 1999 Finalist beim „Young Investigator’s Award Competition“,
ESMRMB 16th Annual Meeting, Sevilla

Sept. 2003 Finalist beim „Young Investigator’s Award Competition“,
7th ICMRM, Snowbird

Würzburg, 23. Dezember 2003

(Sascha Köhler)

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

gemäß §6 Abs. 1 Ziff. 3 und 7
der Promotionsordnung der Fakultät
für Physik und Astronomie der
Universität Würzburg

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, dass ich die Dissertation selbständig und ohne Hilfe eines Promotionsberaters angefertigt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation wurde bisher weder vollständig noch teilweise einer anderen Hochschule mit dem Ziel, einen akademischen Grad zu erwerben, vorgelegt.

Am 31. März 1999 wurde mir von der Universität Würzburg der akademische Grad „Diplom-Physikerin (Univ.)“ verliehen. Weitere akademische Grade habe ich weder erworben noch versucht zu erwerben.

Würzburg, den 23.12.2003

(Sascha Köhler)

