

^{19}F Magnetresonanztomographie zur Bildgebung von
Infektionen im Zeitverlauf



Dissertation zur Erlangung des
naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Volker Jörg Friedrich Sturm

aus Bad Mergentheim

Würzburg 2015

Eingereicht am: .29.06.2015.....
bei der Fakultät für Physik und Astronomie

1. Gutachter: .Prof. Dr. Peter Jakob.....
2. Gutachter: .PD. Dr. Knut Ohlsen.....
3. Gutachter:
der Dissertation

Vorsitzende(r): .Prof. Dr. Sven Höfling.....

1. Prüfer: .Prof. Dr. Peter Jakob.....
2. Prüfer: .PD. Dr. Knut Ohlsen.....
3. Prüfer: .Prof. Dr. Wolfgang Kinzel.....
im Promotionskolloquium

Tag des Promotionskolloquiums: .02.12.2015.....
Doktorurkunde ausgehändigt am:

Calvin is toasting a piece of bread – The toast burns

Calvin walks off with the toast, saying:

*„When you think how well basic appliances work,
it's hard to believe anyone ever gets data from an NMR system“*

Frei nach: Calvin and Hobbes von Bill Watterson

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	9
2	Grundlagen	11
2.1	Kernspinresonanz	11
2.2	Gleichgewichtsmagnetisierung	13
2.3	MR-aktive Kerne – ¹⁹ F-MR	14
2.3.1	Chemische Verschiebung	15
2.3.2	Perfluorkarbone (PFC)	16
2.4	Relaxation	18
2.5	HF-Pulse und Gradienten	19
2.5.1	HF-Pulse	19
2.5.2	Spezifische Absorptionsrate	21
2.5.3	Gradienten & Ortskodierung	22
2.6	MR-Bildgebungssequenzen – Auswahl	24
2.6.1	FLASH	24
2.6.2	bSSFP	25
2.6.3	MSE/TSE	26
2.6.4	CSI	27
2.6.5	Akquisitionswichtung	28
2.7	Quantifizierung	29
3	Bildgebung von Infektionen	33
3.1	Einleitung	33
3.2	Materialien und Methoden	35
3.3	Ergebnisse – Vergleich von PFC & CLIO	42
3.4	Ergebnisse – Therapiekontrolle mit PFC	49
3.5	Diskussion – Vergleich von PFC & CLIO	52

3.6	Diskussion – Therapiekontrolle mit PFC	56
3.7	Zusammenfassung	58
4	Bloch-Siegert B_1^+-Mapping	60
4.1	Einleitung	60
4.2	Bloch-Siegert-Effekt	61
4.3	Bloch-Siegert-Phase in Sequenzen	63
4.3.1	Material und Methoden	68
4.3.2	Ergebnisse: Phantom-Experimente	73
4.3.3	Ergebnisse: in vivo Experimente	76
4.3.4	Diskussion Bloch-Siegert-MSE/TSE	79
4.4	Bloch-Siegert-Theorie	82
4.4.1	Herleitung der Bloch-Siegert-Phase	83
4.4.2	Mittelung der Bloch-Siegert-Phase über Phasenzyklen	91
4.4.3	Diskussion Bloch-Siegert-Herleitung	93
4.5	Zusammenfassung – Bloch-Siegert	94
4.6	Bloch-Siegert- B_1^+ -Mapping und ^{19}F -MR	95
5	Diskussion & Zusammenfassung	97
6	Discussion & Conclusion	100
7	Appendix	102
7.1	Herstellung von PFC Emulsionen	102

Erklärung

Die im Rahmen dieser Arbeit präsentierten Daten wurden, soweit nicht anders angegeben, mit Hilfe von MATLAB (MathWorks Inc., Natick, USA), Mathematica (Wolfram Research, Champaign, USA), CorelDRAW (Corel Corporation, Ottawa, Canada) und Inkscape (Inkscape Team, <http://www.inkscape.org>) graphisch aufbereitet.

Alle Tierexperimente waren durch die Regierung von Unterfranken genehmigt und wurden in Übereinstimmung mit dem deutschen Tierschutzrecht durchgeführt. Die Tiere wurden unter standardisierten Lichtbedingungen mit freiem Zugang zu Nahrung und Wasser gehalten.

Desweiteren wurden alle präsentierten MR-Messungen an einem 7T Bruker Biospec System (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Deutschland) durchgeführt.

1 Einleitung

Mit der Entdeckung der ersten Antibiotika um 1900 begann das „Goldene Zeitalter der Antibiotika“ in dem in kurzer zeitlicher Abfolge eine ganze Reihe von Antibiotika und Impfstoffe entdeckt wurden. Der Einsatz dieser Medikamente versetzte die Medizin in die Lage bis dahin tödliche Infektionen zu heilen beziehungsweise gegen eben jene vorzubeugen. Hierdurch wurde die Hoffnung geweckt, bald sämtliche Infektionskrankheiten kontrollieren zu können.

Die Kehrseite dieser Erfolge – ein entsprechend hoher evolutionärer Anpassungsdruck auf die Bakterien – zeigte sich jedoch erst mit Verzögerung in Form von gegen einzelne Antibiotika resistente Bakterien [1, 2]. Da aber nach den anfänglichen Erfolgen die Anzahl an neu auf den Markt gebrachten Antibiotika deutlich abnahm [3], sind wir heute in der Situation, dass zur Behandlung einzelner Infektionen nur noch eine begrenzte Anzahl an Antibiotika zur Verfügung stehen [4, 5].

In diesem Kontext sind insbesondere auch einige Bakterienstämme des Bakteriums *Staphylococcus aureus* unter dem Akronym *MRSA* (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) bekannt geworden aufgrund der Fähigkeit von *Staphylococcus aureus* Resistenzen gegen Antibiotika zu erwerben. Entsprechend sind die gegen *MRSA*-Stämme zur Verfügung stehenden Behandlungsmöglichkeiten mittlerweile stark eingeschränkt. Hinzu kommt, dass *Staphylococcus aureus* einer der häufigsten in Krankenhäusern auftretenden Infektionserreger ist, und dabei eine große Bandbreite an unterschiedlichen Entzündungen – von Entzündungen der Haut bis hin zu lebensbedrohlichen Lungenentzündungen – auslösen kann [6].

Wenn auch einige neue vielversprechende Antibiotika bereits in Entwicklung sind, so ist doch die Kontrolle der Verbreitung von resistenten Bakterienstämmen, sowie die Entwicklung weiterer Antibiotika von großer Bedeutung [7–9].

Neben der Entwicklung neuer Wirkstoffe sind auch die Methoden zur Evaluierung derselben von unmittelbarer Relevanz, da über diese wertvolle Informationen über die Wirksamkeit und die Wirkmechanismen der Stoffe gewonnen werden können. So spielt in

dem von der Deutschen Forschungsgemeinschaft geförderten Sonderforschungsbereich (SFB) 630: *Erkennung, Gewinnung und funktionale Analyse von Wirkstoffen gegen Infektionskrankheiten* neben der Suche nach neuen Wirkstoffen auch die Evaluierung der *in vivo* Infektionsbildgebung und deren Nutzbarkeit zur Evaluierung neuer potentieller Wirkstoffe eine Rolle. Aufgrund der *in vivo*-Anforderung und der Erfahrung des beteiligten Lehrstuhls Experimentelle Physik 5 im Bereich der Kernspintomographie (MRT), sollten im Rahmen dieser Arbeit die bis dahin kaum evaluierten Möglichkeiten der MR zur Bildgebung von Infektionen näher untersucht und bewertet werden.

Entsprechend soll in Kapitel 2 zunächst ein knapper Überblick über die für diese Arbeit grundlegenden Konzepte der Magnetresonanztomographie gegeben werden. In Kapitel 3 wird dann auf die Fragestellung, *Bildgebung von Infektionen im Zeitverlauf*, eingegangen. Hierbei werden zunächst die Infektionsdarstellung von nativer T_2 MRT mit der MRT von superparamagnetischen Eisenpartikeln als Kontrastmittel und mit der MRT von Perfluorkarbonen als Marker einander gegenüber gestellt. Die ^{19}F -Magnetresonanz (^{19}F -MR) basierende Infektionsdarstellung unter Verwendung der Perfluorkarbone wird dann qualitativ mit der Biolumineszenzbildgebung und dem Goldstandard zur Bestimmung der Bakterienbelastung – der Bestimmung der koloniebildenden Einheiten (cfu) – am Beispiel einer mit Antibiotika behandelten Infektion verglichen. Auf das bei einer Quantifizierung vorhandene Problem der Inhomogenitäten im Feld einer MR Spule, dessen Einfluß bei der Infektionsbildgebung durch sorgsame Wahl der Randbedingungen beim Versuchsaufbau und der Durchführung versucht wurde minimal zu halten, wird in Kapitel 4 näher eingegangen. Im Besonderen wird hierbei das sogenannte *Bloch Siegert B_1^+ Mapping* genauer betrachtet werden, das einen von Bloch und Siegert bereits 1940 beschriebenen Effekt [10] nutzt, aber erst kürzlich durch Sacolick [11] aufgegriffen und präsentiert wurde, um die Feldverteilung einer Spule auszumessen. In diesem Kapitel soll neben einer Implementation dieser Methodik in eine *Multi/Turbo Spin Echo* Sequenz, die verspricht in der ^{19}F -MRT von Vorteil zu sein, auch auf eine alternative mathematischen Herleitung dieses Effektes eingegangen werden. Eine abschließende Diskussion und Zusammenfassung dieser Arbeit ist dann auf Deutsch in Kapitel 5 und auf Englisch in Kapitel 6 zu finden.

2 Grundlagen

In den folgenden Abschnitten soll ein knapper Überblick über die Grundlagen der Magnetresonanztomographie (MRT) gegeben werden. Soweit nicht anders vermerkt erfolgt dies analog zu folgender Literatur: [12–14].

2.1 Kernspinresonanz

Bei der Kernspinresonanz handelt es sich um ein Phänomen, welches durch die magnetischen Eigenschaften des Kerns hervorgerufen wird. Dabei spielt der dem Kern innewohnende Spin \vec{I} eine besondere Rolle. Dieser Eigendrehimpuls setzt sich aus den einzelnen Eigendrehimpulsen der im Kern enthaltenen Protonen und Neutronen zusammen und bestimmt zusammen mit dem gyromagnetischen Verhältnis γ das magnetische Moment $\vec{\mu}$ des Kerns:

$$\vec{\mu} = \gamma \cdot \vec{I} \quad (2.1)$$

Der Wert von γ bestimmt sich hierbei aus dem dimensionslosen und kernspezifischen Landé-Faktor g_N , dem Kernmagneton $\mu_N = \frac{e\hbar}{2m_K}$ mit der Elementarladung e und der Ruhemasse m_K des Kerns, sowie aus $\hbar = \frac{h}{2\pi}$ mit dem Plankschen Wirkungsquantum h :

$$\gamma = \frac{g_N \mu_N}{\hbar} \quad (2.2)$$

I_z repräsentiert den Erwartungswert der z-Komponente des Drehimpulsoperators \vec{I} der folgende Werte annehmen kann:

$$I_z = m_s \hbar \quad m_s \in [-I, I] \text{ mit } \Delta m_s = 1 \quad (2.3)$$

Die magnetische Quantenzahl m_s kann hierbei $2I + 1$ diskrete Zustände annehmen. In Anwesenheit eines äußeren Magnetfeldes \vec{B} führt der Zeeman-Effekt dazu, dass die

Gesamtenergie der Zustände sich um $E = -\hbar\gamma B m_s$ verändert und sich somit benachbarte Niveaus der sonst energetisch entarteten Zustände um $\Delta E = -\hbar\gamma B$ unterscheiden.

Das magnetische Moment des Kerns $\vec{\mu}$ führt zudem in Anwesenheit eines äußeren Magnetfeldes \vec{B} zu dem Drehmoment

$$\vec{D} = \vec{\mu} \times \vec{B}, \quad (2.4)$$

welches wie folgt mit der zeitlichen Änderung des Kernspins verknüpft ist:

$$\vec{D} = \frac{d\vec{I}}{dt}. \quad (2.5)$$

Aus den Gleichungen 2.1, 2.4 und 2.5 ergibt sich somit die Bewegungsgleichung für das magnetische Moment zu:

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \gamma \vec{\mu} \times \vec{B} \quad (2.6)$$

Die Messmethodik der Magnetresonanz bietet allerdings keinen Zugang zu einzelnen Kernspins, sondern nur zu den Eigenschaften eines Ensembles, weshalb es notwendig ist, zu der zugehörigen makroskopischen Größe, der Magnetisierung \vec{M} , zu wechseln. Diese erhält man durch Summieren über die magnetischen Momente aller Kerne im Volumen V .

$$\vec{M} = \frac{1}{V} \sum_i \vec{\mu}_i \quad (2.7)$$

Summiert man in Gleichung 2.6 entsprechend über das Volumen, so ergibt sich analog für die Magnetisierung in Gegenwart eines äußeren Magnetfeldes \vec{B} :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \times \vec{B} \quad (2.8)$$

Aus der Lösung dieser Bewegungsgleichung ergibt sich sodann, dass die Magnetisierung in Gegenwart von \vec{B}_0 , wie das Hauptfeld in der MR üblicherweise bezeichnet wird, mit

$$\gamma \cdot B_0 = 2\pi f_0 = \omega_0, \quad (2.9)$$

um die Richtung von \vec{B}_0 präzidiert. Den Konventionen in der MR folgend, wird im Weiteren die Kreisfrequenz ω_0 als Larmorfrequenz bezeichnet und die z-Achse des kartesischen

Bezugssystems parallel zur Richtung des magnetischen Hauptfeldes \vec{B}_0 gelegt, so dass \vec{B}_0 lediglich einen von Null verschiedenen Eintrag in z-Richtung besitzt. Darüberhinaus soll hier, für die zum \vec{B}_0 -Feld transversale Magnetisierung M_T die komplexe Schreibweise $M_T = M_x + iM_y$ eingeführt werden.

2.2 Gleichgewichtsmagnetisierung

Die für die MR typischerweise zur Verfügung stehende Magnetisierung ist durch die Gleichgewichtsmagnetisierung, also diejenige Magnetisierung, die sich einstellt, wenn das System ohne äußere Störungen für längere Zeit ($t \rightarrow \infty$) in Ruhe gelassen wird, gegeben. Die Gleichgewichtsmagnetisierung resultiert aus dem Gegenspiel der thermisch getriebenen Bewegung und dem Bestreben der magnetischen Momente, sich im statischen \vec{B}_0 Feld auszurichten und soll hier analog zu [14] hergeleitet werden. Die Wahrscheinlichkeit P_{m_s} , dass der Eigenwert des magnetischen Moment $\hbar\gamma m_s$ im äußeren Magnetfeld bei der Temperatur T beträgt, ist unter Verwendung der Boltzmann-Konstante k gegeben durch:

$$P_{m_s} = \frac{e^{m_s \frac{\hbar\omega_0}{kT}}}{\sum_{m_s=-I}^I e^{m_s \frac{\hbar\omega_0}{kT}}} \quad (2.10)$$

Die globale Magnetisierung des Systems erhält man gemäß Gleichung 2.7 durch Summation über die Eigenwerte des magnetischen Moments gewichtet mit deren statistischen Häufigkeit und deren Dichte ρ_0 .

$$\begin{aligned} M_0 &= \rho_0 \sum_{m_s=-I}^I P_{m_s} \mu_{m_s} \\ &= \rho_0 \gamma \hbar \frac{\sum_{m_s=-I}^I m_s e^{m_s \frac{\hbar\omega_0}{kT}}}{\sum_{m_s=-I}^I e^{m_s \frac{\hbar\omega_0}{kT}}} \end{aligned} \quad (2.11)$$

Unter Verwendung der üblichen Hochtemperaturnäherung können die Exponentialfunktionen in eine Taylorreihe entwickelt werden und es ergibt sich somit für die Gleichgewichtsmagnetisierung:

$$M_0 \approx \rho_0 \frac{I(I+1)\gamma^2 \hbar^2 B_0}{3kT} \quad (2.12)$$

2.3 MR-aktive Kerne – ^{19}F -MR

Wie bereits in Kapitel 2.1 ersichtlich, muss ein Atom um über MR detektierbar zu sein, ein nicht verschwindenden Drehimpuls oder anders ausgedrückt einen Spin $I \neq 0$ aufweisen. Einen Überblick über per MR detektierbare Isotope und deren für die MR relevanten Eigenschaften ist in der Literatur [12, 15] zu finden. Eine Auflistung einiger ausgewählter Isotope erfolgt in Tabelle 2.1. Betrachtet man die für MR relevanten Eigenschaften, so fällt auf, dass Wasserstoff und Fluor zu einer relativ kleinen Gruppe von Atomen gehören, bei denen ein MR detektierbares Isotop mit einer natürlichen Häufigkeit von annähernd 100 % auftritt und das gleichzeitig ein vergleichsweise hohes gyromagnetisches Verhältnis aufweist. Beides ist von besonderem Interesse, denn das für die Detektion einer transversalen Magnetisierung M_T erreichbare Signal-Rausch-Verhältnis (SNR), welches als der Quotient aus dem rauschfreien in die Messspule induzierten Signal Z und dem durch elektrisches Rauschen in die Spule induzierten Hintergrund ς_R für eine Auslesebandbreite δf gegeben ist, weist für den Fall probendominierten Rauschens folgende Abhängigkeiten auf [16]:

$$SNR = \frac{Z}{\varsigma_R} = \frac{\omega_0 M_T \beta_1 V}{\sqrt{4kTC\omega_0^2 \beta_1^2 \delta f}} \sim \rho_0 I(I+1) \gamma^2 B_0 \quad (2.13)$$

Hierbei ist die Larmorfrequenz des untersuchten Kerns durch ω_0 , die Sensitivität der MR-Spule im Volumen V durch β_1 und die elektromagnetischen Eigenschaften der Probe bei der thermischen Energie kT (Boltzmann-Konstante k , Temperatur T) durch C gegeben.

Da zudem Wasserstoffkerne in großem Umfang im Gewebe von Säugetieren vorkommen ($\rho_{\text{1H}} \approx 99.0 \text{ mol/l}$ [17]), ist in der MR insbesondere bei solchen Proben die Nutzung des Wasserstoffkerns für die Bildgebung Standard. Demgegenüber ist im Gewebe von Säugetieren nicht nur quasi kein Fluor anzutreffen ($\rho_{\text{19F}} \approx 6.6 \text{ mmol/l} \approx 0.066\% \rho_{\text{1H}}$ [17]), sondern das meiste davon auch noch in Festkörpern wie z.B. Knochen gebunden. Aus letzterem resultieren für das endogen in biologischen Proben vorhandene Fluor MR-Relaxationsraten (siehe Kapitel 2.4), die im Verhältnis zu den anderen nachzuweisenden Substanzen für den Nachweis durch die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Messsequenzen und Messparameter darüberhinaus sehr ungünstig sind. Jedoch prädestinieren gerade diese Randbedingungen Fluor zum Einsatz als Marker, da somit per ^{19}F -MR

Isotop	Spin I	Häufigkeit [%]	$\mu_z [\mu_N]$	$\gamma [10^7 \text{ rad}/(\text{sT})]$	Tabelle 2.1: Für die MR relevante Eigenschaften ausgewählter Isotope: Häufigkeit gibt die natürliche Häufigkeit dieses Isotops an, μ_z den Erwartungswert der z-Komponente vom magnetischen Moment relativ zum Kernmagneton μ_N und γ das gyromagnetische Verhältnis.
¹ H	1/2	99.9885	2.79284734	26.7522208	
² H	1	0.0115	0.857438228	4.10662919	
¹³ C	1/2	1.07	0.702412	6.728286	
¹⁴ N	1	99.636	0.40376100	1.9337798	
¹⁵ N	1/2	0.364	-0.28318884	-2.7126189	
¹⁷ O	5/2	0.038	-1.89379	-3.62806	
¹⁹ F	1/2	100.0	2.626868	25.16233	
²³ Na	3/2	100.0	2.2176556	7.0808516	
²⁵ Mg	5/2	10.0	-0.85545	-1.63884	
³¹ P	1/2	100.0	1.13160	10.8394	
⁴³ Ca	7/2	0.135	-1.317643	-1.803069	

detektiertes Signal nahezu eineindeutig auf den verabreichten ¹⁹F-Marker zurückzuführen ist. Im Rahmen dieser Arbeit wird entsprechend Fluor als Marker verwendet und mit Protonendaten hinterlegt, um eine anatomische Lokalisierung zu gewährleisten. Da die in dieser Arbeit per MR detektierten Kerne somit alle einen Spin von $I = 1/2$ aufweisen, beschränkt sich diese Arbeit auf die in der MR für solche Kerne relevanten Eigenschaften.

2.3.1 Chemische Verschiebung

Durch die Verteilung der Elektronen in der Umgebung eines Kerns wird das äußere Magnetfeld B_0 in der Größenordnung von ppm beeinflusst. Der Effekt der chemischen Umgebung wird quantitativ im sogenannten Abschirmungsfaktor (σ) erfasst. Die um diesen Faktor erweiterte Gleichung 2.9 ist wie folgt gegeben:

$$\omega_0 = \gamma \cdot B_0(1 - \sigma) \quad (2.14)$$

Entsprechend können sich für einen Kern je nach Molekül und Ort im selbigen unterschiedliche Frequenzen ergeben. Die daraus resultierende Frequenzverschiebung – die sogenannte chemische Verschiebung – wird in der dimensionslosen Größe δ

$$\delta = \frac{\omega_0^{\text{Substanz}} - \omega_0^{\text{Referenz}}}{\omega_0^{\text{Referenz}}} \quad (2.15)$$

erfasst, welche in typischen chemischen Verbindungen für Protonen Werte von bis zu 12 ppm und für Fluor Werte von bis zu 350 ppm [18, 19] erreicht. Genauere Informationen zur chemischen Verschiebung sind in [18, 19] zu finden.

2.3.2 Perfluorkarbone (PFC)

Bei den Perfluorkarbonen (PFC) handelt es sich um *lineare oder cyclische Verbindungen*, bei denen meist der Wasserstoff vollständig durch Fluor substituiert ist [20]. Was diese Verbindungen insbesondere für den Einsatz als Marker interessant macht, ist ihre hohe chemische und thermische Stabilität, die zudem damit einhergeht, dass die Stoffe biologisch inert sind und nicht metabolisiert werden [21–23]. Da diese Stoffe jedoch *hydrophob* und meist auch *lipophob* sind, werden die PFC üblicherweise bei *in vivo* Anwendungen in Form von Emulsionen genutzt [22]. Von in den Blutstrom gebrachten PFC-Emulsionen ist bekannt, dass diese im Allgemeinen durch phagozytierende Zellen, wie z.B. Makrophagen, aus dem Blutstrom entfernt werden und durch diese in den entsprechenden Organen, wie z.B. in Leber und Nieren, angereichert werden [21, 22].

Wegen ihrer Biokompatibilität und ihrer Fähigkeit Sauerstoff zu binden, ziehen einige emulgierte Perfluorkarbone bereits seit den 1960ern, insbesondere bei der Suche nach Blutersatzstoffen [24], Aufmerksamkeit auf sich. Entsprechend wurden in der MR, kurze Zeit nachdem die Bildgebung an Protonen durch Lauterbur [25] überhaupt erstmals gezeigt wurde, unter anderem auch solche PFC für die Bildgebung an ^{19}F herangezogen [26]. So dienten PFC in der sich entwickelnden ^{19}F Bildgebung auch als Marker:

1. für durch Phagozytose [27, 28] *in vivo* gelabelte Makrophagen [29–31],
2. für *ex vivo* gelabelte Zellen [32] als auch
3. zur *in vivo* Messung von physiologischen Parametern, wie dem lokalen Sauerstoffpartialdruck (pO_2) [33, 34].

Alle in dieser Arbeit verwendeten PFC wurden im Sinne des erst genannten Punktes verwendet und sollen im folgenden vorgestellt werden. Weitergehende Informationen sind in der entsprechenden Literatur [21, 31, 35, 36] zu finden.

Perfluor-15-crown-ether(PF15C)

Alle 20 Fluoratome des Perfluor-15-crown-ether (PF15C) (Strukturformel siehe Abbildung 2.1) sind magnetisch äquivalent und tragen damit in der MR alle zur gleichen Spektrallinie

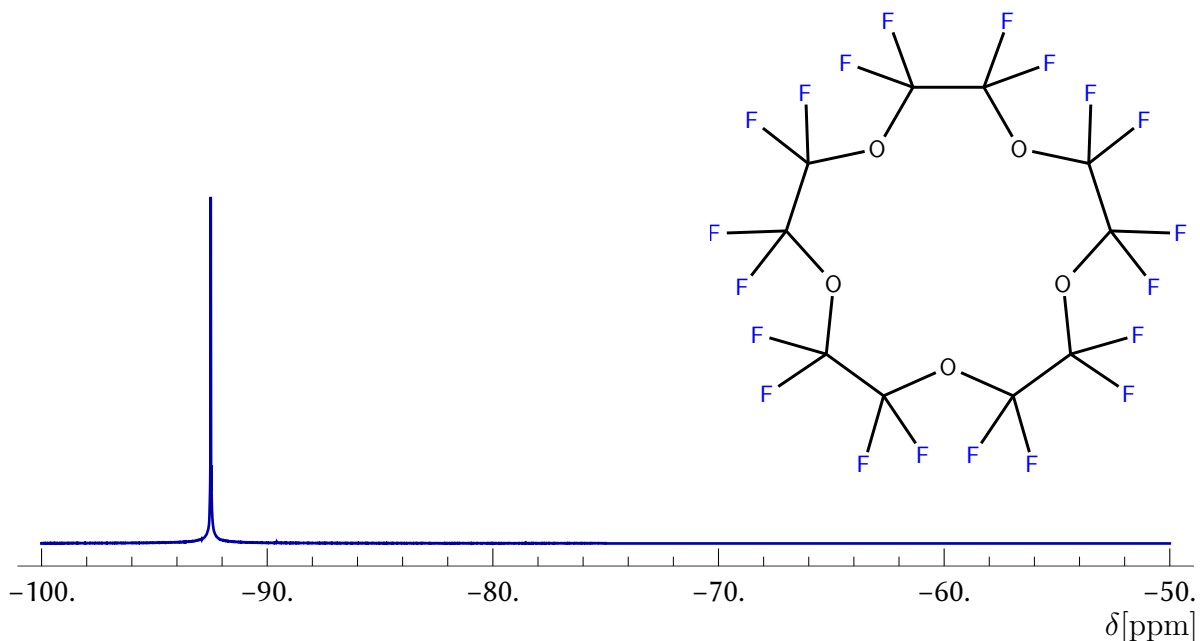


Abbildung 2.1: *Spektrum und Strukturformel des Perfluor-15-crown-ether*

bei, woraus sich ein maximal „einfaches“ Spektrum ergibt [21] (siehe Abbildung 2.1). Hierdurch bietet sich diese Verbindung im Besonderen für die Bildgebung an, da somit chemische Verschiebungsartefakte intrinsisch vermieden werden.

Aufgrund seines günstigen T_1 zu T_2 Verhältnisses ($^{1140\text{ms}}/_{670\text{ms}} \sim 1.7$) kann die Messzeit zudem bei Verwendung von Multi-Spin-Echo Sequenzen effizient genutzt werden. Darüberhinaus bietet sich, aufgrund des günstigen Verhältnisses auch die Verwendung von bSSFP-Sequenzen an. PF15C wurde im Rahmen dieser Arbeit fertig emulgiert, als *vs580*, von der Firma Cellsense bezogen. Darüber hinaus wurde PF15C auch zur Herstellung von eigenen PFC Nanoemulsionen verwendet (Rezept siehe Kapitel 7.1).

Perfluorpolyether(PFPE)

Im Gegensatz zum PF15C sind beim Perfluorpolyether nicht alle Fluoratome magnetisch äquivalent und tragen damit nicht alle zur gleichen Spektrallinie bei. Da jedoch lediglich die Fluoratome in den beiden Endgruppen (CF_2RO) von den sonst magnetisch identischen Fluoratomen in der $(\text{CF}_2\text{CF}_2\text{O})_n$ Kette abweichen [21] (Strukturformel siehe Abbildung: 2.2), ergibt sich hieraus ein „quasi singleresonantes“ Spektrum (siehe Abbildung 2.2). Auch für die PFPE bietet sich, aufgrund des günstigen T_1 zu T_2 Verhältnisses ($^{398\text{ms}}/_{169\text{ms}}$

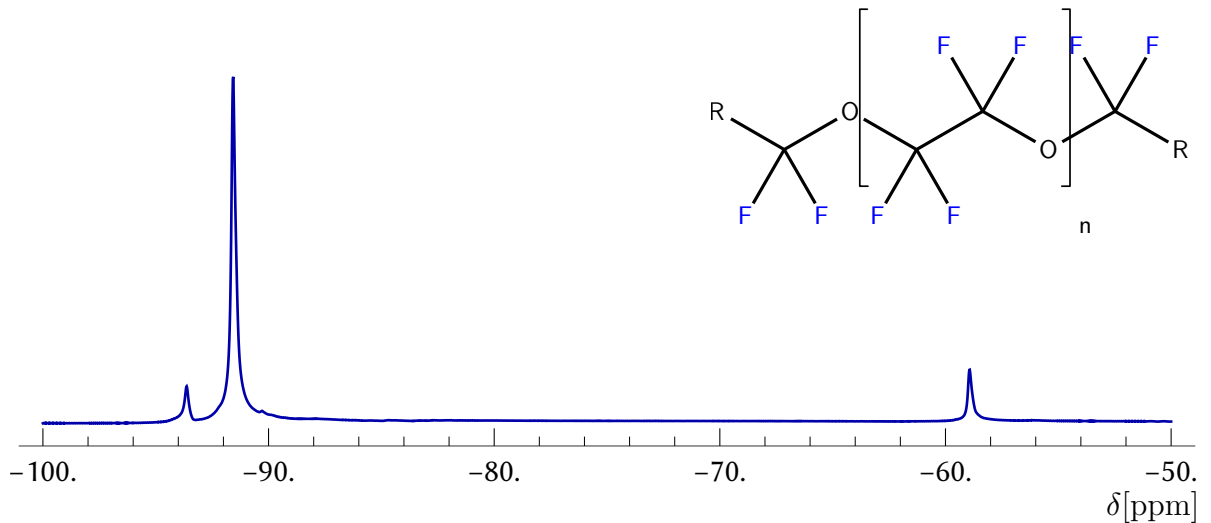


Abbildung 2.2: *Spektrum und Strukturformel des Perfluorpolyether*

~ 2.4), die Verwendung von Multi-Spin-Echo- und von bSSFP-Sequenzen an. PFPE wurde im Rahmen dieser Arbeit fertig emulgiert, als *vs1000h*, von der Firma Cellsense bezogen.

2.4 Relaxation

Um in der Bewegungsgleichung 2.8 die durch Fluktuationen des Magnetfeldes am Ort einzelner Kerne verursachten Störungen zu berücksichtigen, sind derselben noch Terme hinzuzufügen, die der Magnetisierung erlauben aus dem präparierten Zustand auch in den Grundzustand zu relaxieren.

Hierbei ist es erforderlich, zwischen zwei charakteristischen Zeitkonstanten T_1 und T_2 zu unterscheiden:

- T_1 – auch als longitudinale Relaxationszeit bezeichnet – beschreibt die Zeitskala, innerhalb derer die longitudinale Magnetisierung nach einer Störung in den Gleichgewichtszustand zurückkehrt. Dieser Prozess beruht auf einem Energieaustausch zwischen den Kernspins und dem Gitter. Der Begriff Gitter stammt aus der Festkörperphysik und bezeichnet die gesamte Umgebung, mit der Energie ausgetauscht werden kann.
- Die Zeitkonstante T_2 steht für die transversale Relaxationszeit. Diese bezeichnet den Zeitraum, in dem die transversale Magnetisierung aufgrund von stochastischen

Effekten abklingt. Dieser Vorgang wird durch den Verlust der Phasenkohärenz zwischen den Spins verursacht und erfordert entsprechend keinen Energieaustausch mit der Umgebung.

Gegenüber der stoffspezifischen Größe T_2 ist die Zeitkonstante T_2' abzugrenzen, welche den Zeitraum für den Verlust der Phasenkohärenz in der transversalen Magnetisierung durch statische Inhomogenitäten beschreibt und damit im engeren Sinne keine Relaxation darstellt. Da T_2' -Dephasierung durch statische Inhomogenitäten im Feld verursacht wird, lässt sie sich im Gegensatz zu den beiden genannten Relaxationen, durch geeignete Präparation der Magnetisierung rückgängig machen. Ein umfassender Überblick zu Relaxation und deren Abhängigkeiten ist in der Literatur zu finden [12, 14].

Eine Erweiterung der Bewegungsgleichung 2.8 für ein äußeres Magnetfeld $\vec{B} = \vec{B}_0 + \vec{B}_{in}$ mit $\vec{B}_{in} = (B_x, B_y, B_z)^T$ und $|B_{in}| \ll |B_0|$, um die beiden Relaxationsterme T_1 und T_2^* mit $1/T_2^* = 1/T_2 + 1/T_2'$, liefert die Blochgleichung [14]:

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{pmatrix} = \gamma \cdot \begin{pmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} B_x \\ B_y \\ B_z + B_0 \end{pmatrix} - \begin{pmatrix} \frac{M_x}{T_2^*} \\ \frac{M_y}{T_2^*} \\ \frac{M_z - M_0}{T_1} \end{pmatrix} \quad (2.16)$$

2.5 HF-Pulse und Gradienten

2.5.1 HF-Pulse

Um die Relaxation der Magnetisierung zu beobachten ist es nötig, diese zuvor aus dem Gleichgewichtszustand auszulenken. Hierzu wird mit Hilfe einer Spule elektromagnetische Strahlung auf der Frequenz ω_{Puls} in die Probe eingekoppelt. Aufgrund der üblichen Annahme, dass die Dauer des Pulses τ viel kleiner als T_1 und T_2 ist, kann für die Betrachtung der Wechselwirkung zwischen Magnetisierung und Puls die Relaxation vernachlässigt werden. Entsprechend ist in Gleichung 2.8 \vec{B} durch die Vektorsumme aus dem äußeren statischen Magnetfeld \vec{B}_0 und dem zu diesem senkrecht stehenden, von der Spule erzeugten Magnetfeld \vec{B}_1 zu ersetzen ($\vec{B} = \vec{B}_0 + \vec{B}_1$). Hierbei sei

$$\vec{B}_1 = \text{Re}[B_T] \cdot \vec{e}_x + \text{Im}[B_T] \cdot \vec{e}_y \quad (2.17)$$

und damit über den Real- und Imaginärteil von $B_T = B_I e^{i(\omega_{Puls}t + \varphi_I)}$ definiert, wobei durch φ_I die Lage von \vec{B}_I in der Transversalebene zum Zeitpunkt Null bestimmt ist. Angesichts der zeitlichen Abhängigkeit des Magnetfeldes erweist sich das Laborsystem jedoch nicht als das ideale Inertialsystem. Denn die Magnetisierung präzidiert in diesem Inertialsystem um ein sich im Raum drehendes \vec{B} -Feld, woraus das resultierende Verhalten der Magnetisierung nicht gerade intuitiv abgeleitet werden kann. Entsprechend ist es von Vorteil ein Inertialsystem zu wählen, in dem das äußere \vec{B} -Feld zeitlich konstant ist und somit die Rotation des Pulses in das Inertialsystem transformiert ist. Mathematisch lässt sich die Transformation des Problems aus dem Laborsystem (*lab*) in das mit dem Puls mitrotierende Koordinatensystem (*rot*) wie folgt darstellen [37, 38]:

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt}\right)_{lab} = \left(\frac{d\vec{M}}{dt}\right)_{rot} + \vec{\Omega} \times \vec{M} \Rightarrow \left(\frac{d\vec{M}}{dt}\right)_{rot} = \gamma \vec{M} \times \left(\vec{B}_{I_{rot}} + \left(B_0 - \frac{\omega_{Puls}}{\gamma}\right) \cdot \vec{e}_z\right) \quad (2.18)$$

mit $\vec{\Omega} = -1/\gamma \omega_{Puls} \cdot \vec{e}_z$ und $\vec{B}_{I_{rot}}$ analog zu Gleichung 2.17 definiert ist durch $B_{T_{rot}} = B_I e^{i\varphi_I} = B_T e^{-i\omega_{Puls}t}$. Entsprechend ergibt sich für ein auf der Larmorfrequenz eingestrahlt und damit einem mit dem Spinsystem resonanten Puls (d.h. $\omega_{Puls} = \omega_0$) folgende Differentialgleichung:

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt}\right)_{rot} = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_{I_{rot}} \quad (2.19)$$

aus welcher sich für den erreichten Auslenkungswinkel θ durch einen onresonant eingestrahlt Puls der Länge τ und der Amplitude B_I :

$$\theta = \gamma \cdot \int_0^\tau B_I \cdot dt \quad (2.20)$$

ergibt. Um den Vorteil der Koordinatentransformation und auch den Zusammenhang zwischen den beiden Koordinatensystemen noch einmal zu veranschaulichen, sind die resultierenden Bewegungen für den hier betrachteten Fall eines onresonant auf dem Spinsystem eingestrahlt 90° Pulses in Abbildung 2.3 dargestellt.

Für ein besseres Verständnis der Pulswirkung und des Offresonanzverhaltens kann insbesondere für Pulse mit einer zeitlich nicht konstanten Pulsamplitude und/oder Offresonanz (*Shaped Pulse*) eine numerische Simulation, basierend auf der ins Pulssystem

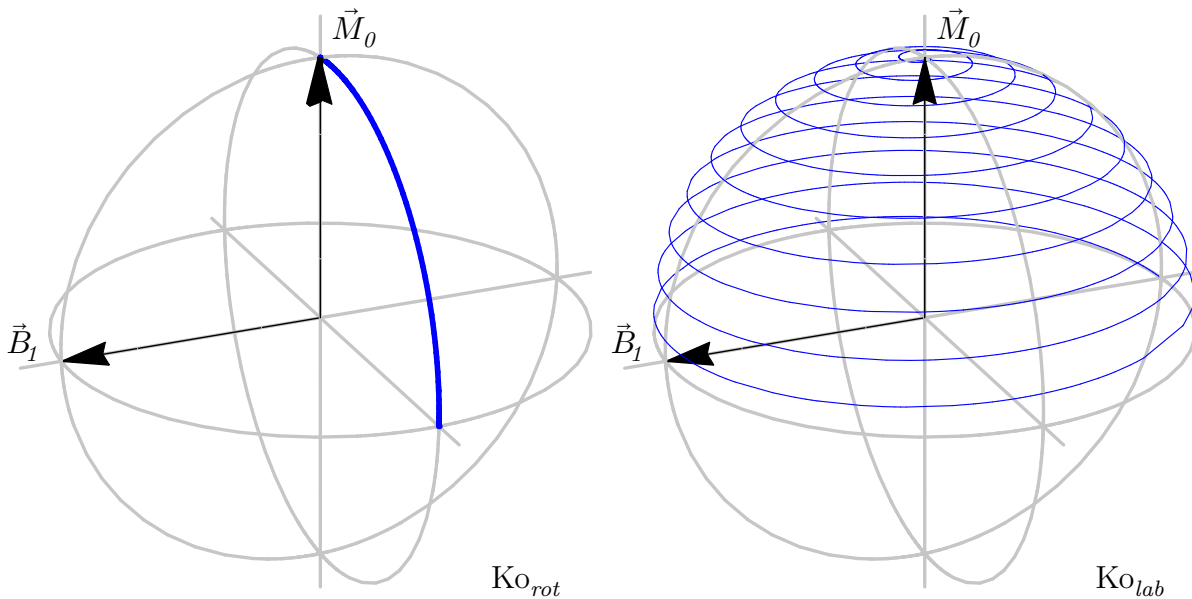


Abbildung 2.3: *Bewegung der Magnetisierung im mitrotierenden Koordinatensystem (Ko_{rot}) und im Koordinatensystem des Labors (Ko_{lab}). Neben der Gleichgewichtsmagnetisierung \vec{M}_0 ist jeweils der Feldvektor des Pulses zum Zeitpunkt Null (\vec{B}_1) mit dargestellt. Während im Laborsystem die Magnetisierung um einen rotierenden Puls präzidiert und damit in diesem Fall eine Spiralbewegung ausübt, ist die Rotation im mitrotierenden Koordinatensystem in eben dieses transformiert. Entsprechend erhält man die resultierende Bewegung des Laborsystems aus der Bewegung im mitrotierenden Koordinatensystem durch Überlagerung derselben mit der in das Koordinatensystem transformierten Rotationsbewegung.*

transformierten Gleichung 2.18, hilfreich sein.

Neben dem Flipwinkel θ spielt in Pulssequenzen auch die Lokalisation der Drehachse von \vec{B}_1 in der Transversalebene, relativ zur Magnetisierung, eine Rolle. Die Pulsphase wird aus praktischen Gründen relativ zum Referenzoszillator des MR-Systems sowohl in den Einheiten Radiant, Grad als auch für Vielfache von 90° durch Angabe der entsprechenden kartesischen Achse (x,y,-x,-y) angegeben.

2.5.2 Spezifische Absorptionsrate

Die durch elektromagnetische Strahlung im biologischen Gewebe dissipierte Energie wird durch die Größe der Spezifische Absorptionsrate (SAR) beschrieben. Diese wird mit der

Tendenz zu immer höheren Magnetfeldstärken und damit höheren Frequenzen aufgrund des Zusammenhangs [14]

$$SAR \sim \frac{\sum_{n=1}^N \frac{\theta_n^2 \omega_{rf_n}^2}{\tau_n}}{\gamma^2 T_R} \quad (2.21)$$

bei der Sequenzentwicklung in der MR immer wichtiger, da der im Bereich der Humananwendung definierte Grenzwert bereits bei Feldstärken von 3 T die Verwendbarkeit einiger relevanter Sequenzen erschwert. In der Gleichung bezeichnet T_R die Zeit, mit der die Messesequenz repetiert wird, ω_{rf_n} die Frequenz, τ_n die Länge und θ_n den Winkel, der durch den n-ten von N Pulsen in der Sequenz erzeugt wird.

2.5.3 Gradienten & Ortskodierung

Ortskodierung mit Gradienten

Eine zweite wichtige Möglichkeit zur Beeinflussung der Magnetisierung besteht im Schalten eines Magnetfeldes \vec{B}_G mit folgender Eigenschaft:

$$\vec{B}_G(\vec{x}, t) = x_i \cdot \vec{G}_{x_i}(t) \text{ mit } \vec{G}_{x_i} = \frac{\partial \vec{B}}{\partial x_i} = \text{const} \cdot \vec{e}_z \text{ und } \vec{x} = \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix} \quad (2.22)$$

zusätzlich zum Hauptfeld \vec{B}_0 . Wie in der MR üblich wird \vec{B}_G im Weiteren kurz als Gradient bezeichnet, dem, bei Bedarf, die Gradientenrichtung als Präposition vorangestellt wird. Durch einen solchen Gradienten wird laut Gleichung 2.9 die Larmorfrequenz linear abhängig vom Ort und erlaubt somit in Kombination mit der Verwendung von HF-Pulsen Ortsinformation über die Verteilung der Magnetisierung auf 3 Arten zu gewinnen:

1. Schichtselektive HF-Pulse: Da durch einen Gradienten die Larmorfrequenz ortsabhängig wird, kann durch einen frequenzselektiven HF-Puls – eine singleresonante Probe vorausgesetzt – der manipulierte Bereich entlang der Gradientenrichtung in gewissen Grenzen frei gewählt werden. Dabei wird die Schichtdicke durch die Gradientenstärke und die Bandbreite des HF-Pulses bestimmt, während die Offresonanz des HF-Pulses die Lage der Schicht bezüglich dem Gradienten definiert.
2. „Readkodierung“: Durch Schalten eines Gradienten während der Signaldetektion wird in der MR die Frequenz der Spins vom Ort abhängig. Mit Hilfe einer Fouriertransformation kann anschließend bestimmt werden, welcher Anteil des so

detektierten Signals von welcher Frequenz und – eine Probe mit nur einer Resonanzlinie vorausgesetzt – damit von welchem Ort entlang der Gradientenrichtung entstammt.

3. „Phasenkodierung“: Schaltet man nach der Anregung der Magnetisierung einen Gradienten für eine bestimmte Zeit, so führt dies zu einer ortsabhängigen Phasenakkumulation entlang der Gradientenrichtung. Aufgrund des linearen Charakters des verwendeten Gradienten bildet die Phase der Magnetisierung somit entlang der Gradientenrichtung eine Helix. Folglich ist die per MR im Anschluss gemessene Signalamplitude ein Maß dafür, wie gut die Wellenlänge der aufgeprägten Helix mit der zu messenden Struktur übereinstimmt. Das Wiederholen dieses Experimentes mit geeigneten unterschiedlichen Gradientenstärken und damit unterschiedlichen Wellenlängen der Helix entspricht damit einer diskreten Fouriertransformation der zu messenden Struktur. Die gemessenen Signalamplituden geben somit wieder, wie gut die Struktur des Messobjektes durch Cosinus- und Sinusfunktionen unterschiedlicher Frequenzen wiedergegeben werden kann.

Im Allgemeinen wird bei Bildgebungsexperimenten eine Kombination aus diesen drei Methoden zur Lokalisierung verwendet, da jede dieser Methoden spezifische Vor- und Nachteile besitzt.

Spoiler & Crusher

Magnetfeldgradienten werden in der MR, neben der Signallokalisation, auch noch für weitere Dinge verwendet. Auf zwei weitere Verwendungen soll hier noch kurz verwiesen werden:

1. Im ersten Fall werden die Magnetfeldgradienten genutzt, um residuale transversale Magnetisierung, die nach einer vorherigen Anregung noch nicht vollständig relaxiert ist, möglichst homogen auf dem Einheitskreis zu verteilen. Dieser, als Spoiler bezeichnete, Magnetfeldgradient unterdrückt somit eine Interferenz residueller Transversalmagnetisierung mit nachfolgend neu erzeugter transversaler Magnetisierung.
2. Im zweiten Fall werden die Magnetfeldgradienten genutzt, um durch nicht perfekte Refokussierungspulse ($\theta \neq 180^\circ$) erzeugte transversale Magnetisierung zu dephasieren und dabei die zu refokussierende transversale Magnetisierung zu erhalten. Diese

Selektion ist durch Platzieren zweier identischer Gradienten unmittelbar um den Refokussierungspuls herum möglich. Folglich heben sich durch die invertierende Wirkung des Refokussierungspulses für die refokussierte transversale Magnetisierung die Gradientenmomente der beiden identischen Gradienten (Crusher) gegenseitig auf. Neu angeregte sowie nicht refokussierte Magnetisierung wird hingegen dephasiert.

Darüber hinausgehende Informationen, sowie weitere Verwendungen für Magnetfeldgradienten in der MR sind zum Beispiel in [38] zu finden.

2.6 MR-Bildgebungssequenzen – Auswahl

Im Folgenden sollen hier einige der üblichen und auch im Rahmen dieser Arbeit genutzten Bildgebungssequenzen vorgestellt werden. Eine weitreichendere Übersicht über in der MR übliche Sequenzen inklusive einer Diskussion über deren Vor- und Nachteile ist in der Literatur zu finden [14, 38].

2.6.1 FLASH

1986 wurde die *Fast Low Angle Shot* (FLASH) Sequenz als eine der ersten schnellen Bildgebungsmethoden eingeführt [39, 40] (Sequenzdiagramm siehe Abbildung 2.4). Diese regt gezielt mit nur kleinen Pulswinkeln die Magnetisierung an, um somit bei reduzierten Wartezeiten (TR) ein höheres *Steady State Signal* (Z_F) zu erhalten. Dieses ist dabei für die FLASH Sequenz gegeben durch [38]:

$$Z_F \sim M_0 \sin \theta \frac{1 - e^{-\frac{TR}{T_1}}}{1 - \cos \theta e^{-\frac{TR}{T_1}}} \quad (2.23)$$

Entsprechend ergibt sich für eine gegebene Repetitionszeit (TR) und ein gegebenes T_1 ein Signalmaximum für den sogenannten Ernstwinkel: $\theta_E = \arccos(e^{-TR/T_1})$. Als reine Gradientenecho Sequenz ist das MR-Signal der FLASH jedoch sensitiv auf statische Feldinhomogenitäten, wie Suszeptibilitätsunterschiede in der Probe oder einem inhomogenen B_0 Feld.

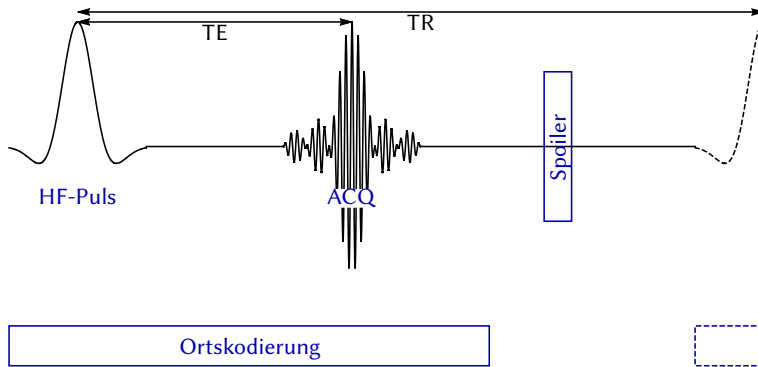


Abbildung 2.4: Sequenzdiagramm einer FLASH Sequenz (schematisch). Um im Vergleich zu T_1 schnell repetieren zu können, wird Magnetisierung mit einem kleinen Flipwinkel angeregt. Vor jeder erneuten Anregung wird verbliebene Magnetisierung gespoilt.

2.6.2 bSSFP

Während bei der FLASH Sequenz die residuale Transversalmagnetisierung vor jeder neuen Anregung gespoilt wird, versucht man diese bei der *balanced Steady State Free Precession* (bSSFP) Sequenz möglichst effektiv für die folgenden Akquisitionen zu nutzen. Erstmals vorgeschlagen wurde diese Sequenz 1986 durch Oppelt et al. [41] unter dem Namen *Fast Imaging with Steady State Precession* (FISP). Deren Nutzung scheiterte jedoch zunächst an der verfügbaren Hardware, so dass eine Abwandlung derselben mit dem Akronym FISP belegt wurde.

Das Signal der bSSFP (Z_{bSSFP}), deren Sequenzdiagramm in Abbildung 2.5 zu finden ist, ist für kurze TR (d.h.: $TR \ll T_2 < T_1$) wie folgt gegeben [42]:

$$Z_{bSSFP} \approx \frac{M_0 \sin \theta \sin(\phi/2)}{\frac{T_1}{T_2} (1 - \cos \theta) + \sin(\phi/2)^2 (1 + \cos \theta)} e^{-\frac{TE}{T_2}} \quad (2.24)$$

Hierbei bezeichnet ϕ die aufgrund von Offresonanz ω_{off} über ein TR akkumulierte

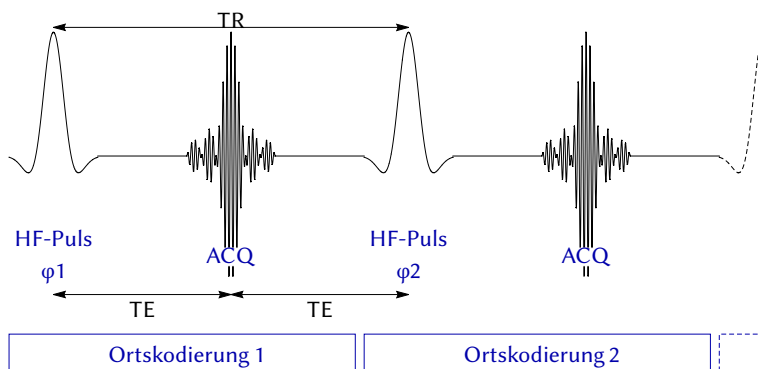


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung des Sequenzdiagramms einer bSSFP Sequenz (jede Ortskodierung vollständig ausbalanciert). Die relative Frequenzposition der Bandingartefakte wird durch den Phasenzzyklus ($\varphi_1, \varphi_2, \dots$) bestimmt, mit dem die HF-Pulse gegeben werden.

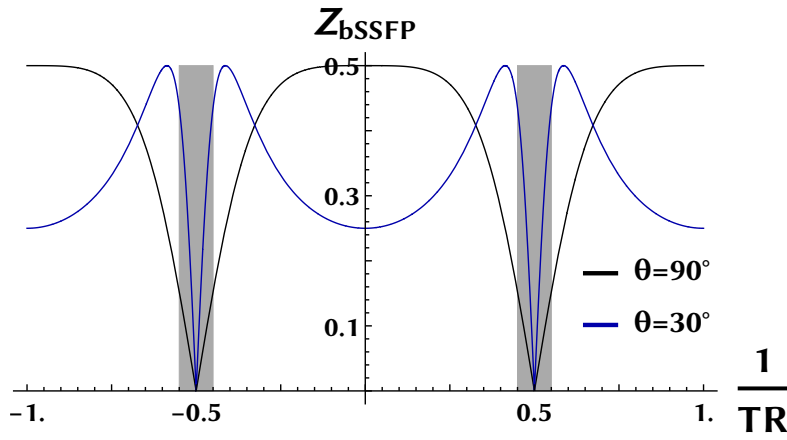


Abbildung 2.6: Aufgetragen ist die Signalamplitude der bSSFP Sequenz für $\Delta\varphi=\pi$ und $T_2=T_1$ in Einheiten von M_0 über der Offresonanz in relativen Einheiten von $\frac{1}{TR}$.

Phase inklusive dem Inkrement $\Delta\varphi$ um den die Pulsphase aufeinanderfolgender HF-Pulse verändert wurde: $\phi = \omega_{off} \cdot TR + \Delta\varphi$. Entsprechend ergibt sich ein Signalmaximum für die bSSFP Sequenz für $\theta = \arccos \frac{T_1 - T_2}{T_1 + T_2}$, so dass für den idealen Fall $T_2 = T_1$ die bSSFP Sequenz unabhängig von TR eine Signalamplitude von bis zu $\frac{1}{2}M_0$ liefern kann. Dieser potentiell sehr effizienten Nutzung der Magnetisierung steht jedoch das Problem gegenüber, dass wie in Abbildung 2.6 zu sehen ist, die Signalamplitude stark von der Offresonanz der Probe abhängig ist. Hierbei werden durch die grauen Balken die Offresonanzbereiche hervorgehoben in denen die Sensitivität der bSSFP Sequenz auf Null abfällt. Diese Bereiche sind entsprechend in mit bSSFP-Sequenzen erstellten Bildern als schwarze Linien, den sogenannten Banding-Artefakten, zu erkennen. Durch die mittlerweile erzielten technologischen Fortschritte zur Verkürzung von TR, zur Kompensation von Wirbelströmen und zur Verbesserung der B_0 -Homogenität konnte die Problematik der Banding-Artefakte reduziert und damit die Verwendbarkeit dieser Sequenz verbessert werden. Hierzu trägt auch bei, dass durch Kombination von bSSFP Daten, die mit unterschiedlichen Phaseninkrementen $\Delta\varphi$ gemessen wurden, der Einfluß der Bandingartefakte im rekonstruierten Bild reduziert bis unterdrückt werden kann [38].

2.6.3 MSE/TSE

Spin Echos erlauben die Auswirkungen von statischen Inhomogenitäten, von Diffusionseffekten als auch von Kopplungen zwischen Spins auf die messbare Magnetisierung zum Teil zu kompensieren [43, 44]. Entsprechend wurde schon früh die Fähigkeit von Multiecho Sequenzen zur T_2 Bestimmung gezeigt, sowie zusätzlich deren Fähigkeit Signalverlust durch gerichteten Fluss/Konvektion zum Teil zu kompensieren [44]. Um die

kodierichtung. Entsprechend liefert das MR-Signal der CSI-Sequenzen orts aufgelöste spektrale Informationen. Hierdurch werden *chemical shift*-Artefakte vermieden, welche bei Verwendung von Readkodierung und gleichzeitiger Anregung von Substanzen mit unterschiedlichen chemischen Verschiebungen entstehen. Allerdings erkauft man dies zum einen durch deutlich längere Messzeiten, da für jeden Raumpunkt ein einzelner Phasenkodierschritt erforderlich ist und zum anderen durch potentielle Einfaltungsartefakte, da Phasenkodierung periodisch mit 2π ist und nicht wie Readkodierung ein „Ausschneiden“ des Field of Views (FOV) aus dem angeregten Bereich der Probe erlaubt. Da somit die Readkodierung nur durch eine zusätzlich Phasenkodierung zu ersetzen ist, kann generell jede Bildgebungssequenz durch eine entsprechende Anpassung auch als CSI-Sequenz genutzt werden.

2.6.5 Akquisitionswichtung

Wie bereits im Kapitel 2.5.3 angedeutet, stellen die per MR akquirierten Daten die Fouriertransformierte der tatsächlichen Objektfunktion dar. Da allerdings für jede Messung nur eine endliche Zeit zur Verfügung steht, kann folglich nur Information über eine begrenzte Anzahl an Frequenzen gesammelt werden, so dass das aus den MR-Daten erzeugte Bild im Allgemeinen nur eine Näherung der ursprünglichen Objektfunktion ist. Mathematisch ist das aus den akquirierten Daten erzeugte Bild durch eine Faltung der tatsächlichen Objektfunktion mit der sogenannten Pointspreadfunktion (PSF) gegeben. Die PSF repräsentiert dabei die Abbildung eines idealisierten punktförmiges Objekt durch das betrachtete System. Die PSF erhält man in der MR aus der Fouriertransformierten des verwendeten Akquisitionsschemas – der Information, wann und wie oft welche Frequenzen akquiriert werden. Entsprechend ist die PSF für ein rein phasenkodiertes Experiment, bei dem jede akquirierte Frequenz gleich oft und zur selben Echozeit gemessen wurde, die Fouriertransformierte dieser so im Frequenzraum definierten Kastenfunktion und damit eine Sinc-Funktion. Folglich muss das einem bestimmten Punkt zugeordnet Signal nicht zwangsweise aus diesem stammen. Solange jedoch im Rahmen der Messauflösung die Objektfunktion keine großen Sprünge aufweist, resultieren daraus keine nennenswerten Abbildungsfehler.

Da allerdings bei der Bildgebung von Perfluorkarbonen als Marker das Messsignal mehrfach gemittelt werden muss, um ein ausreichendes SNR zu erreichen, steht meist nicht mehr genug Messzeit für die Ortskodierung zur Verfügung, um eine entsprechend

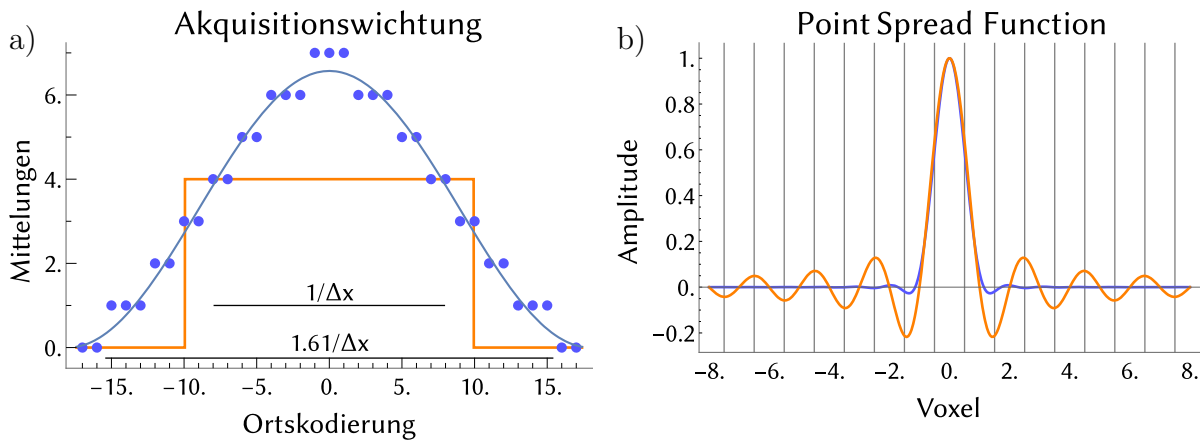


Abbildung 2.8: Akquisitionswichtung (AQW) und zugehörige Pointspreadfunktion (PSF) analog zu [47]. Die blau dargestellte AQW entspricht dabei dem z -Profil der im Kapitel Bildgebung von Infektionen für die zur Therapie Kontrolle mit PFC verwendeten akquisitionsgewichteten 3D-bSSFP-CSI-Messung, wobei die Punkte die messtechnisch realisierte Mittelungszahl wiedergeben. Diese wird bei der Bildrekonstruktion durch entsprechende Korrekturfaktoren dem Sollverlauf angepasst. Die Breite und die Höhe des für die AQW genutzten Hanningwindows (blau) ist so gewählt, dass Messzeit, Auflösung (\sim gleicher Signalverlauf im zentralen Voxel der PSF) und damit SNR identisch mit der „ungewichteten“ Messung (orange) ist. Die aus der veränderten Wichtung resultierende PSF (blau), ist im Vergleich zu der „ungewichteten“ Messung resultierenden PSF (orange) deutlich lokalisierter.

hohe Ortsauflösung zu erreichen. Entsprechend ist es im Kontext der ^{19}F -MR sinnvoll, das Akquisitionsschema anzupassen, um eine verbesserte PSF zu erreichen. Für die im Bereich der Infektionsbildgebung (Kapitel 3) verwendete Fluorbildgebung wurde entsprechend der Arbeit von Pohmann et al. [47] als Akquisitionsschema, anstelle eines Kastenprofils (siehe Abbildung 2.8), ein auflösungsangepasstes Hanning-Fenster (siehe Abbildung 2.8) gewählt. Die sich aus dem Hanning-Fenster ergebende PSF weist gegenüber der sich aus dem Kastenprofil ergebenden PSF eine deutlich lokalisiertere Signalverteilung (siehe Abbildung 2.8) auf.

2.7 Quantifizierung

Neben der reinen Darstellung der Struktur eines Messobjektes sollen häufig auch Messergebnisse quantitativ miteinander verglichen werden oder anhand der Messergebnisse

Rückschlüsse auf die zugrundeliegenden signalbestimmenden physikalischen Größen wie

- Spindichte
- T_1 , T_2 und T_2^* -Relaxationszeit
- Chemische Umgebung der Spins, chemische Verschiebung, ...

gezogen werden.

Da jedoch eine exakte Charakterisierung der modularen Empfangskette, sowie der Wechselwirkungen in dem sich gegenseitig beeinflussenden System aus Probe und MR-Spule sowie Probe und umgebenden Magnetfeld nur mit grossem Aufwand möglich ist, wird in der MR üblicherweise keine Kalibrierung des Gesamtsystems vorgenommen. Stattdessen werden normalerweise die Messdaten mit denen einer, bezüglich der gewünschten Größe genau charakterisierten, Referenz verglichen, um Rückschlüsse auf die zugehörigen Absolutwerte für die Probe zu erlauben.

Im Rahmen dieser Arbeit werden lediglich Aussagen über Substanzmengen und Relaxationszeiten benötigt, entsprechend soll im Weiteren jeweils ein hierfür üblicher Ansatz aufgezeigt werden.

Zur Quantifizierung der in einer Probe vorhandenen Anzahl an Atomen eines MR-aktiven Kerns wird in der MR Bildgebung eine bezüglich der Spindichte und der Gesamtzahl an Atomen dieses MR-aktiven Kerns charakterisierte Referenz verwendet. Idealerweise wird hierbei für die Referenz dieselbe Substanz wie in der Probe verwendet, um Signalunterschiede aufgrund unterschiedlicher Relaxationszeiten auf ein Minimum zu reduzieren. Diese Referenz wird neben der Probe innerhalb der Messspule im MR System platziert und anschließend zusammen mit der Probe anhand einer orts aufgelösten spindichtegewichteten Messequenz untersucht. Durch den spindichtegewichteten Datensatz ist sodann die Anzahl N der in der Probe detektierten MR-aktiven Kerne direkt über das Verhältnis der Signalamplituden Z in der Probe ($Prob$) und der Referenz (Ref) wie folgt gegeben:

$$N_{Prob} = \frac{Z_{Prob} N_{Ref}}{Z_{Ref}} \quad (2.25)$$

Um diesen einfachen Zusammenhang nutzen zu können, muss jedoch sichergestellt sein, dass das Verhältnis der Signalamplituden aus Probe und Referenz unabhängig ist von den übrigen für das Signal in der MR relevanten Größen (Relaxationsverhalten, Empfindlichkeit der Messspule β_1 , magnetische Feldstärke der Sendespule B_1^+ , Homogenität des Hauptmagnetfeldes B_0 , etc.). Um dies sicherzustellen, sollten:

- die für das MR-Signal relevanten Größen für Probe und Referenz möglichst identisch sein. (z.B. vergleichbare Relaxationszeiten: gleiche Substanz in Probe und Referenz)
- die Signalamplituden durch Wahl der Messequenz und der verwendeten Messparameter maximal insensitiv bezüglich der kritischsten Größe sein. (z.B. Signalamplitude nahezu unabhängig von Relaxationszeiten: im Vergleich zu den Relaxationszeiten kurze Echozeiten)

Für alle Größen für die weder der erste noch der zweite Punkt gilt, muss die entsprechende Größe orts aufgelöst ausgemessen werden, um anschließend eine mathematische Korrektur der Signalamplituden zu ermöglichen.

Angesichts der relativ geringen Signalamplituden in der ^{19}F -MR und den damit einhergehenden langen Messzeiten, wurde bei der Wahl der Messequenz primär Wert auf hohe Sensitivität gelegt und daher die bSSFP Sequenz gewählt. Hierdurch wiesen trotz eines zweier Phasenzykles die von der Referenz erhalten Signalamplituden des öfteren aufgrund von Inhomogenitäten im B_0 Feld bSSFP typische Signalverläufe auf (Banding-Artefakte siehe Kapitel 2.6.2). Folglich wurde im Rahmen dieser Arbeit keine absolute Quantifizierung durchgeführt, da die Messdaten trotz der Sensitivität der Messequenz und der hohen Mittlungszahl nur geringe SNR Werte aufwiesen, und die für eine mathematische Korrektur der Signalamplituden benötigten Parameterkarten nicht in dem für das Tierexperiment vertretbaren Zeitrahmen zu erhalten waren.

Da für die in dieser Arbeit relevanten Aussagen bereits semi-quantitatives Wissen über die Substanzmengenverhältnisse zwischen den unterschiedlichen Proben ausreicht, wurde anstelle einer Normierung auf ein Referenzsignal das Signal auf das Hintergrundrauschen normiert (SNR). Im Falle von probendominierten Rauschens weist das SNR gemäß Gleichung 2.13 folgende Abhängigkeit auf:

$$SNR = \frac{M_T V}{\sqrt{4kTC\delta f}} \quad (2.26)$$

Entsprechend muß, um anhand des SNR direkt auf die relativen Substanzmengen schließen zu können,

- das Rauschen probendominiert sein.
- die Vergleichbarkeit der elektromagnetischen Eigenschaften (C) zwischen den Proben gegeben sein.

- die Proben mit der identischen Sequenz und identischen Sequenzparametern ($V/\delta f$) – inklusive gleicher Pulswinkel – gemessen werden, um vergleichbare transversale Magnetisierung (M_T) zu erzeugen.
- Die relative B_1 -Feldverteilung im relevanten Bereich als hinreichend homogen angenommen werden können.

Der erste Punkt wird üblicherweise erfüllt sobald in dem für diese Arbeit genutzten Magnetfeldbereich mit einer an die Probe angepassten Spule gemessen wird, während der zweite fast automatisch erfüllt ist, wenn eine Verlaufsstudie gemacht werden soll, da hier üblicherweise vergleichbare Proben verwendet werden. Der dritte Punkt sorgt dafür, dass die Signalamplitude aller Messungen identische Abhängigkeiten gegenüber den MR-Relevanten Größen (Relaxationszeiten, B_0 , etc.) aufweist und ist generell sinnvoll, da hierdurch unnötige Abhängigkeiten umgangen werden können, während zugleich jedesmal mit maximaler Effizienz die Messdaten aufgenommen werden. Wird für die Messungen zudem lediglich der mittlere Bereich eines Birdcages verwendet, kann die B_1 -Feldverteilung in sehr guter Näherung als homogen betrachtet werden – womit auch der letzte Punkt erfüllt wird.

Da im Rahmen der Arbeit auch Relaxationszeiten zu bestimmen waren, sei angemerkt, dass diese über den relativen Signalverlauf im Zeitverlauf bestimmt werden, und somit im Gegensatz zu den meisten MR-Parametern keiner Absolutreferenz bedürfen. Die übrigen Punkte die bei der absoluten Quantifizierung der Substanzmenge aufgeführt werden, müssen jedoch weiterhin beachtet werden. Aufgrund der Signalabhängigkeit wird üblicherweise zur Bestimmung der T_2 -Relaxationszeiten eine Multi Spin Echo Sequenz (Kapitel 2.6.3) herangezogen, da deren Zeitverlauf maximal durch T_2 geprägt ist.

Weitergehende Informationen zur Quantifizierung sind in der entsprechenden Literatur [14] zu finden.

3 Bildgebung von Infektionen

Die folgenden Entwicklungen und Untersuchungen sind in Zusammenarbeit mit Tobias Hertlein (Arbeitsgruppe Ohlsen, Institut für molekulare Infektionsbiologie der Universität Würzburg) entstanden und wurden bereits in Teilen veröffentlicht [E1, E2]. Der MR assoziierte Anteil bis hin zur zugehörigen Datenauswertung ist Bestandteil dieser Doktorarbeit. Weitergehende Informationen zum betrachteten biologischen Modell können entsprechend in der Dissertation von Tobias Hertlein nachgelesen werden [48].

3.1 Einleitung

Neben der Biolumineszenz Bildgebung (BLI), welche die Erkennung von lumineszierenden Bakterien in mehreren Tiermodellen [49, 50] ermöglicht, wurden in den letzten Jahren auch weitere Bildgebungsmethoden entwickelt, um nichtinvasiv Infektionen darzustellen, wie zum Beispiel die Positronen Emissions Tomographie (PET), welche Entzündungen und Infektionen unter Einsatz von Fluorine-18-deoxyglucose oder anderen fluorinierten Pyrimidine-Nukleosiden [51, 52] visualisieren kann.

In diesem Kontext ist auch die Magnetresonanztomographie (MRT) interessant, welche nicht nur bei vergleichsweise hoher örtlicher Auflösung und gutem Weichteilkontrast Zugang zu Informationen über das umliegende Gewebe bietet, sondern auch in der Lage ist, Ödeme [53, 54] und Entzündungen [55, 56] nativ zu detektieren. Zwar sind die per nativer protonenbasierter MRT detektierbaren Entzündungsreaktionen, wie Ansammlungen von Flüssigkeiten im Zellzwischenraum, unspezifisch und würden zu Ungenauigkeiten bei der Diagnose von postoperativen und posttraumatischen Infektionen [57] führen, jedoch kann unter Verwendung eines Kontrastmittels, wie kürzlich mit *Ultrasmall Paramagnetic Ironoxides* Nanopartikeln (USPIO) gezeigt werden konnte, eine spezifischere Darstellung von Entzündungen mit Hilfe der MRT erreicht werden [53].

Dieses Kontrastmittel wird nach einer intravenösen Gabe im Blutstrom durch Immunzellen (Monozyten/Makrophagen) aufgenommen, die in Teilen zum Entzündungsherd

wandern und dort eine Ansammlung von Eisenoxidpartikeln verursachen. Da der Suszeptibilitätseffekt von Eisenoxidpartikeln im Allgemeinen zu einem negativen Kontrast in MR-Bildern führt, kann man auf diesen zwischen Entzündung, Ödem und umgebendem Gewebe unterscheiden [53, 58]. Vorhergehende Arbeiten mit USPIO-Partikeln zeigen Signalverluste im Bereich um den Abszess in T_2 - und in T_2^* -gewichteten Bildern während der akuten und der chronischen Phase einer Weichteilgewebsinfektion mit *Staphylococcus aureus* [58]. Der auf MR-Bildern üblicherweise genutzte negative Kontrast für superparamagnetische Substanzen macht jedoch deren Identifikation manchmal schwierig bis unmöglich. Dies ist zum Beispiel in der Lunge der Fall, da diese bereits von sich aus wenig Signal liefert. An dieser Stelle empfiehlt sich ein Blick auf die kürzlich als MRT-Marker wiederentdeckten nanoemulgierten Perfluorkarbone (PFC) [22], welche sowohl chemisch als auch biologisch inert sind und deren Fluoratome aufgrund der natürlichen Isotopenhäufigkeit zu 100 % (siehe Tabelle 2.1) per MR detektierbar sind. Die hohe Empfindlichkeit des MR-Systems für Fluor (etwa 88 % der Sensitivität von Protonen – vgl. Tabelle 2.1 und Gleichung 2.13), die kurzen Relaxationszeiten und die geringe natürliche Häufigkeit des endogen in biologischen Systemen vorkommenden Fluors (siehe Kapitel 2.3) erlaubt eine hintergrundfreie und damit eindeutige Detektion von als Marker verabreichtem Fluor [21]. Da aufgrund der Verwendung als Marker relativ kleine Mengen an Fluor (insbesondere im Vergleich zu der Anzahl an vorhandenen Protonen) nachzuweisen sind, führt die Eineindeutigkeit der Detektion auch zum größten Problem der fluorbasierten MRT – niedrige Signalamplituden und damit einhergehend lange Messzeiten, um dies teilweise zu kompensieren. Dennoch wurde bereits per MRT die Migration von *ex vivo* mit PFC beladenen T-Zellen in einem Diabetes-Mausmodell [36], sowie die Migration von *ex vivo* mit PFC beladenen dendritischen Zellen zu den Lymphknoten [32] *in vivo* verfolgt. Außerdem führt ebenso wie bei den USPIO-Partikeln die Gabe von PFC in den Blutstrom zu einer Aufnahme (Phagozytose) derselben durch das Immunsystem (Monozyten- beziehungsweise Makrophagensystems und in geringerem Umfang durch Neutrophile) [30, 59], so dass eine Akkumulierung dieser Immunzellen am Entzündungsherd nach einer kardialen Mangel durchblutung [30] oder Lungenentzündung [59] durch ^{19}F -MRT dargestellt werden konnten.

Ziel unserer Arbeit war es, die Marker und Kontrastmittel zur Untersuchung von Infektionen im Zeitverlauf zu etablieren. Entsprechend war zunächst zu überprüfen, ob die ^{19}F -MRT, die prinzipiell eine eindeutige Detektion erlaubt, in Kombination mit

dem Marker PFC oder die ^1H -MRT, die aufgrund der höheren Signalpegel eine höhere Ortsauflösung gestattet, in Kombination mit dem Kontrastmittel Eisenoxidnanopartikel besser für die Infektionsdarstellung geeignet ist. Als Referenzinfektion wurde ein Tiermodell für *Staphylococcus aureus* Infektionen etabliert und die Ansammlung von Fluor sowie Eisenoxidpartikeln nach Gabe derselben während der akuten als auch chronischen Infektionsphase beobachtet. Anschließend wurden die PFC-Nanoemulsionen verwendet, um in einer *Proof of Concept*-Verlaufsstudie zu testen, ob sich die PFC-gestützte MRT eignet den Erfolg einer Antibiotikatherapie darzustellen. Dabei sollte geprüft werden, ob die MR in der Lage ist, quantitative Informationen über die Schwere der Infektion zu liefern. Als Referenz diente hierbei die Biolumineszenzbildgebung und die Bestimmung der *koloniebildenden Einheiten* (cfu), wobei letzteres der Goldstandard zur Bestimmung der Bakterienbelastung ist.

3.2 Materialien und Methoden

Alle Tierexperimente waren durch die Regierung von Unterfranken genehmigt (54-2531.01-42/06 und 55.2531.01-06/12) und wurden in Übereinstimmung mit dem deutschen Tierschutzrecht durchgeführt. Die Tiere wurden unter standardisierten Lichtbedingungen mit freiem Zugang zu Nahrung und Wasser gehalten.

Marker/Kontrastmittel & Antibiotika

Die aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Schenk (anorganischen Chemie der Uni Würzburg) erhaltenen cross-linked Eisenoxidpartikeln (CLIO) (\O 2–3 nm) waren mit einer Dextranhülle (\O 30 nm) versehen und in einer mit Phosphat gepufferten Salzlösung auf eine Konzentration von 6.8 mg/g emulgiert. Hiervon wurde den Tieren der CLIO-Gruppen jeweils 16.8 mg/kg Eisenoxid/ Körpergewicht intravenös verabreicht, welches auf ein Injektionsvolumen von $100 \mu\text{l}$ verdünnt wurde. Vom auf 0.2 ml/ml verdünnten und emulgierten PFC-Marker (VS1000H, Celsense, Inc., Pittsburgh, PA, USA) mit einem mittleren Tröpfchendurchmesser von 145 nm wurde den PFC-Gruppen jeweils $100 \mu\text{l}$ intravenös verabreicht. Die von Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, USA) bezogenen Antibiotika Vancomycin und Linezolid wurden jeweils in steriler 0.9 % NaCl Lösung aufgenommen.

Tiermodell

Um die Nutzbarkeit der MR zur Visualisierung von Infektionen zu untersuchen, wurde ein Mausmodell mit einer *S. aureus* Oberschenkelinfektion gewählt, da dieses einen lokalisierten voluminösen Abszess bildet [60]. Im Rahmen dieser Arbeit wurden weibliche Balb/C Mäuse (18–22 g, Charles-River, Deutschland) verwendet. 50 μl 0.9 % NaCl Lösung mit darin suspendierten Bakterien (1×10^8 cfu pro Infektionsdosis) wurden den narkotisierten Tieren (1.5 % Isofluran in O_2) in den linken Oberschenkelmuskel injiziert. Als Referenz für unspezifische Akkumulation des Markers/ Kontrastmittels wurde jeweils 50 μl sterile NaCl Lösung in den rechten Oberschenkelmuskel injiziert. Die suspendierten *Staphylococcus aureus* Xen 29 (Xenogen, USA) Bakterien wurden in flüssigem B-Medium durch Inkubation über Nacht vorbereitet. Anschließend wurden die gewaschenen Bakterien in 0.9 % NaCl Lösung resuspendiert und sodann auf die Konzentration von 2×10^9 cfu per Milliliter verdünnt. Die Infektionsdosis wurde anhand der optischen Dichte bestimmt und durch Ausplattieren von Verdünnungen auf Agarplatten kontrolliert.

Vergleich von PFC & CLIO

Um das Akkumulationsverhalten und damit die resultierende Detektierbarkeit des Infektionsbereichs per MR mit Hilfe von CLIO und PFC zu bewerten, erhielten zwei Gruppen à 5 Tieren PFC-Nanoemulsion und zwei Gruppen à 3 Tieren CLIO-Nanoemulsionen während der akuten bzw. chronischen Phase der Infektion. Die entsprechende Emulsion wurde, den zur akuten Phase zugeordneten Tieren, intravenös am zweiten Tag nach der Infektion (p.i.) verabreicht (Abbildung 3.1A). Tieren, die der chronischen Phase zugeordnet wurden, erhielten die entsprechende Emulsion am achten Tag nach der Infektion (Abbildung 3.1B). In beiden Fällen wurden die Tiere 24 h nach Marker-/ Kontrastmittelgabe mit MRT untersucht. Um das Akkumulationsverhalten von PFC im Zeitverlauf darzustellen, wurde einer 5. Gruppe (3 Tiere) PFC-Emulsion 48 h nach der Infektion verabreicht und der Abszessbereich mehrmals im Zeitraum von Tag 3 bis Tag 9 nach der Infektion mit MR gemessen (Abbildung 3.1C).

Therapiekontrolle mit PFC

Zur Evaluierung der PFC-gestützten MRT als Werkzeug zur Therapiekontrolle, erhielten die Tiere zwei Stunden nach der Infektion und anschließend jeweils alle 12 h eine

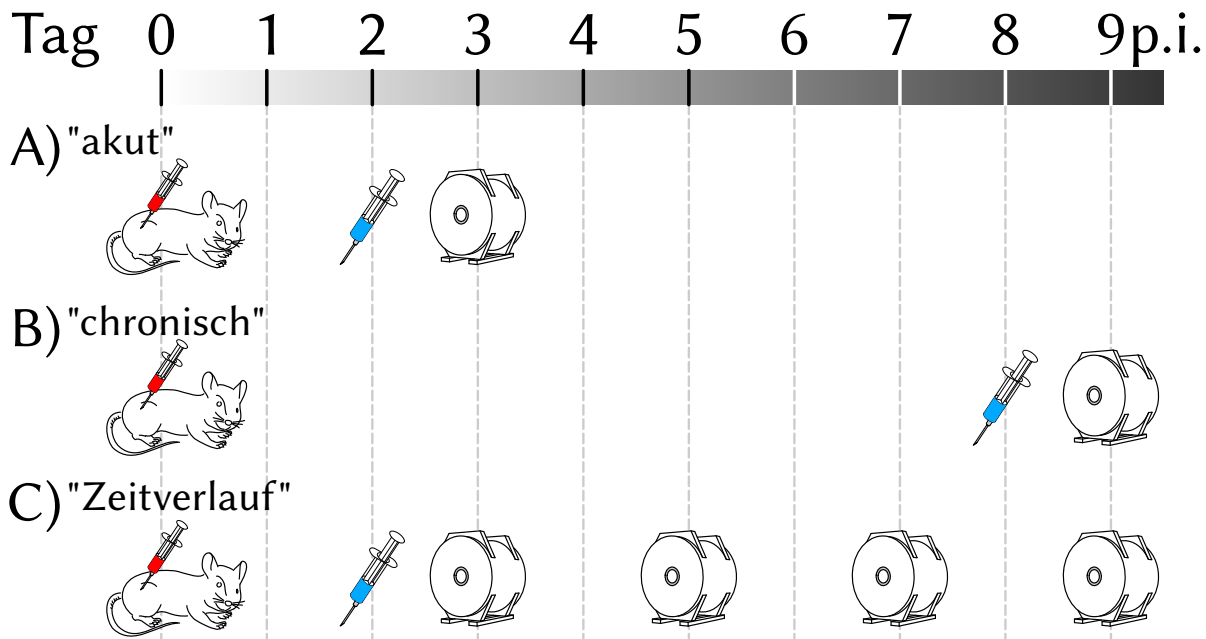


Abbildung 3.1: Schematisches Behandlungsprotokoll für die Darstellung der akuten und chronischen Infektion sowie der Infektion im Zeitverlauf. Symbolerklärung: – Setzen der Infektion im Oberschenkel; – Gabe von PFC bzw. CLIO in Schwanzvene; – MRT Untersuchung.

Injektion, je nach Gruppe, mit einem der folgenden Therapeutika – 50 μl 0.9% NaCl (6 Tiere), 15 mg/kg Vancomycin (5 Tiere) oder 7.5 mg/kg Linezolid (5 Tiere). Per Biolumineszenzbildgebung wurden die durch den verwendeten lumineszierenden Bakterienstamm *Staphylococcus aureus* Xen 29 [61] emittierten Photonen 15 Minuten nach der Infektion und anschließend alle 24 Stunden detektiert. Als Nullreferenz wurde zudem jeweils vor der Infektion ein Biolumineszenzbild aufgenommen. Am zweiten Tag nach der Infektion erhielten alle Tiere eine Injektion mit 100 μl PFC-Emulsion. Die Akkumulation der PFC im Bereich der Infektion wurde per fluorbasierter MRT an Tag 3 und an Tag 7 nach der Infektion untersucht. Im Anschluss an die letzte MRT Messung am Tag 7 wurden die Tiere durch Inhalation von reinem CO_2 geopfert. Ein schematischer Überblick über das Behandlungsprotokoll ist in Abbildung 3.2 zu finden.

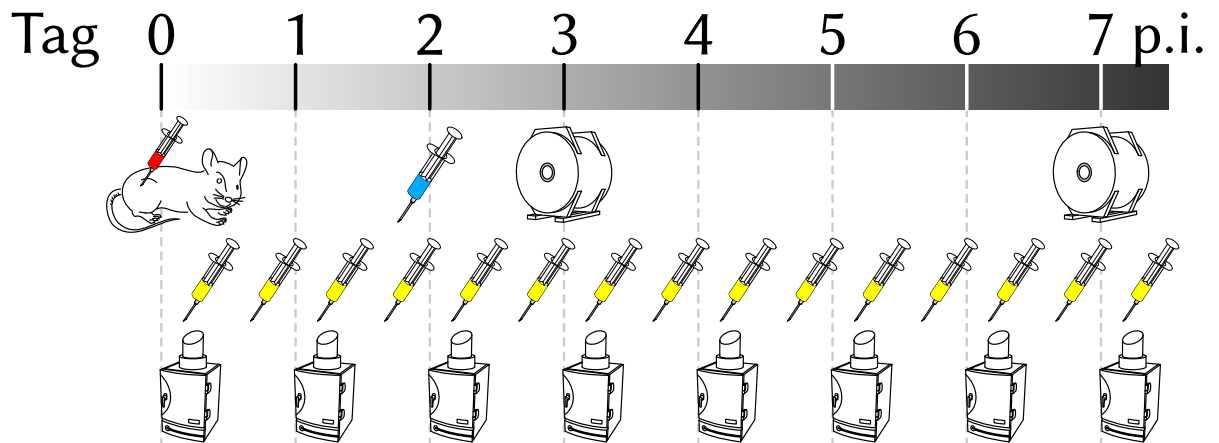


Abbildung 3.2: Schematisches Behandlungsprotokoll für PFC-gestützte Therapiekontrolle. Symbolerklärung: – Setzen der Infektion im Oberschenkel; – Gabe von PFC in Schwanzvene; – Gabe des Therapeutikums zu den Zeitpunkten $(2h + n \times 12h)p.i.$ mit $n \in \mathbb{N}_0$; – MRT Untersuchung; – BLI Untersuchung.

MRT Messungen

Alle Messungen wurden am 7 Tesla Biospec (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Germany) bei Raumtemperatur mithilfe eines, am Lehrstuhl gebauten, abstimmbaren doppelresonanten Birdcages (^1H und ^{19}F) durchgeführt. Während den Messungen wurden die Tiere aufgrund von Sicherheitsbestimmungen in einem am Lehrstuhl bereits vorhandenen S2 zugelassenen Messcontainer (siehe Abbildung 3.3) untergebracht. Die Vitalzeichen der Tiere wurden für die Dauer der Messungen über ein im Herzbereich platziertes Luftdruckkissen überwacht, während die Tiere durch ein einprozentiges Isofluran-Sauerstoffgemisch narkotisiert gehalten wurden. Um ein Auskühlen der Tiere zu vermeiden, wurde die zugeführte Luft über ein elektrisch beheiztes Rohr unmittelbar vor Eintritt in den Container erwärmt. Die ursprünglich verwendete Lösung, die Tiere durch zwei außen am Container angebrachte Heizpads zu erwärmen, hatte sich zuvor bei den MRT Messungen als stark signalabschirmend herausgestellt.

Um die mit der Nutzung von den Perfluorkarbonen als Marker einhergehenden geringen Substanzmengen in der MR effektiv zu detektieren, wurde aufgrund des für die bSSFP-Sequenz günstigen T_1/T_2 -Verhältnisses (siehe Kapitel 2.6.2 und 2.3.2) der Perfluorkarbonate zur Detektion eine akquisitionsgewichtete bSSFP Sequenz gewählt. Diese wurde in Form einer CSI (bSSFP-CSI) [62] genutzt, da diese nicht nur eine hohe Sensitivität liefert, sondern zugleich die Möglichkeit bietet, anhand der frequenz aufgelösten Detektion zwi-

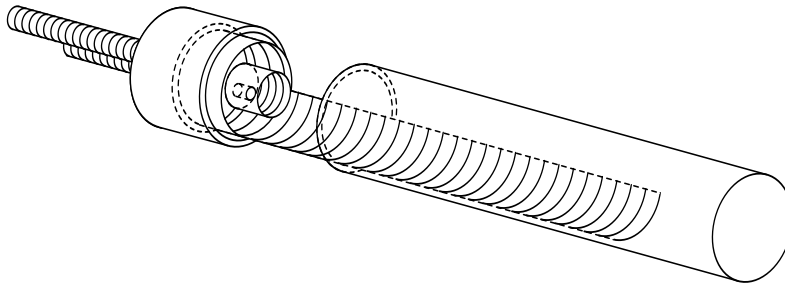


Abbildung 3.3: *S2 Messcontainer*: Über die beiden Anschlüsse wird die Sauerstoff-Isofluran Versorgung für die Maus realisiert. Die Vitalfunktionen werden über einen im Container platzierten Druckballon abgegriffen. Ein Auskühlen der Maus wird durch eine Anwärmung der Zuluft sichergestellt.

schen unterschiedlichen Perfluorkarbonen zu unterscheiden. Auch wenn diese Option im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht genutzt wurde, ermöglichte die spektrale Auflösung durch selektives pixelweises Summieren des Datensatz über die ^{19}F -Spektrallinie hinweg die Erzeugung eines rein ortskodierten Datensatzes mit einer effektiv sehr kleinen Auslesebandbreite und damit minimaler Rauschamplitude (2.13). Um dabei den Einfluss der für die bSSFP typischen Banding-Artefakte 2.6.2 auf die Signalamplitude klein zu halten, wurde die Messung mit zwei unterschiedlichen Phaseninkrementen $\Delta\varphi$ (0° vs. 180°) aufgenommen und deren Daten unter Verwendung der *sum of squares* -Methode kombiniert.

Vergleich von PFC & CLIO

Protonenbilder wurden als anatomische Referenz unter Verwendung einer *Turbo Spin Echo* (TSE) -Sequenz mit folgenden Messparametern aufgenommen: Turbofaktor: 4; TE: 6.7 ms; *centric encoded* \Rightarrow TE_{eff} : 13.4 ms; TR: 2.5 s; FOV: $(25 \times 25) \text{ mm}^2$; Matrix: 200×200 ; Schichtdicke: 1 mm; 16 Schichten interlaced; NA: 2. — Da die am Biospec unter ParaVision 4.0 installierte Version der MSE-Sequenz im Multi-Spin-Echo-Modus zu nicht belastbaren Signalverläufen führte, wurde zur ortsaufgelösten Bestimmung der T_2 -Zeiten eine modifizierte TSE-Sequenz im „MSE“ -Modus unter Verwendung folgender Parameter verwendet: Turbofaktor: 1; TE: 6 ms; TR: 6 s; NE: 40; FOV: $(25 \times 25) \text{ mm}^2$; Matrix: 128×128 ; Schichtdicke: 1 mm; 10 Schichten interlaced; NA: 1; Anregungspuls: Hermite, Bandbreite: 3040.5 Hz; Refokuspuls: Hermite, Bandbreite: 3800 Hz. — Zur Bestimmung von T_2^* wurde eine 3D Multi Gradienten Echo (MGE) Sequenz mit folgenden

Parametern herangezogen: TE: 2 ms; TR: 100ms; Interechozeit: 2.7 ms; NE: 16; FOV: $(40 \times 25 \times 25)$ mm³; Matrix: $128 \times 80 \times 80$; NA: 2.; Anregungspuls: Hermite, Flipwinkel: 30°. — Unter Verwendung einer Maximum-Likelihood-Optimierung wurden die T_2 - beziehungsweise T_2^* -Zeiten pixelweise durch einen exponentiellen Fit der gemessenen Signalamplituden unter Berücksichtigung der Rice-Verteilung bestimmt [63].

Neben der zur anatomischen Referenz identischen Geometrie wurde bei den per akquisitionsgewichteter *balanced 3D steady state free precession* CSI (3D-bSSFP-CSI)-Sequenz akquirierten Fluordaten folgende Parameter verwendet: Puls: Hermite, Bandbreite: 5400 Hz; T_{ACQ} : 10.24 ms; TR: 13.6 ms; FOV: $(25 \times 25 \times 16)$ mm³; spektrale Auflösung: 512 Punkte; Auflösungs-/Zeitäquivalente Matrix: $48 \times 48 \times 8$; NA: 4. Zur Erzeugung der Fluoroverlaybilder wurden die Fluormessdaten in spektraler Richtung im Bereich des ¹⁹F-Signalpeaks integriert und die Auflösung der resultierenden Daten anschließend durch *Zerofilling* auf die der Protonendaten (Matrixgröße: $200 \times 200 \times 16$) erhöht.

Therapiekontrolle mit PFC

Anatomische ¹H Referenzbilder wurden unter Verwendung einer TSE-Sequenz unter Verwendung folgender Messparameter aufgenommen: Lineare Kodierung; Turbofaktor: 4; TE_{eff} : 9.4 ms; TR: 500 ms; FOV: $(25 \times 25 \times 25)$ mm³; Matrix: $76 \times 76 \times 76$; NA: 1.

Die Fluordaten wurden zentriert im FOV der anatomischen Referenz mit Hilfe akquisitionsgewichteter 3D-bSSFP-CSI-Messungen unter Verwendung folgender Parameter aufgenommen: Puls: Hermite, Bandbreite: 5400 Hz; T_{ACQ} : 10.24 ms; TR: 13.6 ms; FOV: $(25 \times 25 \times 16)$ mm³; spektrale Auflösung 512 Punkte; Auflösungs-/ Zeitäquivalente Matrix: $31 \times 31 \times 20$; NA: 4.

Die benötigte Zeit zur Aufnahme der Protonen- und Fluordatensätze betrug weniger als 1.5 h. Die mittels *sum of squares* -Methode kombinierten und anschließend über die ¹⁹F-Spektrallinie hinweg summierten Fluordatensätze wurden ebenso wie die akquirierten Protonendatensätze vor der weiteren Auswertung auf eine isotrope Auflösung von $(0.25 \text{ mm})^3$ durch *Zerofilling* interpoliert.

Zum quantitativen Vergleich der Fluor-MR-Daten aus unterschiedlichen Messungen wurden die Signalamplituden anschließend auf die apparente Rauschamplitude der jeweiligen Messung normiert (nsif), um als relatives Maß für die Fluormenge am Ort der Infektion zu dienen. Die apparente Rauschamplitude selbst und die Standardabweichung

σ des Hintergrundrauschens wurde in den, wie zuvor beschrieben, prozessierten ^{19}F -Bildern durch einen Fit der Gaußfunktion an das Histogramm der gemessenen Amplituden abgeschätzt. Im Weiteren wurden alle Datenpunkte mit einer Amplitude größer als 4σ über der apparenten Rauschamplitude als ^{19}F -Signal gewertet.

Biolumineszenz Bildgebung – Therapiekontrolle

Während die Mäuse mit einem 2%igen Isofluran-Sauerstoffgemisch narkotisiert waren, wurde Biolumineszenzbildgebung (BLI) mit einem *in vivo*-Bildgebungssystem (IVIS Lumina II, Caliper Life Sciences, USA) unter Verwendung folgender Parameter durchgeführt: Belichtungszeit: 120 s; FStop: 1; Anregung: block; Emission: offen; FOV: D; Höhe: 1.5 cm. Um einen Vergleich zwischen den Gruppen zu ermöglichen, wurde aufgrund der teilweise sehr schwachen Signalamplituden – insbesondere bei der mit Linezolid behandelten Gruppe – zur Berechnung eines mittleren Lumineszenzwertes mit der Software „Living Image 3.2“ (Caliper Life Sciences, USA) für alle eine einheitliche, zuvor per Hand definierte, ovale Region (ROI) im Bereich der Infektion verwendet.

Histologie zum Vergleich von PFC & CLIO

Zum Vergleich des Akkumulationsverhaltens von CLIO- und PFC-Partikeln wurden einige der infizierten Oberschenkelmuskeln innerhalb von 3 h nach der jeweils letzten Messung entfernt und in einer 10%igen neutral gepufferten Formalinlösung (Sigma-Aldrich, Germany) fixiert. Durch den Pathologen Dr. Stefan Kircher (Pathologisches Institut der Uni Würzburg) wurde die weitere histologische Präparation und Auswertung durchgeführt. Hierbei wurden die pathologischen Proben entsprechend der Standardprozedur in einen Paraffinblock eingebettet und in $2\ \mu\text{m}$ dicke transversale Scheiben geschnitten. Zur Charakterisierung der Weichgewebeeinfektionen wurden die Schnitte entweder mit Hämatoxylin-Eosin (HE), um die Immunzellen zu visualisieren, oder mit Berlinblau, um den Eisengehalt sichtbar zu machen, gefärbt. Die aufgearbeiteten histologischen Schnitte wurden später mit den MR-Bildern verglichen.

Bestimmung der koloniebildenden Einheiten im Bereich der Infektion

Am siebten Tag nach der Infektion wurde der Oberschenkelmuskel entnommen und mit Hilfe eines Gewebehomogenisierers aufgearbeitet. Das gewonnene Homogenisat wurde anschließend in einer Verdünnungsreihe mit 0.9 % NaCl auf Agar-B-Platten ausplattiert. Unter Idealbedingungen wird hierdurch eine gleichmäßige Verteilung und ein ausreichend großer Abstand zwischen den Bakterien erreicht, so dass die Anzahl der auf dem Nährboden durch Wachstum und Vermehrung entstehenden Bakterienkolonien der zu Beginn vorhandenen koloniebildenden Einheiten (cfu) entspricht – im Idealfall ist dies die Zahl der anfangs vorhandenen Bakterien.

3.3 Ergebnisse – Vergleich von PFC & CLIO

T_2 zeigt das durch die Infektion verursachte Ödem

Alle erzeugten T_2 -Karten, wie auch in den Abbildungen 3.4 A, C und 3.5 A, C ersichtlich, zeigen – aufgrund stattfindender Entzündungsreaktionen – die durch die *S. aureus*-Infektion im linken Oberschenkel verursachte Ödemstruktur in Form lokal verlängerter T_2 -Zeiten [53, 54, 58]. Entsprechende Veränderungen sind im rechten Oberschenkel, in dem eine sterilen 0.9 % NaCl Lösung injiziert wurde, nicht vorzufinden. Auch wenn bei allen gemessenen Mäusen die Ödemstruktur im linken Oberschenkel zu erkennen ist, so kann doch anhand der graduellen Änderung der T_2 -Werte keine scharfe Abgrenzung zwischen Ödem und umliegendem Muskelgewebe getroffen werden. Die diffus im Randbereich des Ödems verteilten Bereiche mit stark reduziertem Signal (Bild 3.4 C) bzw. die dunklen Ränder um das Ödem herum (Bild 3.5 C) sind auf die Gabe von CLIO-Partikeln in der akuten bzw. chronischen Phase der Infektion zurückzuführen.

PFC bilden „Hohlkugel“ um Ödem

Zur Darstellung der Ansammlung von PFC-Nanopartikeln im Bereich der Infektion wurden ^{19}F -bSSFP-CSI-Bilder aufgenommen und mit den anatomischen ^1H -Daten hinterlegt. In allen untersuchten Tieren der akuten und chronischen Gruppe, die PFC erhielten,

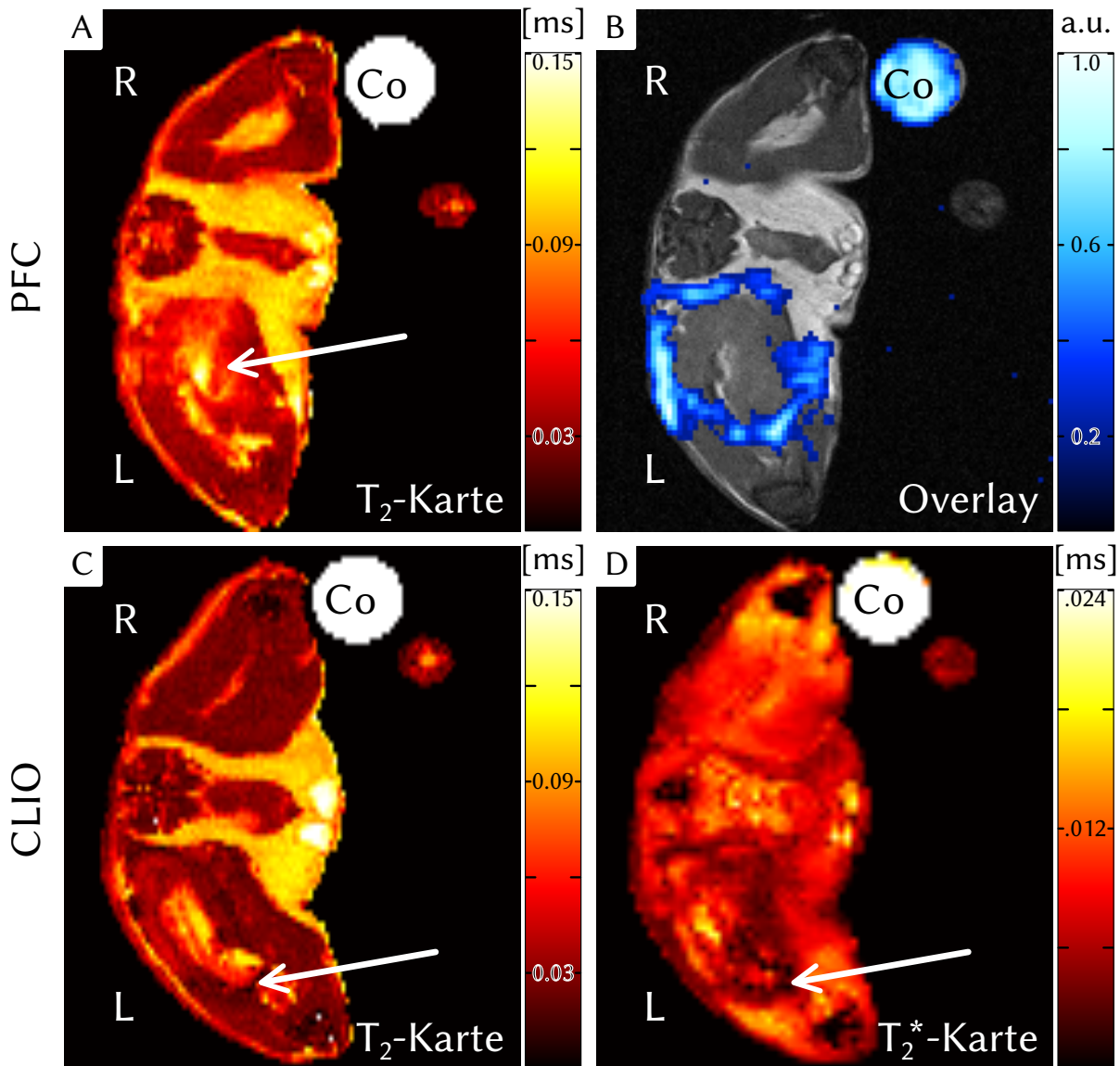


Abbildung 3.4: Repräsentative transversale MR-Schnitte der akuten Weichteilinfektion. An Tag 2 p.i. Gabe von PFC bzw. CLIO (analog zu [E1])– Bildakquisition 24 Stunden später. Erhöhte T_2 -Werte im Bereich des infizierten Muskels (\uparrow A), die bei CLIO-Gabe von lokalisierten schwarzen Bereichen umgeben sind (\uparrow C). $^1\text{H-TSE}$ überlagert mit $^{19}\text{F-bSSFP-CSI}$ -Daten (B) zeigt starke Ansammlung von PFC am Rand des Abszesses. T_2^* -Werte zeigen diffus verteilte Suszeptibilitätseffekte im Bereich des infizierten Muskels (\uparrow D). Co: Kontrollröhrchen mit verdünntem PFC; R/L: Rechter/Linker Oberschenkelmuskel

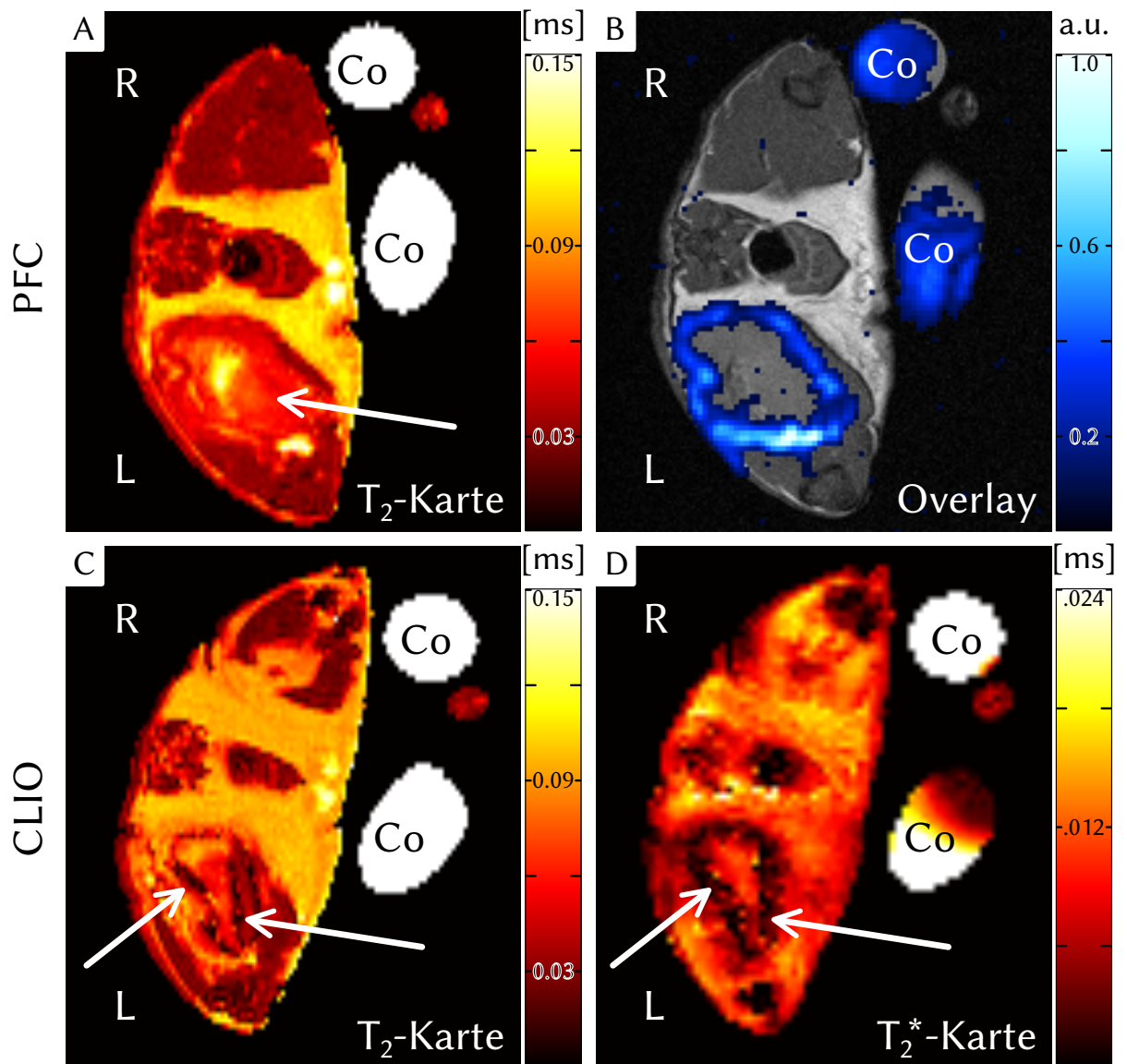


Abbildung 3.5: Repräsentative transversale MR-Schnitte der chronischen Weichteilinfektion. An Tag 8 p.i. Gabe von PFC bzw. CLIO (analog zu [E1]) – Bildakquisition 24 Stunden später. Erhöhte T_2 -Werte in großen Bereichen des infizierten Muskels (\uparrow A), die nach CLIO-Gabe von einem schwarzen Rand umgeben sind (\uparrow C). $^1\text{H-TSE}$ überlagert mit $^{19}\text{F-bSSFP-CSI}$ -Daten (B) zeigt starke Ansammlung von PFC am Rand des Abszesses. T_2^* -Werte zeigen starke Suszeptibilitätseffekte rund um den infizierten Bereich (\uparrow D). Co: Kontrollröhrchen mit verdünntem PFC, R/L: Rechter/Linker Oberschenkelmuskel

sammelten sich die PFC am Rand des Bereichs mit veränderten T_2 -Werten und bildeten somit eine Art Hohlkugel um das Ödem (Bilder: 3.4 B, 3.6 bzw. Bilder: 3.5 B, 3.7). Im rechten Oberschenkel konnte bei keinem Tier Fluorsignal nachgewiesen werden.

CLIO sammelt sich diffus um Ödem bei Gabe in der akuten Phase

Die T_2 -Karten zeigen einzelne diffus verteilte dunkle Bereiche am Rand des durch die veränderten T_2 -Zeiten definierten Ödembereichs (Bild 3.4 C). In den T_2^* -Karten sind am Ödemrand verkürzte Relaxationszeiten durch die Ansammlung von CLIO-Partikeln zu beobachten (Bild 3.4 D). Aufgrund der Akkumulation in nur diffus verteilte Spots am Rand des Ödems sind die Daten nicht zur Abgrenzung des Ödems gegen das umgebende Muskelgewebe geeignet. Im Kontrolloberschenkelmuskel (rechter Muskel) konnten keine CLIO-Partikel nachgewiesen werden.

CLIO bildet eine „Hohlkugel“ bei Gabe in der chronischen Phase

T_2 - und T_2^* -Karten von Mäusen, die während der chronischen Phase eine Injektion mit CLIO-Partikeln erhielten, zeigen am Rand des Abszesses einen diesen umschließenden Bereich mit stark reduziertem Signal (Bild 3.5 C, D). Dieser Bereich bildet, wie bei den PFC-Partikeln, eine Hohlkugel um das Ödem, ohne dass entsprechende Signalvariationen im Kontrollmuskel (rechter Oberschenkel) nachweisbar wären.

PFC-Akkumulation im Zeitverlauf

Zur Darstellung der Akkumulation von PFC im Zeitverlauf wurde einer fünften Gruppe 48 h p.i. PFC-Emulsion verabreicht (Bild 3.8). Die gemessenen Daten am Tag drei sind erwartungsgemäß vergleichbar mit denen von der mit PFC behandelten akuten Weichteilinfektion. Messungen an den folgenden Tagen bis zu der Messung am neunten, und somit letzten, Tag des Experiments zeigen keine Veränderung in der Signalverteilung von Fluor.

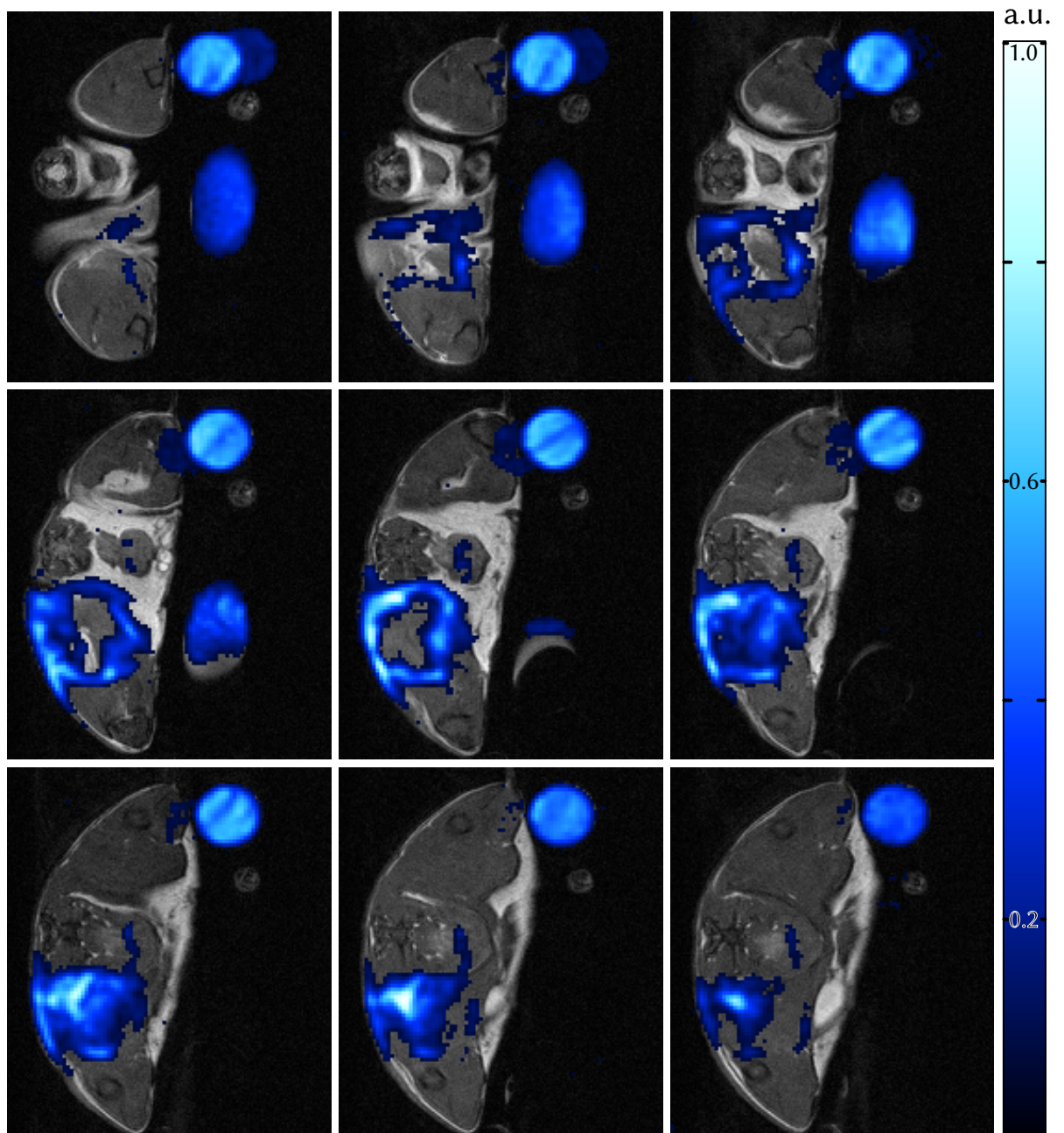


Abbildung 3.6: Repräsentative ^{19}F -Overlaybilder der akuten Weichteilinfektion (analog zu [E1]). An Tag 2 p.i. Gabe von PFC – Bildakquisition 24 Stunden später. ^1H -TSE-Bilder überlagert mit den ^{19}F -bSSFP-CSI-Daten zeigen starke Akkumulation von PFC am Rand des Abszesses über das gesamte Abszessvolumen hinweg.

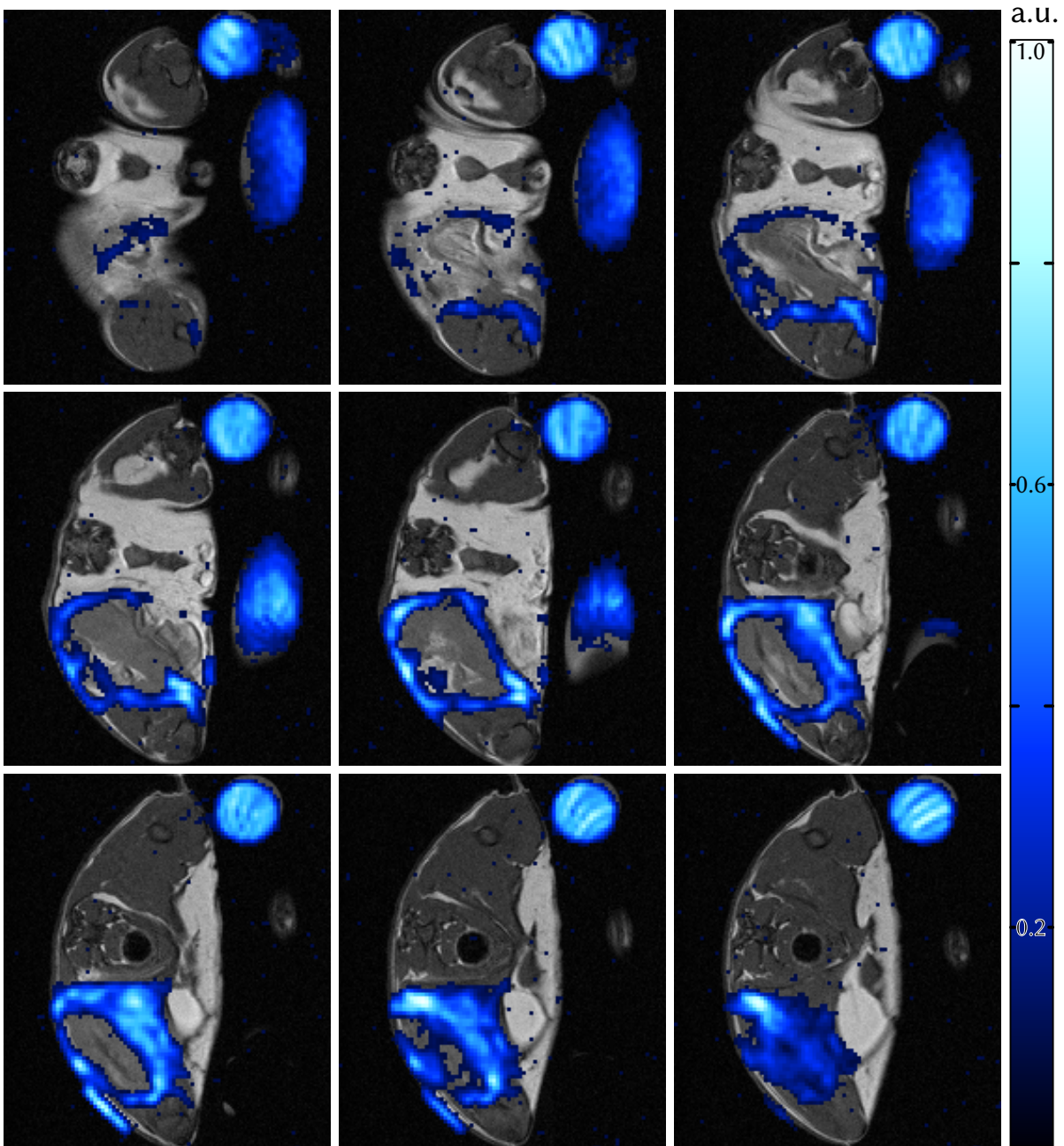


Abbildung 3.7: Repräsentative ^{19}F -Overlaybilder der chronischen Weichteilinfektion (analog zu [E1]). An Tag 8 p.i. Gabe von PFC – Bildakquisition 24 Stunden später. ^1H -TSE-Bilder überlagert mit den ^{19}F -bSSFP-CSI-Daten zeigen starke Akkumulation von PFC am Rand des Abszesses über das gesamte Abszessvolumen hinweg.

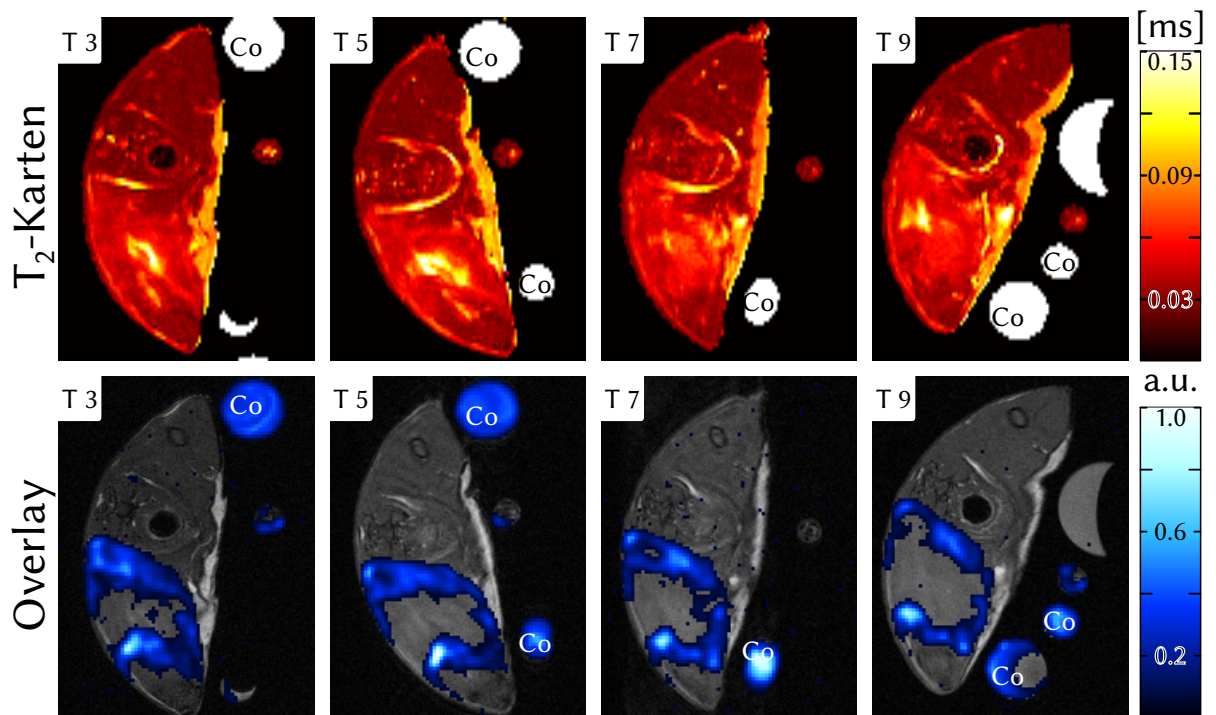


Abbildung 3.8: Repräsentative MR-Bilder für den Zeitverlauf der Infektion nach Gabe von PFC an Tag 2 p.i. (analog zu [E1]). – Bildakquisition an Tag 3,5,7 und 9 p.i. Obere Reihe: T_2 -Karten, untere Reihe: zugehörige ^1H -TSE-Bilder überlagert mit den ^{19}F -bSSFP-CSI-Daten. – Co: Kontrollröhrchen mit verdünntem PFC

Histologie der Oberschenkelmuskeln

Anhand der HE-Färbung der Muskeln aus der akuten Phase der Infektion konnte bezüglich der Zusammensetzung, Dichte und der Verteilung der Immunzellen um einen zentralen Bereich mit nekrotischem (abgestorbenem) Gewebe kein Unterschied zwischen den Tieren, die PFC beziehungsweise CLIO erhalten haben, gefunden werden (Bild 3.9 A, B). Auch bezüglich der Charakteristika der chronischen Phase der Entzündung (massige zentrale Nekrose, Umgeben von einer dichten Schicht an Granulozyten, Makrophagen und mit Fibroblasten angereichertem Granulationsgewebe) ist kein Unterschied, bezüglich der vorhandenen Immunzellen oder der Abszessgröße zwischen Tieren, die PFC beziehungsweise CLIO erhalten haben, vorhanden (Bild 3.10 A, B). Die Berlinblaufärbung zeigt, dass die Eisenoxidpartikel (CLIO) in Immunzellen (hauptsächlich in den Makrophagen, in geringerem Umfang auch in Neutrophilen) zu finden sind. Ein Vergleich von mit Berlinblau gefärbten Schnitten aus der akuten (Bild 3.9 C) mit denen aus der

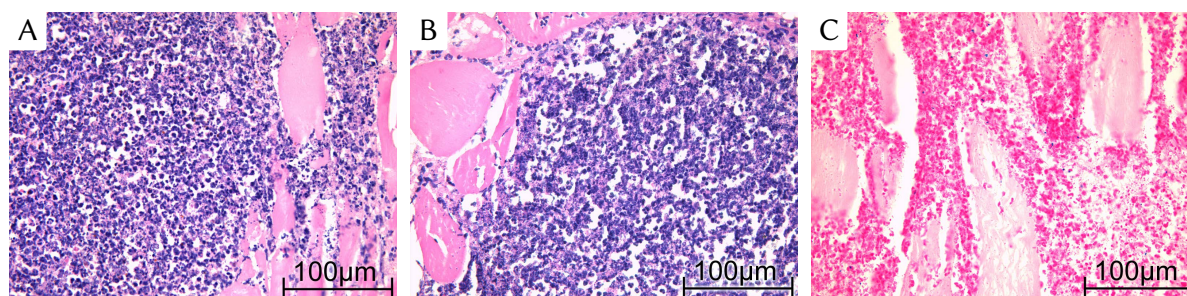


Abbildung 3.9: *Histologische Schnitte der akuten Weichteilinfektion (Quelle: [E1]). An Tag 2 p.i. Gabe von CLIO (A, C) bzw. PFC (B) – Muskelentnahme unmittelbar nach MR-Messungen (≈ 24 h später). A, B) HE-Färbung zeigt Infiltration von hauptsächlich Granulozyten. C) Eisenspezifische Färbung zeigt Eisenablagerungen in Granulozyten und Makrophagen (Eisen erscheint blau)*

chronischen (Bild 3.10 C) Infektionsphase macht zudem eine stärkere Anreicherung von eisenbeladenen Makrophagen in der chronischen Phase sichtbar. Eine entsprechende Möglichkeit zum Nachweis von Fluor mit Hilfe der Histologie ist, soweit bekannt, nicht gegeben.

3.4 Ergebnisse – Therapiekontrolle mit PFC

Biolumineszenz im Therapieverlauf

Der mittlere Lumineszenzwert, der durch das *luxABCDE* Operon im verwendeten Bakterienstamm *S. aureus* Xen 29 produzierten Luciferase, wurde jeweils über eine einheitliche ovale Region im Bereich des Oberschenkelmuskels bestimmt (siehe Abbildung 3.11). Für alle Tiere zeigt sich im Zeitverlauf, nach einem hohen initialen Signalwert, 15 Minuten nach der Infektion ein starker Signalabfall hin zum zweiten Messpunkt 24 Stunden später. Im Weiteren Verlauf steigt für die Placebobehandlung mit NaCl Lösung das Signal wieder an und erreicht eine Plateauphase zwischen Tag 3 und 7 nach der Infektion. Sowohl die Behandlung mit Vancomycin als auch mit Linezolid führt ab dem zweiten Messwert (≈ 24 h p.i.) zu reduzierten Lumineszenzwerten gegenüber den Tieren, die eine Placebobehandlung erfahren haben, wobei für die mit Linezolid behandelten Tiere die niedrigsten Signalwerte gemessen wurden. Im Vergleich zu den mit NaCl behandelten Tieren reduzierte die Behandlung mit Vancomycin das Biolumineszenz Signal um 49 %

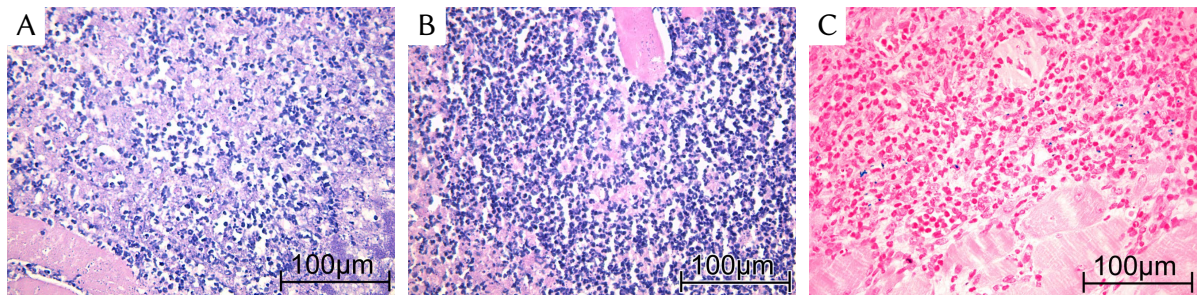


Abbildung 3.10: *Histologische Schnitte der chronischen Weichteilinfektion (Quelle: [E1]). An Tag 8 p.i. Gabe von CLIO (A, C) bzw. PFC (B) – Muskelentnahme unmittelbar nach MR-Messungen (≈ 24 h später). A, B) HE-Färbung zeigt Makrophagen und Granulozyten eingebettet in mit Fibroblasten angereichertem Granulationsgewebe am Rand des Abszesses. C) Eisenspezifische Färbung zeigt Eisenablagerungen in Granulozyten und Makrophagen (Eisen erscheint blau).*

(Tag 3 p.i.) beziehungsweise 85 % (Tag 7 p.i.), während für Linezolid eine Reduzierung des Signals von 92 % (Tag 3 p.i.) beziehungsweise 96 % (Tag 7 p.i.) erreicht wurde (siehe Abbildung 3.12).

Bakterielle Belastung an Tag 7 nach der Infektion

Der entsprechende Oberschenkelmuskel wurde jeweils am Tag 7 p.i. entnommen, homogenisiert und die Anzahl der koloniebildenden Einheiten (cfu) bestimmt. Im Vergleich zu der mit NaCl Lösung behandelten Gruppe war die Bakterienbelastung bei den mit Vancomycin behandelten Tieren um den Faktor von etwa $10^{2.4}$ und bei den mit Linezolid behandelten Tieren um den Faktor von etwa $10^{6.2}$ reduziert (siehe Abbildung 3.13).

Darstellung und Mengenabschätzung von ^{19}F während der Antibiotika-Therapie

Zur Darstellung der Ansammlung von PFC-Nanopartikeln im Bereich der Infektion wurden die prozessierten ^{19}F -bSSFP-CSI-Daten wiederum mit den anatomischen ^1H -Daten hinterlegt. Unabhängig von der Behandlung konnte ^{19}F -Signal am Rand des Abszesses beobachtet werden. Jedoch reduzierte sowohl eine Behandlung mit Vancomycin als auch mit Linezolid die Abszessgröße, wobei dieser Effekt für das letztere Antibiotika am stärksten ausfiel (siehe Abbildung 3.14). Eine Übersicht über die durch Fluor eingenommenen

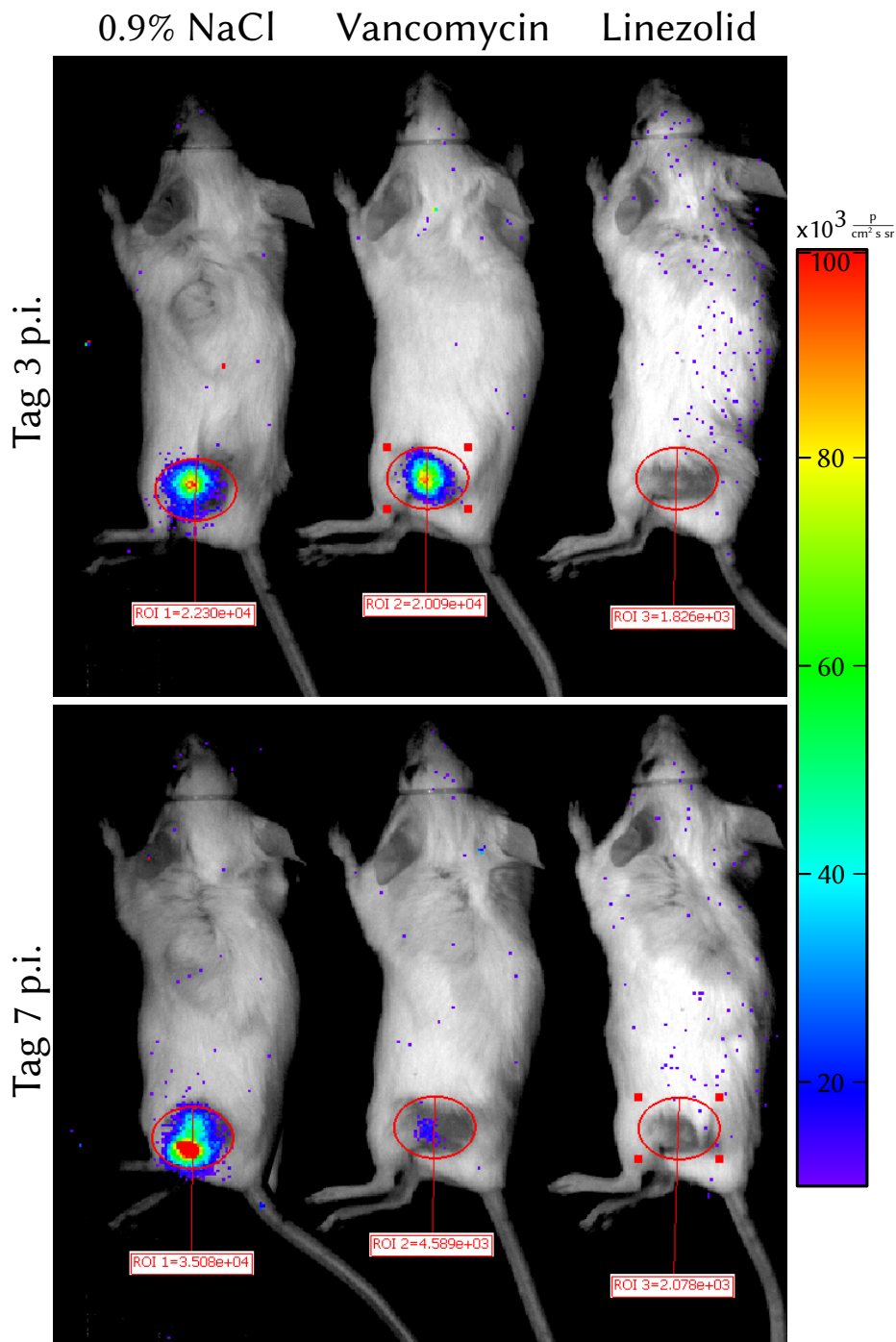


Abbildung 3.11: Repräsentative Biolumineszenzbilder im Therapieverlauf, hinterlegt mit graustufen Bildern zur anatomischen Orientierung. Die Emission beruht auf der Luciferase, die durch den verwendeten Bakterienstamm *S. aureus Xen 29* erzeugt wird.

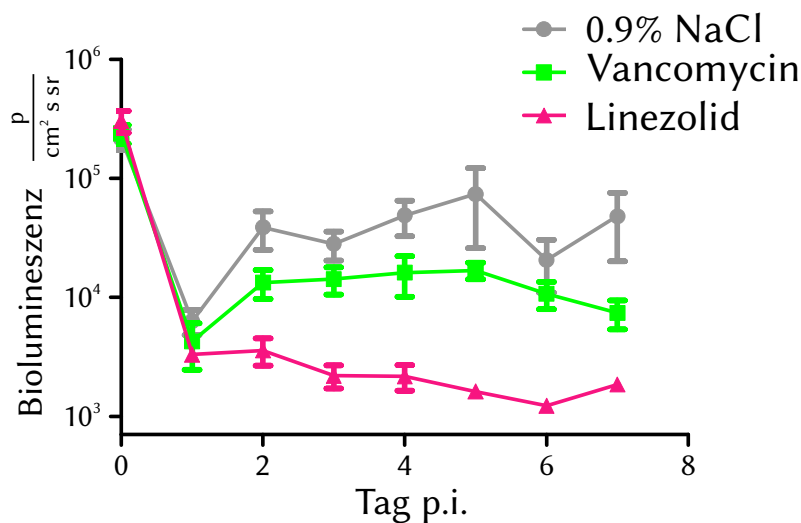


Abbildung 3.12: Auswirkung der Antibiotikatherapien auf die Biolumineszenz im Therapieverlauf (analog zu [E2]). Aufgetragen sind die mittleren Biolumineszenzwerte zusammen mit der jeweiligen Standardabweichung. Die Emission beruht dabei auf der Luciferase, die durch den verwendeten Bakterienstamm *S. aureus* Xen 29 erzeugt wird.

Volumina, welche hier als ein Maß zur Abschätzung der Abszessgröße herangezogen werden, ist in Abbildung 3.15 zu finden. Gegenüber der mit NaCl behandelten Gruppe ergibt sich dabei ein um 83 % (Tag 3 p.i.) beziehungsweise 80 % (Tag 7 p.i.) reduziertes Abszessvolumen für Vancomycin und ein um 92 % (Tag 3 p.i.) beziehungsweise 93 % (Tag 7 p.i.) reduziertes Abszessvolumen für Linezolid.

Als Maß für die Stärke der Immunantwort wurde darüber hinaus auch das gesamte am Ort des Infektes vorhandene Fluorsignal ausgewertet [30, 59]. Eine Auftragung der entsprechenden Werte ist in Abbildung 3.16 zu finden. Hierbei ergaben sich im Vergleich zur Placebobehandlung mit NaCl für die Behandlung mit Vancomycin um 84 % (Tag 3 p.i.) beziehungsweise 83 % (Tag 7 p.i.) reduzierte Signalamplituden für ¹⁹F und für die Behandlung mit Linezolid um 94 % (Tag 3 p.i.) beziehungsweise 96 % (Tag 7 p.i.) reduzierte Signalamplituden.

3.5 Diskussion – Vergleich von PFC & CLIO

Um zu zeigen, dass sich PFC als Marker zur Visualisierung von bakteriellen Infektionen eignen, wurde ein Abszessmodell von *Staphylococcus aureus* im Oberschenkelmuskel einer Maus gewählt, da sich bei diesem ein lokalisierter und dichter Abszess bildet. Wie vorher schon gezeigt wurde, spiegelt dieses Modell die akute und chronische Phase der Entzündung im Zeitverlauf der Infektion [58] wider. Die entstehende Ödemstruktur

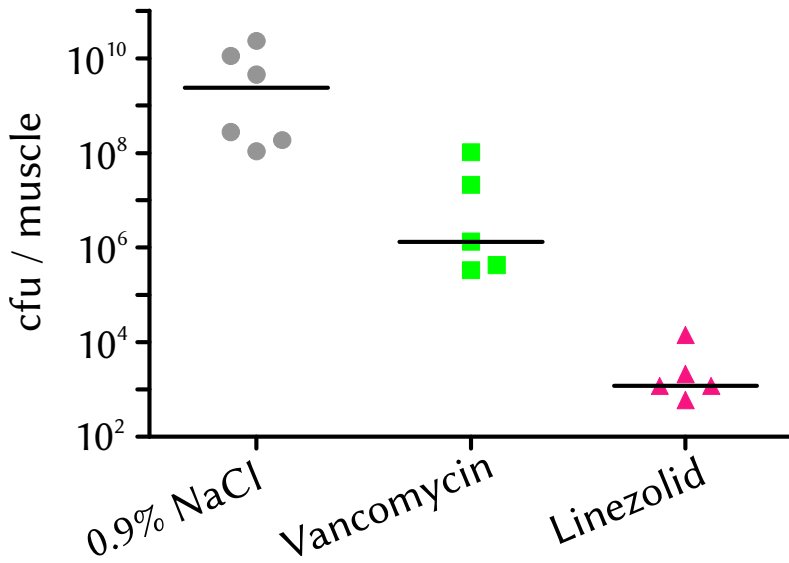


Abbildung 3.13: Auswirkung der Antibiotikatherapien auf die bakterielle Belastung im infizierten Oberschenkelmuskel an Tag 7 p.i. (analog zu [E2]). Aufgetragen sind jeweils die ermittelten cfu-Werte jedes aufgearbeiteten Muskels, sowie die resultierenden Mittelwerte für jede Gruppe. Zwischen jeder möglichen Gruppenpaarung ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede ($P < 0.01$).

führt, in Übereinstimmung mit anderen Arbeiten, in unseren MR-Messungen zu erhöhten T_2 -Werten im Bereich der Entzündung (Abbildung 3.4A,C/ 3.5A,C). Jedoch ist es aufgrund des graduellen Übergangs der T_2 -Werte schwierig diese zur genauen Definition des infizierten Bereichs heranzuziehen. Diesbezüglich ist potentiell eine Methode von Vorteil, welche proinflammatorische Immunzellen, wie Makrophagen und Neutrophile, zur Darstellung des infizierten Bereichs und dessen zeitlicher Entwicklung heranzieht.

Die dieser Idee folgenden Untersuchungen der letzten Jahre zur Verwendbarkeit von USPIO Partikeln als entzündungsspezifisches Kontrastmittel [53, 58, 64] zeigten unter anderem, dass Eisenoxidnanopartikel sich am Abszessrand von *Staphylococcus aureus* induzierten Oberschenkelmuskelabszessen anreichern [53]. Zwar akkumulieren USPIO-Partikel sehr stark während der chronischen Infektionsphase der Entzündung (Abbildung 3.5 D) und ermöglichen dann eine klare Identifikation und Lokalisation des Abszessbereiches, jedoch führt eine Verabreichung während der akuten Infektionsphase lediglich zu einer schwachen Akkumulation (Abbildung 3.4 D), welche keine Bestimmung des Abszessbereiches ermöglicht [58]. Davon abgesehen ist zum einen der durch die Eisenoxidpartikel verursachte negative Kontrast nicht uneindeutig, da ähnliche Signalverluste auch durch andere Ursachen hervorgerufen werden können und zum anderen ist eine reduzierte Signalamplitude in Bereichen mit intrinsisch sehr wenig Signal schwierig zu erkennen.

Hingegen kann das detektierte ^{19}F -Signal, aufgrund des sehr geringen Vorkommens und

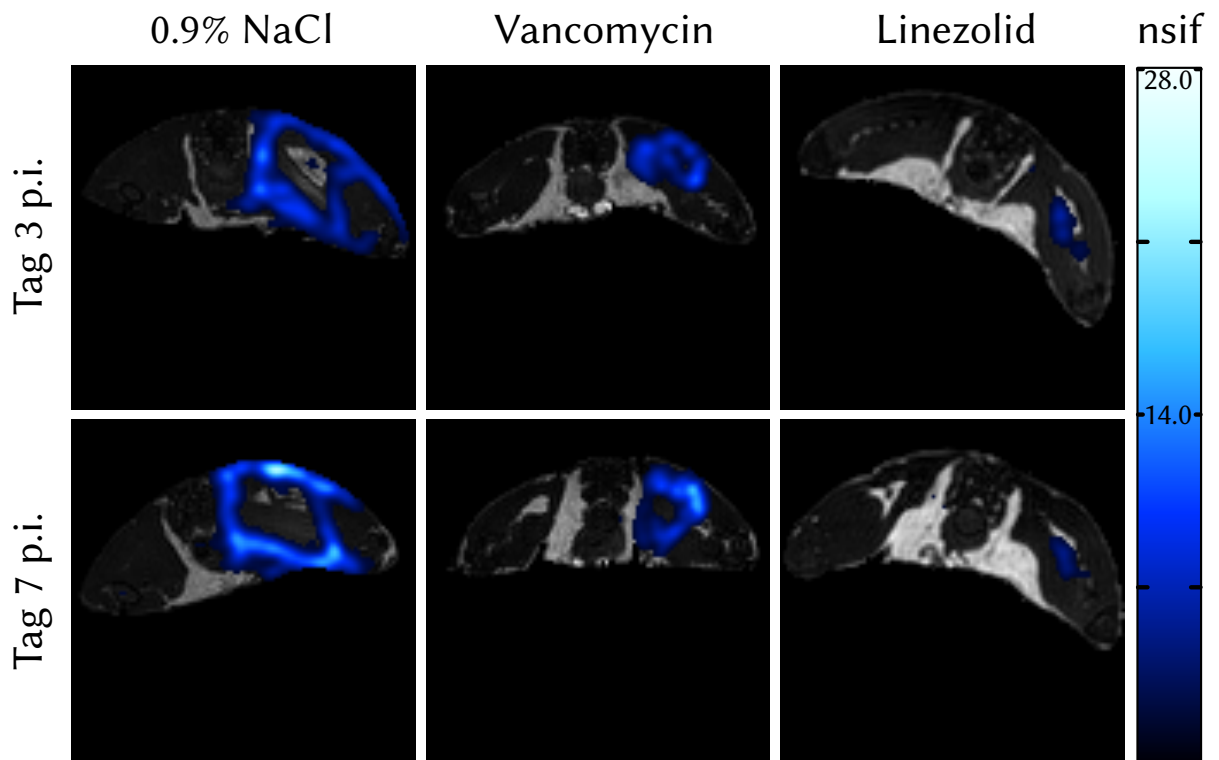


Abbildung 3.14: Repräsentative Overlaybilder zur Visualisierung der ^{19}F -MR-Daten (Farbskala) im Therapieverlauf (analog zu [E2]). Zur anatomischen Orientierung dienen entsprechende Protonenbilder (Graustufen) als Hintergrund. Alle Tiere erhielten 48 h nach der Infektion des linken Oberschenkelmuskels mit *S. aureus* Xen 29 eine Injektion des verwendeten PFC-Markers.

den extrem kurzen Relaxationszeiten des endogen vorhandenen Fluors, quasi eineindeutige dem injizierten Marker – PFC-Nanopartikel – zugeordnet werden [21]. Wie bereits gezeigt wurde, werden die PFC-Nanopartikel durch Immunzellen (Monozyten/Makrophagen und in geringerem Umfang auch durch Granulozyten) aufgenommen/phagozytiert [30, 59]. Wurden die Perfluorkarbone während der akuten Phase der Infektion injiziert, reichert sich diese um das Ödem in Form einer nicht vollständig geschlossenen Hohlkugel an, die eine partielle Abgrenzung des Ödems erlaubt (Bild 3.4 B/3.6). Bei Gabe in der chronischen Phase akkumulierten die PFC-Partikel in Form einer geschlossenen Hohlkugel (Bild 3.5 B/3.7). Die Auswertung der Zeitverlaufsdaten nach einer initialen PFC-Gabe während der akuten Phase zeigt, dass zumindest bis Tag 9 p.i. sich das anfängliche Akkumulationsmuster nicht verändert. Zusammengefasst kann damit gesagt werden, dass mit PFC der Abszess des Oberschenkelmuskels im gewählten Abszessmodell infolge einer

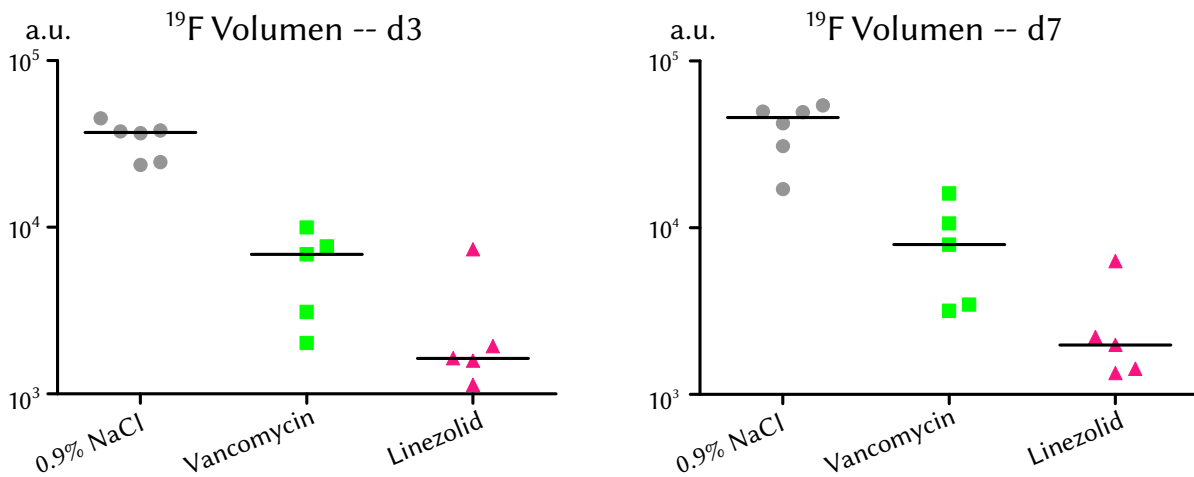


Abbildung 3.15: Mit ¹⁹F-Signal ausgefülltes Volumen im Bereich des infizierten Oberschenkelmuskels an Tag 3 und 7 p.i. (analog zu [E2]). Aufgetragen ist die Anzahl an Voxel mit ¹⁹F-Signal für jedes Tier zusammen mit dem Mittelwert für die entsprechende Behandlungsgruppe. Abgesehen von der Gruppenpaarung Vancomycin – Linezolid ($P < 0.05$) weisen alle möglichen Gruppenpaarungen einen statistisch signifikanten Unterschied von $P < 0.01$ auf.

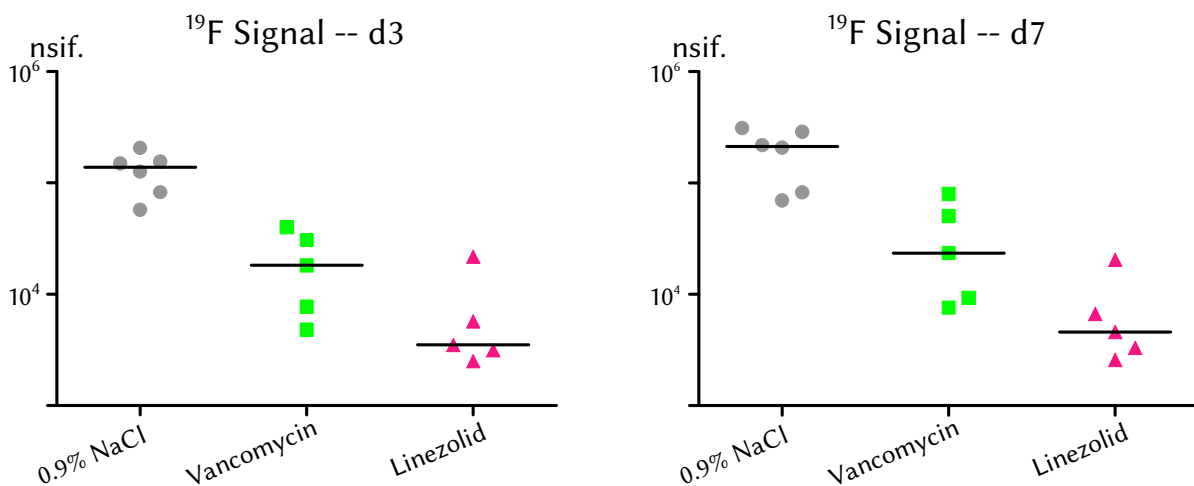


Abbildung 3.16: Summierte ¹⁹F-Signalamplituden über den infizierten Oberschenkelmuskel an Tag 3 und 7 p.i. (analog zu [E2]). Aufgetragen sind die summierten Signalamplituden für jedes Tier zusammen mit dem Mittelwert für die entsprechende Behandlungsgruppe. Abgesehen von der Gruppenpaarung Vancomycin – Linezolid ($P < 0.05$) weisen alle möglichen Gruppenpaarungen einen statistisch signifikanten Unterschied von $P < 0.01$ auf.

Staphylococcus aureus-Infektion sowohl in der akuten als auch chronischen Phase der Infektion dargestellt werden kann, während dies bei Verwendung von CLIO-Partikeln nur in der chronischen Phase möglich ist.

Die histologischen Daten belegen, dass in den untersuchten Muskeln im Bereich, in welchem sich CLIO und PFC nach Gabe in der akuten Phase laut den MR-Messungen angereichert haben, Immunzellen (Neutrophile und einige Makrophagen) zu finden sind. Die eisenspezifische Färbung zeigt zudem für die CLIO-Gruppe einige intrazelluläre Eisenablagerungen in Makrophagen und Granulozyten für die akute Infektionsphase, während für die chronischen Infektionsphase eisenbeladene Makrophagen, Lymphozyten und einige Granulozyten gefunden werden konnten. Diese Daten stimmen mit früheren Ergebnissen bezüglich der Anreicherung von Eisenoxidpartikeln bei Weichgewebsabszessen [53, 58] überein. Da uns keine entsprechende Methode zum histologischen Nachweis von Fluor bekannt war, konnte anhand der histologischen Schnitte kein entsprechender Nachweis über den Verbleib der PFC geführt werden. Nichtsdestotrotz zeigen bereits veröffentlichte Studien über Entzündungen nach einer kardialen oder zerebralen Ischämie, dass PFC durch phagozytierende Immunzellen aufgenommen werden [30, 59]. Für eine entzündungsspezifische Akkumulation der PFC spricht zudem, dass nicht nur das Akkumulationsmuster der PFC um den Abszess herum mit dem der CLIO-Partikel in der chronischen Phase unseres Infektionsmodell übereinstimmen, sondern auch, dass im Kontrolloberschenkelmuskel keine PFC per MR nachweisbar waren.

3.6 Diskussion – Therapiekontrolle mit PFC

Für eine effektive nichtinvasive *in vivo* Bildgebungsmethode zur Testung von potentiellen neuen Wirkstoffen, die auch das Potential hätte, die benötigte Anzahl an Versuchstieren zu reduzieren [65], reicht jedoch die reine Darstellung des Infektionsherdes nicht aus. Entsprechend sollte die Korrelation zwischen der Schwere der Infektion und der durch die PFC erhaltene Signalantwort überprüft werden. Hierbei wurde zur Bewertung der diesbezüglichen Qualitäten der PFC-gestützten Infektionsbildgebung neben dem Auszählen der koloniebildenden Einheiten (cfu) die Biolumineszenzbildgebung herangezogen, welche in letzter Zeit ihre Fähigkeit unter Beweis gestellt hat, sowohl Bildinformationen als auch quantitative Informationen über antibakterielle Therapien *in vivo* liefern zu können. Für die Experimente wurde folglich der Bakterienstamm *S. aureus* Xen 29 gewählt, der mit

dem Operon *luxABCDE* ausgestattet ist und somit die nichtinvasive Überwachung durch die Biolumineszenzbildgebung ermöglicht. Ein Vergleich der durch die beiden Referenzmethoden gelieferten Daten zeigt zunächst in Übereinstimmung mit der Literatur [66, 67] eine Reduzierung der bakteriellen Belastung für beide gewählte Antibiotika mit einer erwarteten schwächeren Wirkung für Vancomycin, wobei der Unterschied zwischen den beiden Antibiotika in den cfu-Daten größer ist als in den BLI-Daten (Abbildungen 3.12, 3.13). Während die cfu-Daten direkt über die Anzahl an Bakterien vor Ort Auskunft geben, liefern die BLI-Daten diese Informationen gewichtet mit der Aktivität mit der das Operon *luxABCDE* exprimiert wird. Ähnlich zu der BLI-Methode liefert auch der Ansatz, Perfluorkarbone (PFC) als Marker für eine Infektion zu verwenden, keine unmittelbare Informationen über die Anzahl der Bakterien. Stattdessen werden die PFC durch Fresszellen (phagozytierenden Immunzellen) im Blutstrom aufgenommen und durch deren Wanderung an den Infektionsherd gebracht [32, 64]. Im Sinne der oben gewählten Formulierung könnte man somit davon sprechen, dass die ^{19}F -Signalamplituden die Zahl der Bakterien vor Ort gewichtet mit der Immunantwort durch phagozytierende Immunzellen des Wirts widerspiegeln. Betrachtet man entsprechend die über den gesamten Infektionsbereich hinweg summierten ^{19}F -Signalamplituden (Abbildung 3.16), so findet sich mit den BLI- und cfu-Daten eine qualitative Übereinstimmung bezüglich der relativen Unterschiede zwischen den verschiedenen behandelten Tiergruppen. Gleiches gilt für die per ^{19}F -MR ermittelten Fluorvolumina (Abbildung 3.15).

Für den hier durchgeführten quantitativen Vergleich der Spindichten an Fluor wurden die SNR-Amplituden der Messdaten untereinander verglichen. Dieses Vorgehen ist gemäß dem Kapitel 2.7 zulässig, wenn

- dieselbe Substanz in vergleichbarer chemischer Umgebung mit jeweils derselben Sequenz und denselben Sequenzparametern vermessen wird.
- im Vorfeld der Messungen die HF-Pulse auf die Probe abgestimmt werden.
- das Spulenrauschen als probendominiert betrachtet werden kann.
- die B_1 -Feldverteilung hinreichend homogen ist.

Der erste Punkt wird hier erfüllt, da die Fluorspindichte des Markers jeweils am Ort des Abszess miteinander verglichen wird. Der vierte Punkt wiederum ist in sehr guter Näherung erfüllt, da aufgrund der Verwendung des S2-Containers nur die inneren 30 mm des 40 mm Birdcages nutzbar waren und damit das B_1 -Feld im Messbereich hinreichend homogen war. Die Drehwinkel der Pulse konnten angesichts der niedrigen SNR Werte

jedoch nur im Rahmen des möglichen abgestimmt werden und der Abfall der Spulengüte wies angesichts des für die Größe der Spule niedrigen Probenvolumens einen Faktor von lediglich 2 [68] auf. Entsprechend wurden bezüglich der Größe und dem Gewicht möglichst vergleichbare Versuchstiere gewählt, die während der MR-Messung mit dem Abszessbereich soweit möglich identisch im Zentrum der Spule positioniert wurden, um stets eine möglichst vergleichbare Beladung der Spule und damit ein vergleichbares Verhalten der Spule zu erreichen und damit trotz des relativ kleinen Abfalls der Güte und damit nicht vernachlässigbaren Spulenrauschens einen groben Vergleich der Spindichten anhand der SNR-Werte zu erlauben.

Um jedoch anhand der Signalamplituden nicht nur eine grobe Abschätzung der Verhältnisse, sondern belastbare absolute Spindichten zu erhalten, hätte gemäß den Kapiteln 2.7 und 2.6.2 zusätzlich

- die Relaxationszeiten in Probe und Referenz bestimmt werden müssen.
- das B_1 -Feld der Spule in Anwesenheit der Probe im Messbereich bestimmt werden müssen.
- aufgrund des Offresonanzverhaltens der bSSFP-Sequenz die B_0 -Feldverteilung bestimmt werden müssen.

Da für eine belastbare absolute Quantifizierung die genannten Größen zusätzlich für jedes Tier bestimmt hätten werden müssen, wurde hier, angesichts der niedrigen Signalamplituden und den damit resultierenden langen Messzeiten, davon Abstand genommen. Ansonsten hätten die Tiere über einen nicht mehr vertretbar langen Zeitraum narkotisiert gehalten werden müssen, ohne dass die hierdurch gewonnenen absoluten Zahlenwerte, im Rahmen der in dieser Arbeit durchgeführten Vergleiche, einen Mehrwert mit sich gebracht hätten.

3.7 Zusammenfassung

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass sich im Blutstrom von phagozytierenden Immunzellen aufgenommenes PFC sowohl in der akuten als auch chronischen Phase des *Staphylococcus aureus*-Oberschenkelinfektionsmodelles in Form einer „Hohlkugel“ am Rand des Abszesses anreichert. Außerdem ergibt sich für die untersuchte PFC-Emulsion ein zu den CLIO-Partikeln vergleichbares Akkumulationsverhalten, wobei eine, im Vergleich

zu den Eisenoxidpartikeln, stärkere Akkumulation der Perfluorkarbone in der akuten Phase der Infektion bereits zu einer deutlichen Markierung des Abszesses führt. Das per MR detektierte ^{19}F -Signal kann dabei, aufgrund der geringen biologischen Häufigkeit von Fluor, uneindeutig auf die verabreichten Perfluorkarbone zurückgeführt werden und es konnte eine Korrelation zwischen der per ^{19}F -MR-Messung im Bereich der Infektion detektierten Fluorsignalamplituden und Fluorvolumina mit der Bakterienbelastung in dem betrachteten Oberschenkelinfektionsmodell nachgewiesen werden. Darüber hinaus kann die MR über den Protonenkanal zugleich weitere Informationen über den Stand der Infektion durch eine Visualisierung des Gewebes im besagten Bereich liefern, die bei Bedarf – ohne Zuhilfenahme von Koregistrierung – passgenau mit den Fluordaten überlagert werden können.

Die zur Bewertung der Perfluorkarbone etablierte und optimierte Messplattform verspricht zudem durch ihren multimodalen Ansatz Zugang zu sich ergänzenden Informationen zu gewähren, da, wie diskutiert, eine jede die Infektion aus leicht unterschiedlicher Richtung betrachtet. Entsprechend dürfte es von biologischer Seite her von Interesse sein, die Möglichkeiten dieser etablierten Messplattform weiter zu untersuchen.

4 Bloch-Siebert B_1^+ -Mapping

4.1 Einleitung

Wie bereits im vorigen Kapitel erwähnt, ist es für eine absolute Quantifizierung wichtig, die Empfindlichkeit (B_1) der verwendeten MR-Spule orts aufgelöst zu kennen. Allerdings kann je nach Messmethode die Erstellung einer B_1 -Karte relativ zeitaufwendig sein. Entsprechend wird im Bereich von *in vivo* Messungen, wenn überhaupt, anhand einer per Referenzprobe erstellten B_1 -Karte korrigiert. Da die B_1 -Werte vom Gesamtsystem aus Spule und Probe abhängig sind, kann – trotz guter Vergleichbarkeit von Probe und Referenz – eine anhand einer Referenz- B_1 -Karte durchgeführte Korrektur den Einfluss der Spuleninhomogenitäten stark reduzieren, aber nicht vollständig entfernen. Eine interessante Messmethode mit der in potentiell vertretbarem Zeitaufwand eine B_1 -Karte erzeugt werden kann, wurde 2010 durch Sacolick et al. [11] in einer *Single Spin Echo*- sowie in einer *FLASH*-Sequenz implementiert präsentiert. Diese, als Bloch-Siebert (BS)- B_1^+ bezeichnete, Methode der Messung von B_1^+ -Werten wurde bis dahin lediglich spektroskopisch genutzt [10, 69]. Interessant an dieser Methode ist insbesondere, dass die B_1^+ -Werte vollständig in der Phase kodiert werden und diese Werte unabhängig von MR-Messparametern wie TR, T_1 , Flipwinkel, chemische Verschiebung, B_0 -Inhomogenitäten und Magnetisierungstransfer sind [11]. So kann aus einem einzigen Datensatz neben einer B_1 -Karte auch ein gewöhnliches Magnitudenbild generiert werden, was die Methode insbesondere auch für die B_1 -Bestimmung bei der Bildgebung von Perfluorcarbonen (PFC) im Bereich der Kleintier-MR interessant macht. Denn gerade hier ist der damit einhergehende potentielle Zeitgewinn, angesichts der üblicherweise relativ langen Messzeiten, von besonderem Interesse. Hinzu kommt, dass die BS-Methode aufgrund der Einfachheit des BS-Moduls, bereits in weitere Messsequenzen implementiert wurde. Im Hinblick auf die ^{19}F -Bildgebung ist die Integration der Methode in die Multi-/Turbo-Spin-Echo-Sequenzen [E3, E4] hervorzuheben, da durch diese die relativ langen T_2 -Zeiten der PFC effektiv genutzt werden können.

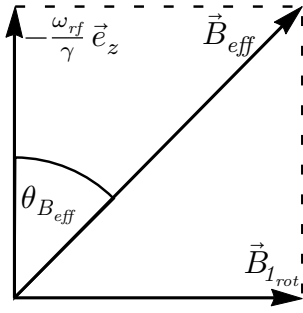


Abbildung 4.1: Effektiv wirksames Magnetfeld \vec{B}_{eff} in dem mit $\omega_{Puls} = \omega_0 + \omega_{rf}$ um die z-Achse rotierenden Koordinatensystem

4.2 Bloch-Siegert-Effekt

Ogleich MR-Spulen darauf optimiert sind Magnetfelder transversal zur Hauptfeldrichtung zu erzeugen, basiert der BS-Effekt darauf, dass lediglich die transversale Phase der Magnetisierung durch das von der Spule erzeugte Magnetfeld beeinflusst wird. Um den Hintergrund dieses Effektes zu erklären, soll hier zunächst eine kurze theoretische Einführung des Bloch-Siegert-Effektes, analog zur Beschreibung durch Ramsey [69], erfolgen.

Betrachtet man das Pulsproblem, analog zum Kapitel 2.5.1 HF-Pulse, in dem mit dem Puls mitrotierende Koordinatensystem, so erhält man als zu lösende Differentialgleichung für einen Puls mit der Offresonanz $\omega_{Puls} = \omega_0 + \omega_{rf}$ basierend auf Gleichung 2.18:

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt} \right)_{rot} = \gamma \vec{M} \times \left(\vec{B}_{I_{rot}} - \frac{\omega_{rf}}{\gamma} \cdot \vec{e}_z \right) \quad (4.1)$$

mit $\vec{B}_{I_{rot}} = \text{Re}[B_{T_{rot}}] \cdot \vec{e}_x + \text{Im}[B_{T_{rot}}] \cdot \vec{e}_y$ und $B_{T_{rot}} = B_I e^{i\varphi}$. Entsprechend ist in diesem mitrotierenden Koordinatensystem der effektiv wirksame Magnetfeldvektor \vec{B}_{eff} durch Vektoraddition von $\vec{B}_{I_{rot}} - \frac{\omega_{rf}}{\gamma} \cdot \vec{e}_z$ gegeben. Unter der in der MR üblichen Annahme $\vec{B}_{I_{rot}} \perp \vec{e}_z$ (siehe Abbildung 4.1) ist der Betrag B_{eff} wie folgt gegeben:

$$B_{eff} = \sqrt{B_I^2 + \left(\frac{\omega_{rf}}{\gamma} \right)^2} \quad (4.2)$$

Erhöht man nun bei gegebener Pulsamplitude B_I sukzessive die Offresonanz des Pulses ω_{rf} , so wird in Abbildung 4.1 der Vektor entlang \vec{e}_z immer länger und damit der Winkel $\theta_{B_{eff}} = \arctan\left(\frac{B_I}{\omega_{rf}/\gamma}\right)$ zwischen dem Vektor \vec{B}_{eff} und der z-Richtung immer kleiner. Folglich ist für $\omega_{rf}/\gamma \gg B_I$ die Richtung von \vec{B}_{eff} in guter Näherung durch \vec{e}_z gegeben.

Da hiermit der Feldvektor \vec{B}_{eff} in dieser Näherung senkrecht zur Transversalebene liegt, kann durch diesen Puls nur die Lage der Magnetisierung in der Transversalebene geändert werden und es ergibt sich für einen Puls mit der zeitlich konstanten Amplitude B_1 und der Länge τ , dass die Phase der transversalen Magnetisierung im mit dem Puls mitrotierenden Koordinatensystem (Ko_{rot}) um den Wert

$$\phi_{rot} = \tau \sqrt{\omega_{rf}^2 + (\gamma B_1)^2} \quad (4.3)$$

gedreht wird. Die durch den Puls auf das Spinsystem aufgeprägte Phase ϕ_{BS} erhält man durch Rücktransformation der Lösung in das mit dem Spinsystem mitrotierende Koordinatensystem, dem sogenannten Larmorsystem, und ist somit wie folgt gegeben:

$$\phi_{BS} = \phi_{rot} - \tau \omega_{rf} = \tau \left(\sqrt{\omega_{rf}^2 + (\gamma B_1)^2} - \omega_{rf} \right) \quad (4.4)$$

Entwickelt man die Wurzel unter Verwendung der bereits verwendeten Näherung $\omega_{rf} \gg \gamma B_1$ bis zur ersten Ordnung um die Null, so erhält man den für den Bloch-Siegert-Effekt üblicherweise angegebenen Zusammenhang (hier in Integralschreibweise) [10, 69]:

$$\phi_{BS} \approx \int_0^\tau \frac{(\gamma B_1)^2}{2\omega_{rf}\Delta} dt \quad (4.5)$$

Hierbei wurde in der Gleichung 4.5 ω_{rf} durch $\omega_{rf\Delta} = \omega_{rf} - \Delta\omega_z$ ersetzt, um Magnetfeldinhomogenitäten über die Probe hinweg zu berücksichtigen. Nimmt man zudem an, dass die Offresonanz ω_{rf} des BS-Pulses deutlich größer als die lokale Magnetfeldinhomogenität $\Delta\omega_z$ ist [11], so kann folgende Näherung für ϕ_{BS} angegeben werden:

$$\phi_{BS} \approx \int_0^\tau \frac{(\gamma B_1)^2}{2(\omega_{rf} - \Delta\omega_z)} dt \approx \int_0^\tau \frac{(\gamma B_1)^2}{2\omega_{rf}} dt - \int_0^\tau \frac{(\gamma B_1)^2 \Delta\omega_z}{2\omega_{rf}^2} dt \quad (4.6)$$

Der besseren Lesbarkeit wegen wird im Weiteren der von den Hauptfeldinhomogenitäten $\Delta\omega_z$ unabhängige Anteil mit

$$a(\gamma, B_1, \omega_{rf}, \tau) = \int_0^\tau \frac{(\gamma B_1)^2}{2\omega_{rf}} dt \quad (4.7)$$

und der von den Hauptfeldinhomogenitäten $\Delta\omega_z$ abhängige Teil mit

$$b(\gamma, B_I, \Delta\omega_z, \omega_{rf}, \tau) = \int_0^\tau \frac{(\gamma B_I)^2 \Delta\omega_z}{2\omega_{rf}^2} dt \quad (4.8)$$

bezeichnet. Angesichts der Abhängigkeit der beiden Größen a und b von ω_{rf} gilt somit:

$$a(+\omega_{rf}) = -a(-\omega_{rf}) \quad \text{und} \quad b(+\omega_{rf}) = b(-\omega_{rf}) \quad (4.9)$$

4.3 Bloch-Siegert-Phase in Sequenzen

Im Rahmen dieser Arbeit steht besonders die Verwendung der BS- B_I^+ Methode in *Multi Spin Echo* (MSE) und *Turbo Spin Echo* (TSE) -Sequenzen im Vordergrund. Bei diesen sollten jedoch die CPMG Bedingungen (siehe Kapitel 2.6.3) eingehalten und damit sichergestellt werden, dass die Phasenzustände vor allen Refokussierungspulsen identisch sind. Da jedoch die BS-Pulse explizit die Phase der Magnetisierung verändern, soll im Weiteren für die von Sacolick et al. [11] vorgestellte *Single Spin Echo* Sequenz, als auch für zwei unterschiedliche BS-MSE/TSE-Sequenzen [E3, E4] die Entwicklung der BS-Phase unter Einfluss der Pulssequenz betrachtet werden. Die von diesen Sequenzen verwendeten Pulsfolgen, inklusive einer Kennzeichnung der Zeitpunkte, an denen die Phasen φ_{index} betrachtet werden, ist in den Abbildungen 4.2, 4.3, 4.4 zu finden. Die aufgeprägte BS-Phase wird, basierend auf den Gleichungen 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, unter Verwendung folgender Substitution für die unterschiedlichen Sequenzen betrachtet:

$$\begin{aligned} B &= b(\gamma, B_I^{HF}, \Delta\omega_z, +\omega_{rf}, \tau) = b(\gamma, B_I^{HF}, \Delta\omega_z, -\omega_{rf}, \tau) \\ A &= a(\gamma, B_I^{HF}, +\omega_{rf}, \tau) = -a(\gamma, B_I^{HF}, -\omega_{rf}, \tau) \end{aligned} \quad (4.10)$$

Unter der Annahme perfekter Refokussierungspulse sind die aufgeprägten Phasen in der BS *Single Spin Echo* Sequenz (siehe Abbildung 4.2) unmittelbar nach den Pulsen: Anregungspuls: P_{90° / Refokussierungspuls: P_{180° / n-ter BS-Puls mit Offresonanz $\pm\omega_{rf}$:

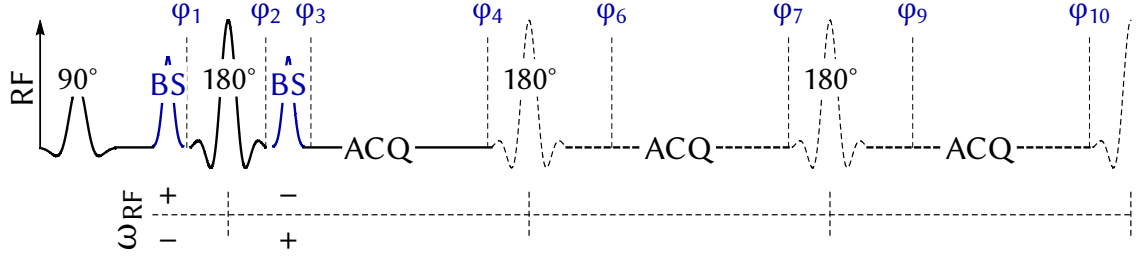


Abbildung 4.2: Schematische Darstellung der Pulsfolge für die BS-SE Sequenz [11, E3]. Der gestrichelte Bereich ist nur zur Diskussion der Phasenentwicklung dargestellt. — Neben den BS-Kodierschemata sind unter den BS-Pulsen die zugehörigen Vorzeichen von ω_{rf} angegeben. Eine Betrachtung der BS-Phasen an den durch φ_{index} gekennzeichneten Zeitpunkten ist im Abschnitt 4.3 zu finden.

$P_{BS_{n\pm}}$ wie folgt gegeben:

$$\begin{aligned}
 P_{90^\circ} &: \phi_{BS} = 0 \\
 P_{BS_{1\pm}} &: \phi_{BS} \approx (0) + (\pm A - B) = \pm A - B = \varphi_1 \\
 P_{180^\circ} &: \phi_{BS} \approx (\pm A - B) \cdot (-1) = \mp A + B = \varphi_2 \\
 P_{BS_{2\mp}} &: \phi_{BS} \approx (\mp A + B) + (\mp A - B) = \mp 2A = \varphi_3 = \varphi_4 \\
 P_{180^\circ} &: \phi_{BS} \approx (\mp 2A) \cdot (-1) = \pm 2A = \varphi_6 = \varphi_7 \\
 P_{180^\circ} &: \phi_{BS} \approx (\pm 2A) \cdot (-1) = \mp 2A = \varphi_9 = \varphi_{10}
 \end{aligned} \tag{4.11}$$

Bei *Single Spin Echo* Sequenzen wird, wie der Name schon sagt, lediglich das erste Echo akquiriert. Entsprechend sind die Phasen ab inklusive dem zweiten 180° -Puls hier nur zur Diskussion der Sequenzeigenschaften mitaufgeführt.

Unter der Annahme eines perfekt linearen HF-Pulsverstärkers sind die aufgeprägten Phasen in der BS-MSE/TSE-A Sequenz (siehe Abbildung 4.3) unmittelbar nach den Pulsen: Anregungspuls: P_{90° / Refokussierungspuls: P_{180° / n-ter BS-Puls mit Offresonanz

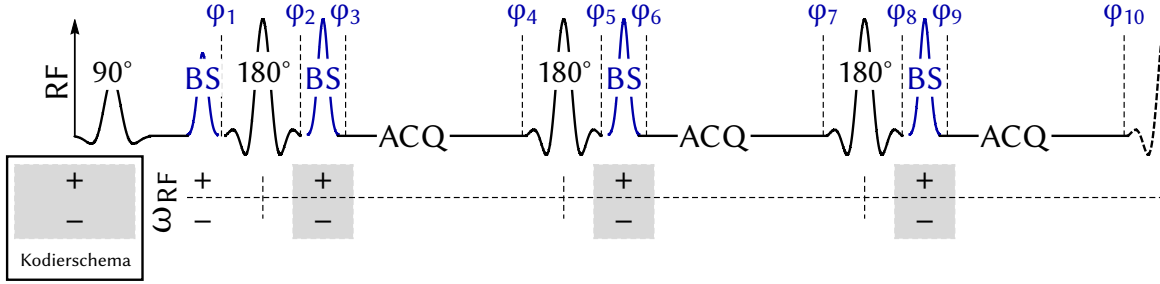


Abbildung 4.3: Schematische Darstellung der Pulsfolge für die BS-TSE-/MSE-A Sequenz [E3]. Erhaltung der CPMG-Bedingungen durch Reskalierung der BS-Pulsamplitude um den Faktor $\sqrt{2}$. — Neben den BS-Kodierschemata sind unter den BS-Pulsen die zugehörigen Vorzeichen von ω_{rf} angegeben. Hierbei bestimmen die grau hinterlegten Vorzeichen die BS-Kodierung zum Auslesezeitpunkt. Eine Betrachtung der BS-Phasen an den durch φ_{index} gekennzeichneten Zeitpunkten ist im Abschnitt 4.3 zu finden.

$\pm\omega_{rf}$ und B_1 Amplitude $k \cdot B_1^{HF}$: $P_{kBS_{n\pm}}$ wie folgt gegeben:

$$\begin{aligned}
 P_{90^\circ} &: \phi_{BS} = 0 \\
 P_{BS_{1\pm}} &: \phi_{BS} \approx (0) + (\pm A - B) = \pm A - B = \varphi_1 \\
 P_{180^\circ} &: \phi_{BS} \approx (\pm A - B) \cdot (-1) = \mp A + B = \varphi_2 \\
 P_{\sqrt{2}BS_{2\pm}} &: \phi_{BS} \approx (\mp A + B) + (\pm 2A - 2B) = \pm A - B = \varphi_3 = \varphi_4 \\
 P_{180^\circ} &: \phi_{BS} \approx (\pm A - B) \cdot (-1) = \mp A + B = \varphi_5 \\
 P_{\sqrt{2}BS_{3\pm}} &: \phi_{BS} \approx (\mp A + B) + (\pm 2A - 2B) = \pm A - B = \varphi_6 = \varphi_7 \\
 P_{180^\circ} &: \phi_{BS} \approx (\pm A - B) \cdot (-1) = \mp A + B = \varphi_8 \\
 P_{\sqrt{2}BS_{4\pm}} &: \phi_{BS} \approx (\mp A + B) + (\pm 2A - 2B) = \pm A - B = \varphi_9 = \varphi_{10}
 \end{aligned} \tag{4.12}$$

Die aufgeprägten Phasen in der BS-MSE/TSE-B Sequenz für das „+-++-“-Kodierschema (siehe Abbildung 4.4) sind unmittelbar nach den Pulsen: Anregungspuls: P_{90° /Refokussierungspuls: P_{180° / n-ter BS-Doppelpuls mit der Offresonanz $k \cdot \omega_{rf}$ in der ersten und der Offresonanz $l \cdot \omega_{rf}$ in der zweiten Pulshälfte: $P_{BS_{nk,l}}$ mit $k, l = \text{Signum}(\omega_{rf})$ wie

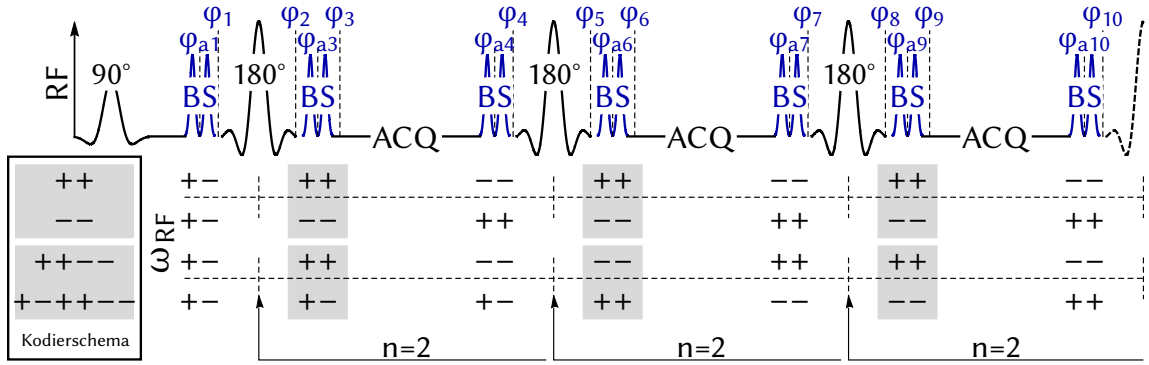


Abbildung 4.4: Schematische Darstellung der Pulsfolge für die Modifizierte BS-TSE-/MSE-B Sequenz. Die BS-Präparation vor dem ersten 180° -Puls erlaubt Variation der BS-Phase zum Auslesezeitpunkt. Erhaltung der CPMG-Bedingungen durch Verdopplung der BS-Pulse. — Neben den BS-Kodierschemata sind unter den BS-Pulsen die zugehörigen Vorzeichen von ω_{rf} angegeben. Hierbei bestimmen die grau hinterlegten Vorzeichen die BS-Kodierung zum Auslesezeitpunkt. Eine Betrachtung der BS-Phasen an den durch φ_{index} gekennzeichneten Zeitpunkten ist im Abschnitt 4.3 zu finden. Wie graphisch angedeutet, wird jeder BS-Kodierblock der BS-TSE-/MSE-B Sequenz zweimal ausgeführt.

folgt gegeben:

$$\begin{aligned}
 P_{90^\circ} &: \phi_{BS} = 0 \\
 P_{BS_{1+,-}} &: \phi_{BS} \approx (0) + (+A - B) + (-A - B) = -2B = \varphi_1 \\
 P_{180^\circ} &: \phi_{BS} \approx (-2B) \cdot (-1) = 2B = \varphi_2 \\
 P_{BS_{2+,-}} &: \phi_{BS} \approx (2B) + (+A - B) + (-A - B) = 0 = \varphi_3 \\
 P_{BS_{3+,-}} &: \phi_{BS} \approx (0) + (+A - B) + (-A - B) = -2B = \varphi_4 \\
 P_{180^\circ} &: \phi_{BS} \approx (-2B) \cdot (-1) = 2B = \varphi_5 \\
 P_{BS_{4+,+}} &: \phi_{BS} \approx (2B) + (+A - B) + (+A - B) = 2A = \varphi_6 \\
 P_{BS_{5,-,-}} &: \phi_{BS} \approx (2A) + (-A - B) + (-A - B) = -2B = \varphi_7 \\
 P_{180^\circ} &: \phi_{BS} \approx (-2B) \cdot (-1) = 2B = \varphi_8 \\
 P_{BS_{6,-,-}} &: \phi_{BS} \approx (2B) + (-A - B) + (-A - B) = -2A = \varphi_9 \\
 P_{BS_{7+,+}} &: \phi_{BS} \approx (-2A) + (+A - B) + (+A - B) = -2B = \varphi_{10}
 \end{aligned} \tag{4.13}$$

Vergleicht man nun die Entwicklung der BS-Phasen für die unterschiedlichen Pulssequenzen, so fällt zunächst auf, dass bei der *Single Spin Echo* Sequenz die für die CPMG relevanten Phasenwerte ($\varphi_1, \varphi_4, \varphi_7, \varphi_{10}$) nicht identisch sind, während die beiden ande-

ren Sequenzen jeweils für sich betrachtet innerhalb eines Kodierungsschemas identische Wert für diese Zeitpunkte liefern. Entsprechend hält nur die *Single Spin Echo* Sequenz die CPMG Bedingungen (siehe Kapitel 2.6.3) nicht ein und sollte folglich nicht als Multi Spin Echo Sequenz genutzt werden (entsprechend ist in der Abbildung 4.2 der Pulszug hinter der ersten Akquisition nur gestrichelt dargestellt).

Desweiteren fällt auf, dass nur bei dem Pulszug der BS-MSE/TSE-B Sequenz die für die CPMG Bedingung relevanten Phasenwerte ($\varphi_1, \varphi_4, \varphi_7, \varphi_{10}$) identisch und unabhängig von der zum Zeitpunkt der Datenakquisition kodierten Phase ($\varphi_3, \varphi_6, \varphi_9$) sind und damit erlaubt in einem Pulszug unter Einhaltung der CPMG Bedingungen unterschiedliche BS-Phasenzustände zu detektieren. Entsprechend dieser Modularität ergeben sich die Phasenentwicklungen der übrigen Kodierschemata der BS-MSE/TSE-B Sequenz, indem man aus der oberen Betrachtung die relevanten Phasenblöcke (jeweils den Bereich zwischen zwei aufeinanderfolgenden Refokussierungspulsen) herausgreift und entsprechend dem jeweiligen Schema aneinandersetzt.

Ein Vergleich der zu den Auslesezeitpunkten kodierten Phasenwerte ($\varphi_3, \varphi_6, \varphi_9$) liefert, dass für die *Single Spin Echo* und die BS-MSE/TSE-B Sequenz bei der Akquisition nur der von $\Delta\omega_z$ unabhängige Anteil (Term A) verbleibt. Obwohl aus diesem, anhand der eingestellten Pulsparameter, direkt der zugehörige B_1 -Wert berechnet werden kann, genügt jedoch auch bei diesen Sequenzen nicht die Messung eines einzelnen Phasenzustandes, da die präparierte BS-Phase immer mit einer unbekanntem, geräteabhängigen Phase überlagert ist, welche stets durch mehrere Faktoren – wie Kabellängen, Steckverbindung, Spulenabstimmung, etc. – beeinflusst wird [70]. Dieser Phasenoffset kann jedoch, genauso wie ein bei der BS-MSE/TSE-A Sequenz vorhandener von $\Delta\omega_z$ abhängiger Anteil (Term B), durch Subtraktion der gemessenen Phase von zwei entsprechend unterschiedlich kodierten BS-Phasenzuständen entfernt werden. Bezüglich dieses Aspektes sind somit alle drei BS-Implementierungen gleichwertig.

Es gilt somit festzuhalten, dass die BS-MSE/TSE-A und die BS-MSE/TSE-B Sequenz erlauben mit einer Anregung mehrere BS-kodierte Echos aufzunehmen und damit die Messzeit in Anwesenheit langer T_2 -Zeiten effektiv zu nutzen. Gegenüber der BS-MSE/TSE-A Sequenz verspricht in der BS-MSE/TSE-B Sequenz das 2-fache Ausführen eines jeden BS-Pulses zwischen aufeinanderfolgenden Refokussierungspulsen, dass stets – unabhängig von Feldinhomogenitäten, Nichtlinearitäten des Verstärkers, Anregungsbandbreite des BS-Pulses – im Echozug die 2-fache BS-Phase aufgeprägt werden kann, und damit

CPMG eingehalten wird. Darüber hinaus erlaubt die BS-MSE/TSE-B Sequenz aufgrund der Modularität bezüglich der Kodierung sogar eine B_1 -Karte aus einer einzelnen entsprechend kodierten *single shot* Messung zu generieren. Noch wertvoller dürfte jedoch sein, dass bei Nutzung der BS-MSE-B Sequenz zur Messung einer T_2 -Karte man auch eine B_1 -Karte erhält, ohne dass die T_2 -Bestimmung bezüglich Messzeit oder SNR darunter leiden würde.

4.3.1 Material und Methoden

Sämtliche Messungen wurden an dem 7 T Kleintier-Scanner (Biospec, Bruker BioSpin, Rheinstetten) unter Verwendung der in den Abbildungen 4.2, 4.3, 4.4 und 4.5 aufgeführten Messsequenzen durchgeführt. Als MR-Spule wurde ein am Lehrstuhl gefertigter Quadratur-Protonen-Birdcage mit einem Innendurchmesser von 35 mm verwendet.

Nomenklatur der Experimentbezeichnungen

Entsprechend Gleichung 4.6 hängt der aufgeprägte Phasenshift infolge des BS-Pulses von mehreren Parametern ab. Folglich kann durch Anpassung unterschiedlicher BS-Pulsparameter die durch den initialen BS-Puls aufgeprägte Phase im Echozug wiederhergestellt und somit die CPMG-Bedingung, dass unmittelbar vor jedem Refokussierungspuls die transversale Magnetisierung denselben Phasenzustand haben muss, erfüllt werden. Entsprechend werden Experimente, bei denen die Amplituden um den Faktor $\sqrt{2}$ skaliert wurden mit einem A, bei denen die Offresonanz ω_{rf} um den Faktor 2 skaliert wurde mit O, bei denen die Pulslänge τ um den Faktor 2 skaliert wurde mit L und die bei denen die initialen BS-Pulse zweifach ausgeführt wurden mit D markiert. Diese Markierung (X) wird gefolgt vom jeweils beim Experiment verwendeten BS-Kodierschema (siehe Abbildungen 4.2, 4.3, 4.4) tiefgestellt am Sequenznamen angehängt: *Sequenz_XKodierschema*.

Phantom Experimente

Als Phantom wurde ein 50 ml Greiner-Röhrchen (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen) genutzt, in dem zwei NMR-Röhrchen mit \varnothing 5 mm und eines mit \varnothing 10 mm platziert waren (Schematische Darstellung siehe Abbildung 4.7 a). Alle Hohlräume wurden dabei mit Hydroxyethyl Zellulose (Sigma-Aldrich Chemie GmbH), gelöst in Leitungswasser

	$\frac{\omega_{rf}}{2\pi}$ [kHz]	τ [ms]	BS_{mag} [a.u.]
Initiale BS-Pulse	16	3	1
Kodierschema:			
<u>A</u> mplitude	16	3	$\sqrt{2}$
<u>O</u> ffresonanz	8	3	1
Puls <u>L</u> änge	16	6	1
Pulsver <u>D</u> opplung	16	2×3	1

Tabelle 4.1: Durchgeführte MSE-Phantomexperimente ohne Phasenkodierung zum Vergleich der Reskalierbarkeit der BS-Phasen. Parameter der reskalierten BS-Pulse: Amplitude BS_{mag} , Offresonanz ω_{rf} , Pulslänge τ .

(0.03 g/ml), gefüllt, wobei den verschiedenen Kompartimenten unterschiedliche Konzentration (0, 0.06, 0.17 mmol/l) an Gadofluorine M (Bayer Schering AG, Berlin, Deutschland) hinzugefügt wurden, um verschiedene T_2 -Relaxationszeiten zu erhalten.

Bloch-Siegert-Phasen-Reskalierung – Stabilitätsvergleich

Um zu testen, ob sich die Skalierung der Amplitude, der Offresonanz, der Pulslänge, oder eine zweifache Ausführung des BS-Pulses besser eignet, um die CPMG Bedingung im Echozug zu erhalten, wurden ohne Phasenkodierung mehrere MSE-Messungen mit identischem initialen BS-Puls durchgeführt. Als Referenz (REF) für die Phase wurde das selbe Experiment auch ohne BS-Puls durchgeführt. Die zugehörigen Sequenzdiagramme sind in den Teilabbildungen 4.5 a–d zu finden. Im Echozug wurde hier der BS-Puls hinter die Akquisition verschoben, um im ersten Echo die Phase, die durch den initialen BS-Puls aufgeprägt wird, messen zu können. Die für die MSE-Experimente verwendeten Parameter sind: Echo-Zeit (TE): 20 ms, Repetitionszeit (TR): 2000 ms, Echo-Anzahl (NE): 36, Anzahl der Mittelungen (NA): 32, Dauer jedes Experiments (T_{exp}): 1 min 4 s. Eine Auflistung der BS-Parameter, für die durchgeführten BS-Experimente, ist in Tabelle 4.1 zu finden. Zusätzlich wurde jede Messung fünfmal durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit zu prüfen.

Simultanes B_1^+ , M_0 - und T_2 -Mapping

Um sowohl die Stabilität der Phase über die Echos hinweg, als auch die Reproduzierbarkeit bei der Bestimmung von M_0 und T_2 aus diesen Daten zu prüfen, wurden mehrere BS-

Name	$\frac{\omega_{rf}}{2\pi}$ [kHz]	τ [ms]	NR_{exp}
MSE-Ref.	n/a	n/a	n/a
BS-MSE-A _{A+/-}	8	6	2
BS-MSE-B _{D++/--}	8	3	2
BS-MSE-B _{D+++--}	8	3	1
BS-MSE-B _{D+---+-}	8	3	1

Tabelle 4.2: Durchgeführte MSE-Phantomexperimente für simultane Messung von B_1^+ , M_0 und T_2 . Die Spalte NR_{exp} gibt an wie viele Messungen nötig sind, um eine B_1^+ -Berechnung zu erlauben und τ gibt die Länge der jeweils verwendeten BS-Pulse an.

MSE-Experimente durchgeführt, bei denen eine einzelne 2 mm dicke Schicht innerhalb des Phantoms mit einem FOV von $30 \times 30 \text{ mm}^2$ und einer Matrixgröße (MTX) von 128×128 gemessen wurde. Die Anregung und Refokussierung fand hierbei mit schichtselektiven 1 ms langen (Bandbreite: 5.4/3.4 kHz) Hermite-Pulsen statt. Um die Refokussierungspulse herum wurden die BS-Pulse und um diese die in Schichtrichtung geschalteten Crusher-Gradienten jeweils symmetrisch platziert. Sonstige bei allen MSE-Experimenten verwendete Parameter sind: TE: 20 ms, TR: 2000 ms, NE: 36, Readout symmetrisch. T_{exp} : 4 min 16 s, Zahl der Dummy-Scans (ND): 2. Jedes Experiment wurde fünfmal wiederholt, um die Robustheit der jeweiligen BS-Methode zu testen. Eine Auflistung der BS-Parameter, für die durchgeführten BS-Experimente, ist in Tabelle 4.2 zu finden.

Fast B_1^+ -Mapping

Um einen Vergleich zwischen verschiedenen schnellen BS- B_1^+ -Mapping-Strategien zu ermöglichen, wurden mehrere linear kodierte Experimente durchgeführt. Im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen MSE-Experimenten, wurde die Echozeit TE auf 10 ms reduziert, um ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) zu erhalten und unterschiedliche TR und Matrixgrößen verwendet. Eine Auflistung der Sequenzen und der entsprechenden Parameter findet sich in Tabelle 4.3.

In Vivo Experimente

Alle Tierexperimente waren durch die Regierung von Unterfranken genehmigt und wurden in Übereinstimmung mit dem deutschen Tierschutzrecht durchgeführt. Die Tiere wurden

4.3 Bloch-Siegert-Phase in Sequenzen

Name	$\frac{\omega_{rf}}{2\pi}$ [kHz]	τ [ms]	NR_{exp}	TR [ms]	MTX	N_{Echos}	T_{exp}
BS-SE $_{+/-}$	32	1	2	250	128 ²	1	64s
BS-TSE-A $_{A+/-}$	32	1	2	1000	128 ²	8	32s
BS-TSE-B $_{D++/--}$	32	0.5	2	1000	128 ²	8	32s
BS-MSE-B $_{D++---$	32	0.5	1	250	128 ²	4	32s
BS-MSE-B $_{D+---}$	32	0.5	1	250	128 ²	6	32s
BS-TSE-B $_{D+---}$	32	0.5	1	700	34 ²	68	0.7s

Tabelle 4.3: Durchgeführte BS-Phantomexperimente bezüglich schneller B_1^+ -Bildgebung. Die Spalte NR_{exp} gibt an wie viele Messungen nötig sind, um eine B_1^+ -Berechnung zu erlauben, τ gibt die Länge der jeweils verwendeten BS-Pulse und N_{Echos} die Anzahl der mit einem Echozug akquirierten Echos an. Der Beschleunigungsfaktor der TSE-Experimente ist identisch mit der Anzahl an akquirierten Echos. Dies gilt jedoch nicht für das letzte aufgeführte Experiment, da hier, um single shot B_1^+ -Mapping zu erlauben, zwei Bilder im Echozug aufgenommen werden mussten und dementsprechend ein Beschleunigungsfaktor von 34 gewählt wurde.

unter standardisierten Lichtbedingungen mit freiem Zugang zu Nahrung und Wasser gehalten. Für die *in vivo* akquirierten Bilder wurde eine Wildtypmaus mit 2¹/_{min} Sauerstoff versorgt, welches zur Anästhesierung mit 1.5 % Isofluran versehen wurde. Die MSE-Daten wurden in einer sagittalen Schicht im Mauskopf mit einer Schichtdicke von 2 mm, einem FOV von 30×40 mm² und einer Matrix von 128×171 akquiriert. Sonstige verwendete Parameter waren: TE: 10 ms; TR: 2000 ms; NE: 36 Echobilder. Entsprechend benötigte jede Messung 5 min 42 s. Die zugehörigen BS-Parameter sind wiederum der Tabelle 4.4 zu entnehmen.

Name	$\frac{\omega_{rf}}{2\pi}$ [kHz]	τ [ms]	NR_{exp}
MSE-Ref.	n/a	n/a	n/a
BS-SE $_{+/-}$	32	1	2
BS-MSE-B $_{D++---$	32	0.5	1
BS-MSE-B $_{D+---}$	32	0.5	1

Tabelle 4.4: Durchgeführte SE/MSE *in vivo* Experimente für simultane Messung von B_1^+ , M_0 und T_2 . Die Spalte NR_{exp} gibt an wie viele Messungen nötig sind, um eine B_1^+ -Berechnung zu erlauben und τ gibt die Länge der jeweils verwendeten BS-Pulse.

Daten-Auswertung

M_0 - und T_2 -Karten wurden pixelweise durch einen exponentiellen Fit, unter Verwendung einer *Maximum Likelihood Optimierung* [63], an die gemessenen Magnitudendaten bestimmt. Zur Berechnung der B_1 -Karten wurden entsprechend dem Abschnitt 4.3 die Phasendifferenzen von Messwerten entgegengesetzter BS-Puls-Kodierungen gebildet und gemäß der Gleichungen in [11, E3] verrechnet.

$$\Delta\phi_{BS} \approx \int_0^\tau \frac{(\gamma B_1(t))^2}{\omega_{rf}(t)} dt \Rightarrow B_{1,hp} \approx \sqrt{\Delta\phi_{BS} K} \quad (4.14)$$

$$K = \frac{\omega_{rf}}{\tau\gamma^2 K_{BS_P}} \text{ mit } K_{BS_P} = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N (B_{1,norm}(n))^2 \quad (4.15)$$

In der Konstanten K sind hierbei die für den BS-Puls spezifischen Konstanten inklusive der aus der BS-Pulsform folgenden Normierungskonstante K_{BS_P} zusammengefasst. Die aus der Gleichung 4.14 resultierende B_1 -Amplitude $B_{1,hp}$ ist, aufgrund der Verwendung der Normierungskonstante K_{BS_P} , auf den B_1 -Wert reskaliert, der die gemessene BS-Phase bei Einsatz eines sonst identischen blockförmigen BS-Pulses erzeugt hätte. Für den hier verwendeten gaußförmigen BS-Puls, bestehend aus 256 Stützpunkten (N), gilt: $K_{BS_P} = 0.30$.

Um möglichst effizient die aufgenommene Information zu nutzen, wurde bei den MSE-Sequenzen aus den Echos gleicher BS-Phase das mit einem exponentiellen Filter gewichtete Mittel gebildet. Die pixelweise gefittete T_2 -Zeit diente hierbei jeweils als Basis für die Wichtung des exponentiellen Filters [71, 72]. Die Phase des resultierenden Datensatzes wurde dann zur Berechnung der B_1 -Karte herangezogen. Vor Erstellung der B_1 -Karte aus den *single shot*-Daten (BS-TSE- B_{D++--}) wurde diese auf eine 128×128 Matrix, unter Verwendung von Zerofilling, interpoliert.

4.3.2 Ergebnisse: Phantom-Experimente

Vergleich unterschiedlicher Strategien zur Bloch-Siegert-Kodierung bezüglich ihrer CPMG-Stabilität

Abbildung 4.5 zeigt die Ergebnisse von MSE-Experimenten ohne Phasenkodierung. Während die Teilabbildungen 4.5 a–d Schaubilder von den unterschiedlichen BS-Kodierungsstrategien zeigen, liefern die Teilabbildungen 4.5 e–h die zugehörigen experimentellen Daten. Jeder Plot zeigt hierbei die mittlere Phase eines jeden Echos aus fünf unabhängigen Messungen (blau) relativ zur mittleren Phase des Referenz-Experiments ohne BS-Puls (rot) mitsamt der zugehörigen Standardabweichung. In Form einer durchgezogenen Linie ist der mittlere Phasenwert des ersten Echos eingezeichnet, um die potentielle Phasenstabilität über die Echos hinweg optisch zu verdeutlichen. Mit allen Kodierstrategien war die im ersten Echo kodierte Phase identisch. Bei der in Teilabbildung 4.5 a gezeigten Variante der Reskalierung der Pulsamplitude ist am Anfang des Echozuges ein deutliches „Springen“ der Phase zu beobachten, infolge dessen sich die Phase in den späteren Echos auf einem erkennbar anderen Wert stabilisiert. Für die übrigen betrachteten Strategien ergab sich über alle Echos hinweg eine weitgehend stabile mittlere Phase (Teilabbildungen 4.5 e–f).

Simultanes B_1^+ , M_0 - und T_2 -Mapping

Alle in Abbildung 4.6 a–c aufgetragenen Ergebnisse von MSE-Experimenten am Phantom zeigen, dass die kodierte Phase im Echozug weitgehend erhalten werden konnte, obgleich eine leichte Phasendrift ab dem 25. Echo zu beobachten ist. In Abbildung 4.6 a ist die mittlere Phase des Referenz-MSE-Experiments – ohne BS-Pulse mit ansonsten aber identischem Timing – aufgetragen (rot). Desweiteren ist, wie in Abbildung 4.6 a ersichtlich, zwischen den Kodierungsstrategien BS-MSE- A_{A-}/B_{D--} , als auch zwischen BS-MSE- A_{A+}/B_{D++} ein leichter Offset von etwa 5% zwischen den absoluten Phasenwerten, bei gleichem ω_{rf} , zu beobachten. Zusätzlich ist in Übereinstimmung mit [E3] in den ersten Echos der BS-MSE-A Messdaten ein „Phasenspringen“ zu erkennen, welches in den BS-MSE-B Messungen nicht vorhanden ist.

Abbildung 4.6 b zeigt die mittleren Phasen der BS-MSE- B_{D++--} Messungen, welche nahezu identisch mit den entsprechenden mittleren Phasen der BS-MSE- $B_{D++/--}$ Messungen gleicher BS-Kodierung sind. Selbiges trifft auch für die BS-MSE- $B_{D+--+--}$

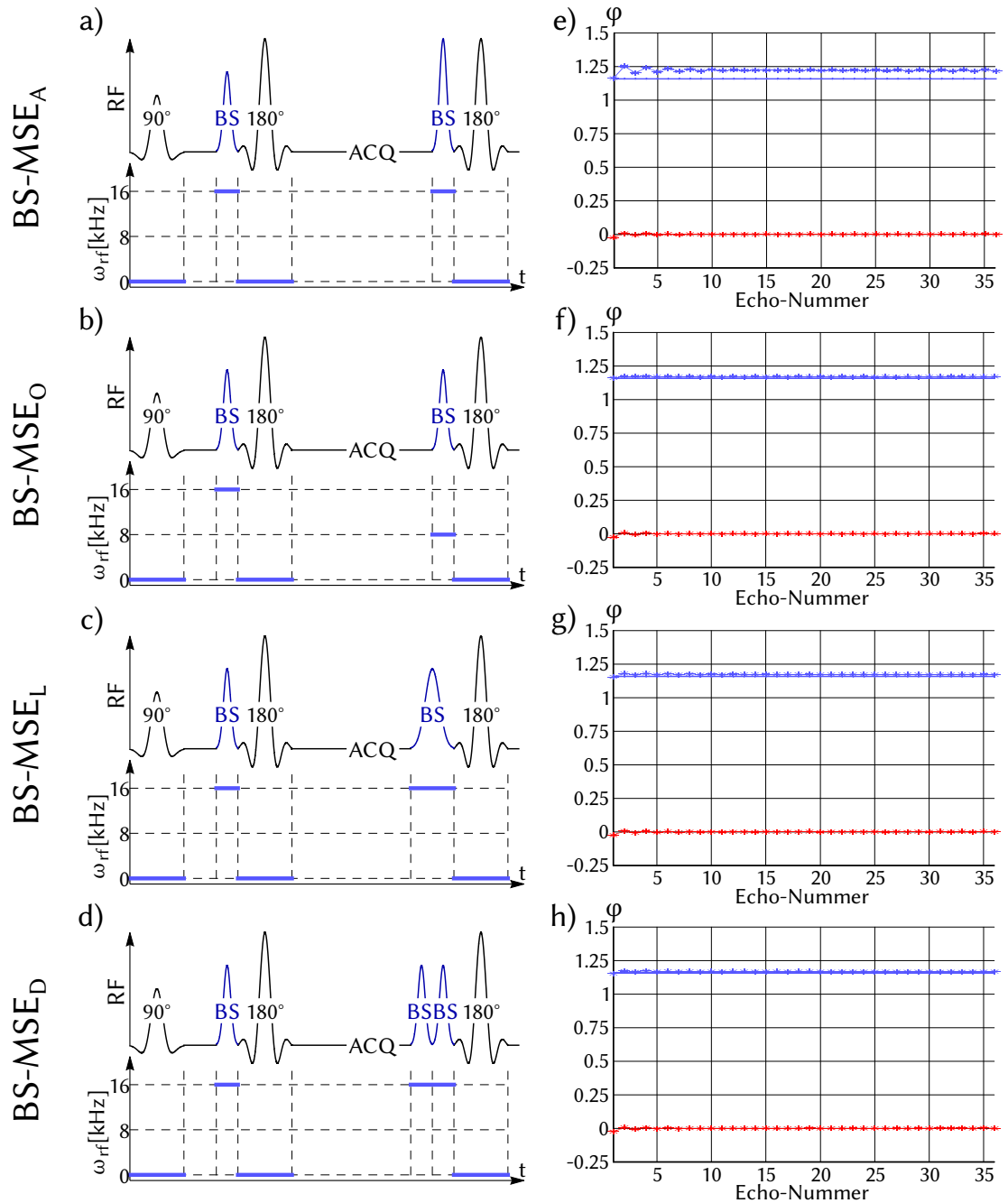


Abbildung 4.5: a–d) Sequenzdiagramme für die verschiedenen BS-Phasen Reskalierungsmethoden in einem CPMG-Echozug. — e–h) Zugehörige mittlere Phasenwerte der Magnetisierung aus jeweils fünf Messungen eines jeden aufgenommenen Echos (blau) inklusive der resultierenden Standardabweichung. Die aufgetragenen Phasenwerte sind bezüglich der mittleren Phase des Referenzexperimentes ohne BS-Pulse (rot) aufgetragen.

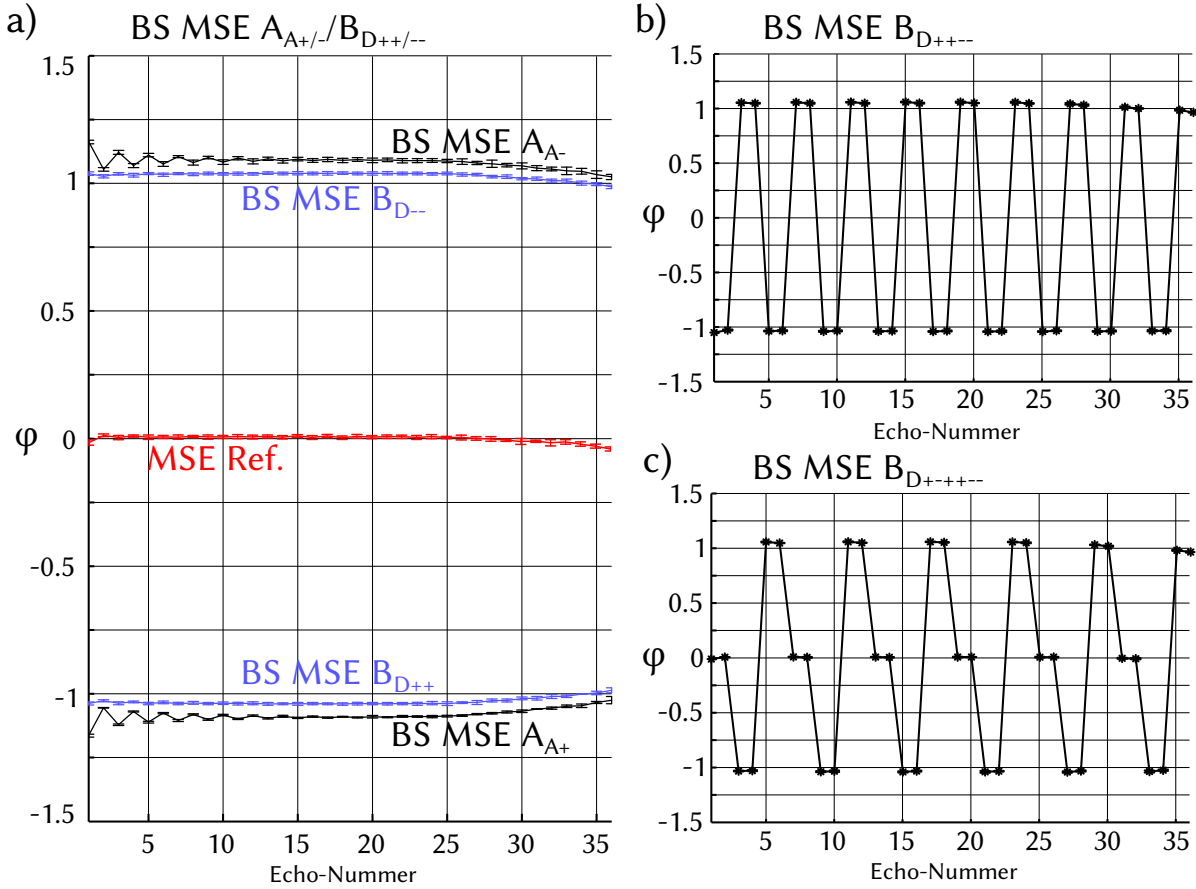


Abbildung 4.6: Stabilität der kodierten BS-Phase im Echozug. a-c) Darstellung der mittleren gemessenen Phase mit Standardabweichung aus fünf unabhängigen BS-Bilgebungs-messungen über der entsprechenden Echonummer. Aus Darstellungsgründen sind die Phasen relativ zur gemessenen Phase ohne BS-Kodierung angegeben. (Analog zu [E4])

Messungen in Abbildung 4.6 c) zu, wobei hier zusätzlich Echos ohne BS-Kodierung erzeugt werden, welche eine zu dem Referenz-Experiment (Abbildung 4.6 a) vergleichbare Phase liefern. In der Abbildung 4.7 a) ist eine schematische Darstellung des verwendeten Phantoms gegeben, wobei die verschiedenen Bereiche (ROI) mit Indizes versehen sind. B_1^+ -Karten der verschiedenen Sequenzen/Kodierschemata sind in Abbildung 4.7 b) dargestellt, welche gemäß der im Methodenteil gegebenen Beschreibung gefiltert und gemittelt wurden. Zwischen den B_1^+ -Werten der BS-MSE- $A_{A+/-}$ Messungen ($\overline{B_1^+} = 28.6 \pm 0.7 \mu\text{T}$) und den beiden BS-MSE-B Messungen ($\overline{B_1^+} = 28.6 \pm 0.7 \mu\text{T}$) tritt hierbei ein leichter Unterschied zu Tage. Die berechneten M_0-/T_2 -Karten die aus den unterschiedlichen BS-MSE Messungen sowie der Referenz-Messung berechnet wurden, sind in den Teilabbil-

Name	ROI 1	ROI 2	ROI 3	ROI 4
M_0 [a.u.]				
MSE-Ref.	0.40±0.01	0.58±0.09	0.79±0.05	0.88±0.06
BS-MSE-A _{A+/-}	0.41±0.01	0.59±0.09	0.79±0.05	0.88±0.06
BS-MSE-B _{D++/--}	0.42±0.01	0.60±0.09	0.80±0.06	0.89±0.06
BS-MSE-B _{D++--}	0.43±0.01	0.60±0.09	0.80±0.06	0.89±0.06
T_2 [ms]				
MSE-Ref.	177.70±2.91	163.01±22.12	102.81±1.77	107.71±1.54
BS-MSE-A _{A+/-}	182.09±2.91	166.97±22.66	104.27±1.91	109.56±1.57
BS-MSE-B _{D++/--}	186.97±3.07	171.38±23.26	106.01±1.86	111.85±1.62
BS-MSE-B _{D++--}	189.88±3.10	173.76±23.60	106.80±1.93	112.85±1.70

Tabelle 4.5: Quantitative Werte zu Abbildung 4.7 für verschiedene Bereiche des Phantoms.

dungen 4.7 c–d zu finden. Wie hier und in Tabelle 4.5 ersichtlich weisen die berechneten M_0 -Werte eine gute Übereinstimmung zwischen den unterschiedlichen Messungen auf, wobei aufgrund der gewählten Repetitionszeit (TR) von 2000 ms zwischen den verschiedenen Kompartimenten ein offensichtlicher T_1 -Einfluss erkennbar ist. Ebenfalls findet sich bei den T_2 -Karten, sowie in der Tabelle 4.5 eine gute Übereinstimmung, die jedoch einen leichten Drift zu höheren T_2 -Werten in den Karten von links nach rechts und in der Tabelle von oben nach unten aufweist.

Schnelles B_1^+ -Mapping

Die Abbildung 4.8 zeigt die aus den schnellen BS-Experimenten berechneten B_1^+ -Karten, welche alle vergleichbare Werte liefern. Hierbei sind jedoch in Phasenrichtung der BS-TSE-A_{A+/-} Sequenz (Pfeile in Abbildung 4.8 b) leichte Artefakte und in den Abbildungen 4.8 a–e leichtes Rauschen zu erkennen. Im Kontrast hierzu tritt in der B_1^+ -Karte des *single shot* BS-TSE-B_{D++--} Experiments (Abbildung 4.8 f) aufgrund des langen Echozuges im Verhältnis zu den T_2 -Zeiten der Probe eine deutlicher Auflösungsverlust (Weichzeichnung) zu Tage.

4.3.3 Ergebnisse: in vivo Experimente

In der Abbildung 4.9 sind die Ergebnisse der *in vivo* durchgeführten MSE-Experimente zusammengefasst. In der Teilabbildung 4.9 a sind die gefitteten M_0 -Karten der MSE-

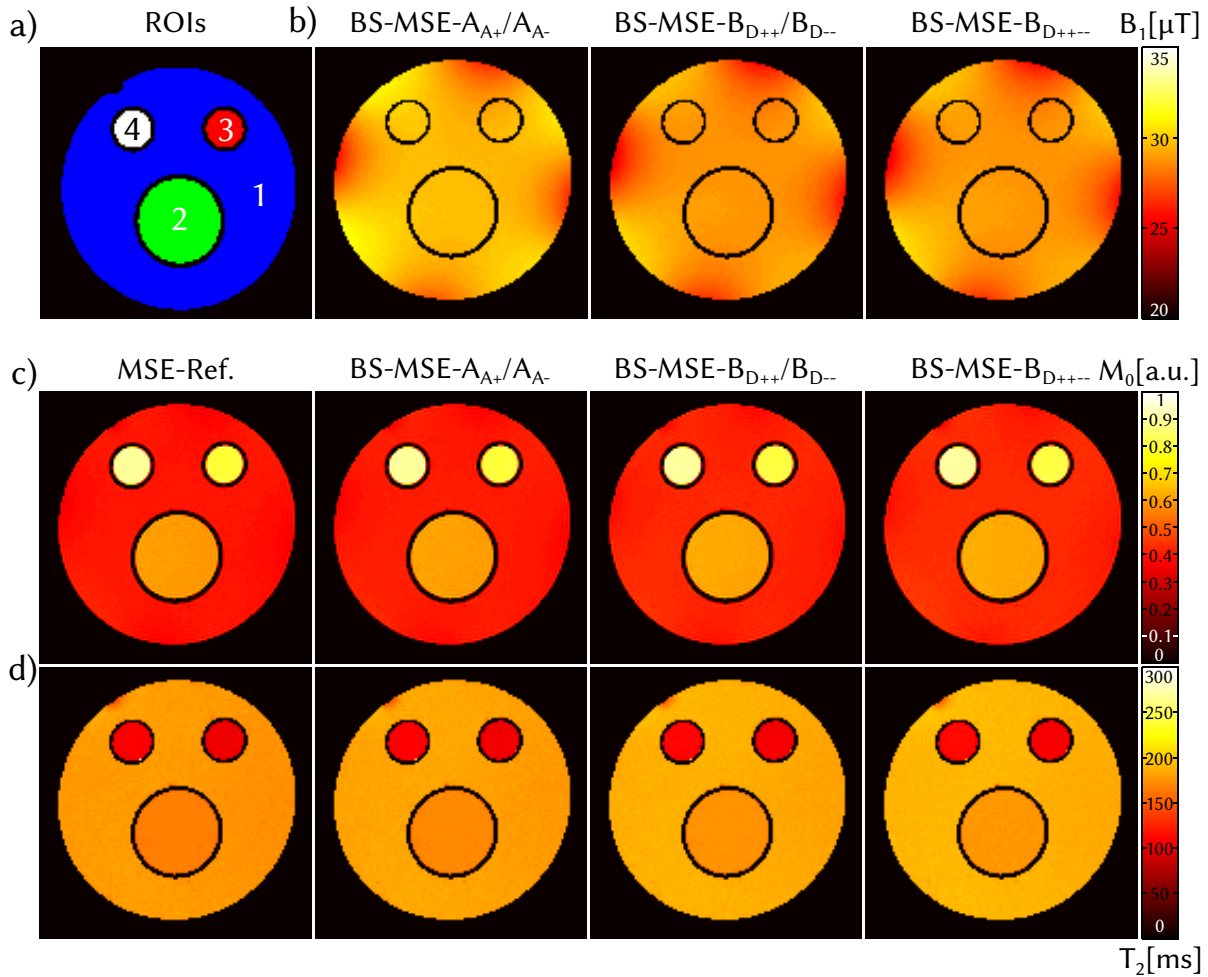


Abbildung 4.7: *Quantitative Ergebnisse der BS-MSE-Experimente. (Analog zu [E4]) a) Schematische Karte des Phantoms mit Markierungen für die unterschiedlichen Bereiche. b) Gemessene B_1^+ -Karten unter Verwendung der vorgestellten BS-MSE-Sequenzen. Für Letztere in der Reihe (BS-MSE- $B_{D^{++--}}$) war aufgrund der Kodierung lediglich eine Messung notwendig. Unter c) sind die zugehörigen M_0 und unter d) die zugehörigen T_2 Karten zu finden. – Mittelwerte für die unterschiedlichen ROIs sind Tabelle 4.5 zu entnehmen.*

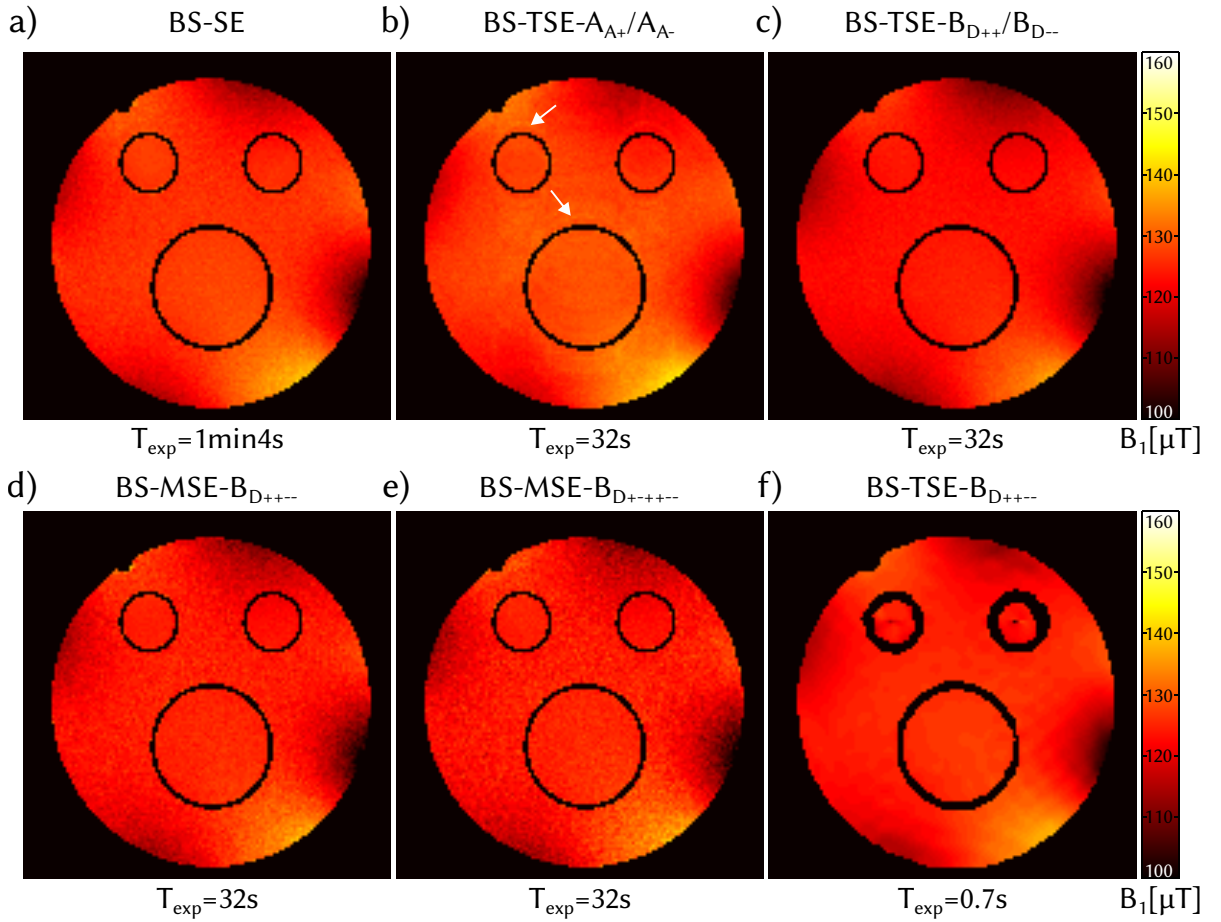


Abbildung 4.8: B_1^+ -Karten erstellt aus unterschiedlichen BS-Experimenten. d-f) Die nötigen Daten für die B_1^+ -Berechnung wurden in einem einzelnen Experiment akquiriert, wobei die unter f) gezeigte B_1^+ -Karte sogar das Ergebnis einer single shot Messung ist. Alle Karten zeigen dabei ähnliche B_1^+ -Werte, wobei leichte für TSE typische Artefakte bei der BS-TSE- $A_{A+/-}$ Karte erkennbar sind (Pfeil in b). (Analog zu [E4])

Referenz, der BS-MSE- B_{D+---} und der BS-MSE- B_{D+----} Messungen abgebildet. Diese zeigen jeweils eine sehr ähnliche M_ρ -Verteilung, deren Werte stets auf der rechten Seite der gestrichelten Linie abfallen. Eine gute Übereinstimmung weisen auch die aus demselben Fit stammenden T_2 -Karten auf (Abbildung 4.9 b), sowie die getrennt hiervon berechneten B_1^+ -Karten (Abbildung 4.9 c). Zwar liefert die B_1^+ -Karte der BS-SE-Sequenz zur Linken der gestrichelten Linie die wenigsten Störungen, jedoch zeigt gerade diese am rechten Rand (Pfeil) einen stark lokalen Abfall in den B_1^+ -Werten, der in dieser Form auf den beiden BS-MSE-B Karten nicht existiert. Darüber hinausgehend ergeben sich für

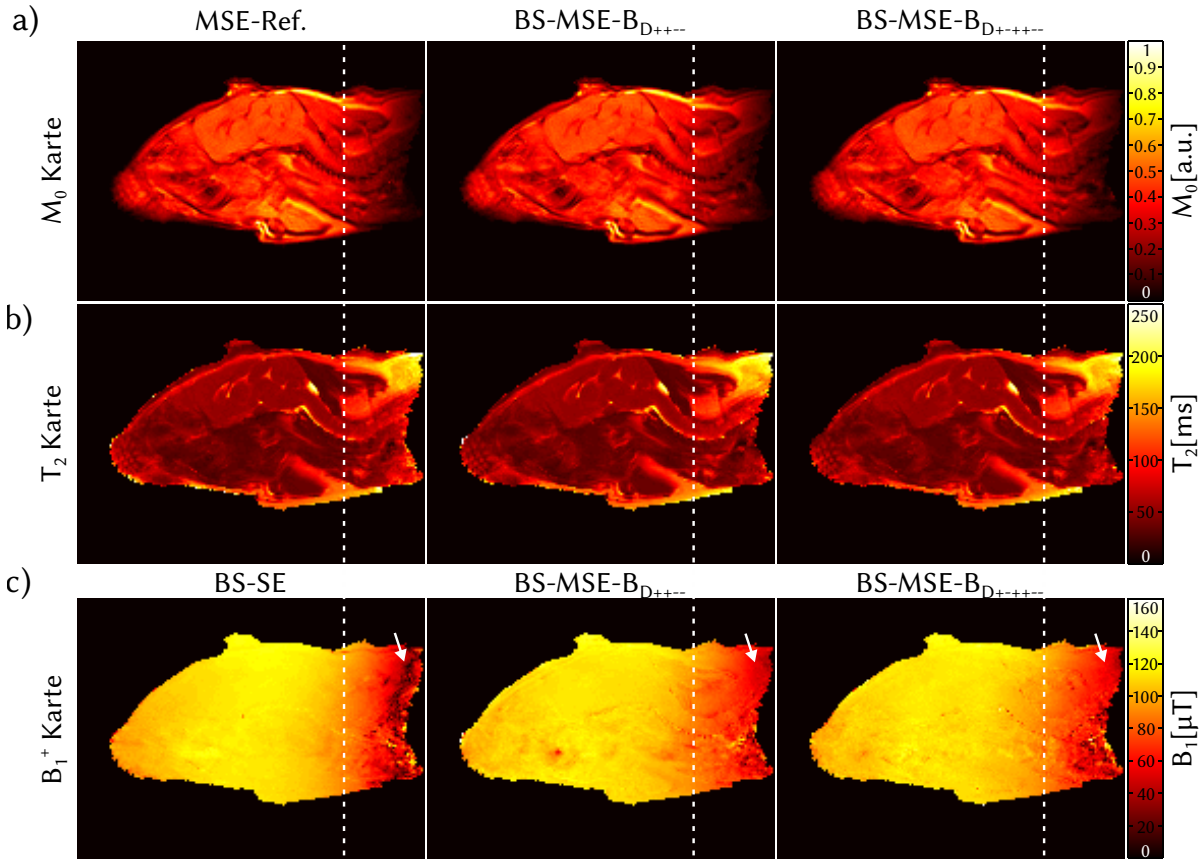


Abbildung 4.9: Die in vivo BS-Messungen zeigen eine sagittale Schicht durch das Gehirn einer Maus. a–c) Erstellte M_0 -, T_2 - und B_1^+ -Karten inklusive Referenzdaten gewonnen aus MSE- bzw. BS-SE-Messungen. Dabei treten rechts des gestrichelten Striches eher niedrigere M_0 -Werte auf, während die resultierenden T_2 -Werte hier erhöht und die B_1^+ -Werte wiederum erniedrigt sind. Darüber hinausgehend ergeben sich in dem mit Pfeil markierten Bereich für die BS-SE Sequenz stark reduzierte B_1^+ -Werte. (Analog zu [E4])

alle Sequenzen in Bereichen mit erniedrigten B_1^+ -Werten erhöhte T_2 -Werte.

4.3.4 Diskussion Bloch-Siegert-MSE/TSE

Die Ergebnisse zeigen, dass die vorgeschlagene Modifikation bezüglich der Anwendung von offresonanten BS-Pulsen bei CPMG-basierter MSE- als auch TSE-Bildgebung einige Vorteile aufweist. So konnte, durch die Präparation mit zwei BS-Pulsen unterschiedlicher Offresonanz vor dem ersten Refokussierungspuls, in einem einzigen Experiment simultanes B_1^+ , M_0 - und T_2 -Mapping demonstriert werden. Darüber hinaus vermeidet

die Modifikation für CPMG-basierte BS- B_1^+ -Bildgebung Bildartefakte, die durch Skalierungsprobleme beim Schalten verschieden starker BS-Pulse in einem CPMG-basierten BS-Echozug auftreten können. Auch wenn beim direkten Vergleich im Phantom CPMG eingehalten werden konnte durch Variation der Offresonanz, durch Variation der Pulslänge sowie durch Pulsverdopplung, so verspricht doch die letztere Variante die größte Robustheit. Denn 2-faches Ausführen ein und desselben BS-Pulses liefert unabhängig von der Feldhomogenität oder Anregungsbandbreite des BS-Pulses zuverlässig die geforderte 2-fache BS-Phase. Entsprechend wird für die BS-MSE/TSE-B Sequenz diese Variante verwendet.

Prinzipiell ermöglicht zwar die BS-CPMG-TSE-Bildgebungssequenz B_1^+ -Karten durch *single shot* Messungen zu akquirieren. Da jedoch die selbe Echoanzahl aufgenommen werden muss wie bei den Methoden, die zwei BS-Experimente nacheinander nutzen, ist die erreichbare Auflösung – je nach den vorhandenen T_2 -Relaxationszeiten in der Probe – stark eingeschränkt. Aufgrund der sich bereits für die akquirierte B_1^+ -Karte (Abbildung 4.8 f) in den Bereichen der kürzesten T_2 -Zeiten ergebenden Artefakte, könnte es entsprechend von Vorteil sein, bei der BS-TSE-Bildgebung die benötigten Informationen nicht in einer einzelnen *single shot* Messung aufzunehmen, sondern die Daten auf zwei Messungen aufzuteilen. Hierdurch könnte gewährleistet werden, dass zusammengehörige Phasenkodierungen mit vergleichbarer T_2 -Wichtung, aber vor allem, aufgrund der relativ kurzen T_2 -Zeiten, mit noch genügend Signal akquiriert werden können.

Trotz verringerter Messzeit und einer auf die Hälfte reduzierten kodierten BS-Phase kann die BS-TSE-Sequenz B_1^+ -Karten (Abbildung 4.8 b–c) von vergleichbarer Qualität zur BS-SE Sequenz erzeugen (Abbildung 4.8). Dieser Umstand ist darauf zurückzuführen, dass bei gleicher Gesamtmesszeit, aufgrund der beschleunigten Akquisition durch die TSE-Sequenz, längere TR-Zeiten verwendet werden können, die in Proben mit entsprechenden Relaxationszeiten zu einem höheren SNR führen [E3, 73]. Entsprechend ergeben sich bei gleicher Messzeit für die BS-TSE-Sequenz (Abbildung 4.8 b–c) aufgrund der effektiv längeren Repetitionszeit im Vergleich zur BS-MSE-B-Sequenz (Abbildung 4.8 d–e) B_1^+ -Karten mit einem niedrigeren Rauschlevel. Vergleicht man hingegen die B_1^+ -Karten der BS-SE-Messungen (Bild 4.8 a) mit denen der BS-MSE-B-Messungen (Bild 4.8 d–e), so sind die der letztgenannten Sequenz aufgrund einer auf etwa die Hälfte reduzierten BS-Kodierung zwar stärker rauschbehaftet, jedoch wurde wegen identisch gewählter Repetitionszeiten auch nur die halbe Messzeit benötigt. Allerdings können sich, durch die

Nutzung von aufeinanderfolgenden Echos im Echozug zur Beschleunigung, bei BS-TSE-Messungen im Gegensatz zu BS-SE- und BS-MSE-Messungen sogenannte TSE-Artefakte ergeben.

Das leichte Springen der Phase im Echozug der BS-MSE-A-Sequenz (Abbildung 4.6 a) schlägt sich auch in den zugehörigen BS-TSE-A- B_1^+ -Karten nieder (Abbildung 4.8 b). Da laut Gleichung 4.14 die effektive BS-Phase direkt proportional zum Quadrat des B_1^+ -Wertes ist, führt eine Fehlanpassung der BS-Puls-Amplituden – zum Beispiel aufgrund von Nichtlinearitäten in der Verstärkerkurve des Pulssenders – zu einem Phasenspringen im Echozug der BS-MSE/TSE-A-Sequenzen. Darüber hinaus beruht der hier genutzte Zusammenhang zwischen erzeugter effektiver Phase und B_1^+ (Gleichung 4.14) auf Näherungen, so dass unter Umständen ein Anteil der Abweichung auch hierauf zurückzuführen sein könnte. Das besagte Phasenspringen und auch eine Korrekturmöglichkeit durch eine manuelle Feinabstimmung der BS-Puls-Amplituden im Echozug wurde bereits in [E3] gezeigt. Hierfür müssen jedoch zusätzliche Messungen inklusive potentiell iterativer Anpassungen durchgeführt werden, während dieses Problem durch zweifaches Ausführen der initialen BS-Pulse pro Echointervall intrinsisch vermieden werden kann, da lediglich BS-Pulse identischer Amplituden verwendet werden (Abbildung 4.6 a). Vergleicht man die hier betrachteten BS-Sequenzen, so fällt der Unterschied zwischen den resultierenden B_1^+ -Werten kleiner aus, als die Standardabweichung der einzelnen Messungen, wobei die Abweichungen bei der BS-TSE-/MSE-A-Sequenz der bereits diskutierten Skalierungsproblematik für die BS-Puls Amplituden zuzuordnen sein dürfte [E3]. Für den in den Teilabbildungen 4.6 a–c ab dem 25. Echo erkennbaren Phasendrift dürfte das durch den fortgeschrittenen T_2 -Signalabfall deutlich verschlechterte Signal-Rausch-Verhältnis ursächlich sein, während für den leichten Drift der T_2 -Werte (Abbildung 4.7 d, Tabelle 4.5) zwischen den unterschiedlichen MSE-Sequenzen Erwärmungseffekte verantwortlich sein dürften. Diese These wird dadurch gestützt, dass die Messungen in schneller Abfolge hintereinander durchgeführt wurden und die Verlängerung der T_2 -Werte mit der Reihenfolge korrelieren, in der die Experimente durchgeführt wurden. Entsprechend tritt der Effekt der T_2 -Verlängerung zwischen der Referenz- und der BS-MSE-Messung in den *in vivo* durchgeführten Messungen nicht auf, da die Experimente hier nicht unmittelbar hintereinander gestartet wurden. In den aus den *in vivo* akquirierten Daten erstellten T_2 - und M_0 -Karten schlägt sich jedoch aufgrund der rechts der gestrichelten Line (Abbildung 4.9) deutlich abfallenden B_1^+ -Werten der Spule und damit in diesen Bereichen entspre-

chend imperfekten Refokussierungspulsen eine verstärkte T_1 -Wichtung nieder, die sich durch eine Verlängerung der gemessenen T_2 -Werte und einer Reduzierung der M_0 -Werte bemerkbar macht [74, 75]. Bei näherer Betrachtung der B_1^+ -Karte, die aus dem *in vivo* akquirierten BS-SE- B_1^+ -Datensatz erstellt wurde, fällt zudem ein stark lokaler Abfall der berechneten B_1^+ -Werte auf, der in den mit den beiden anderen Sequenzen erstellten Karten keine Entsprechung hat (Pfeile in Teilabbildungen 4.9 c) und auch aufgrund der Geometrie der verwendeten Sendespule als Artefakt zu betrachten ist. Im Gegensatz zu einer SE-Sequenz verwenden MSE-/TSE-Sequenzen nicht nur das erste Echo und können entsprechend von dem Umstand profitieren, dass Imperfektionen in der Refokussierung durch subsequente Refokussierungspulse – bei Einhaltung der CPMG-Bedingungen – teilweise kompensiert werden können [46]. Betrachtet man die SAR-Werte bezogen auf die benötigte Zeit für eine vollständige Messung, so sind diese für die BS-TSE-A-Sequenz niedriger als für die BS-SE-Sequenz [E3]. Der Bezug des SAR-Wertes auf die Repetitionszeit wäre beim Vergleich dieser beiden Sequenzen nicht gerechtfertigt, da die TSE-Sequenz in dieser Zeit ein Vielfaches an Daten akquiriert und somit bei gleicher Messzeit längere Repetitionszeiten erlaubt. Bezieht man in den Vergleich auch die BS-TSE-B- B_1^+ -Sequenz mit ein, so sind aufgrund der Ähnlichkeit zwischen der BS-TSE-A und BS-TSE-B bei Verwendung vergleichbarer Parameter entsprechend gleichwertige SAR-Werte zu erwarten. Folglich sollte diese Sequenz auch im klinischen Bereich einsetzbar sein. Darüber hinaus können bei MSE/TSE- B_1^+ -Bildgebung auch die Vorteile von SAR-optimierten Echozügen (Verwendung von Refokussierungspulsen mit reduzierten Flipwinkeln [74–76]) genutzt werden, um die SAR-Werte der Sequenzen zu reduzieren.

4.4 Bloch-Siebert-Theorie

Für die im Kapitel 4.2 gezeigte Herleitung der Bloch-Siebert-Gleichung ist die Annahme $\omega_{rf} \gg \omega_1$ unabdingbar, obgleich in fast allen Arbeiten, die sich mit dem BS-Effekt zur Bestimmung von B_1^+ -Karten beschäftigen, diese Bedingung – angesichts der Ergebnisse offensichtlich zu recht – sehr locker gehandhabt wird. Entsprechend muss man sich natürlich die Frage stellen, um wieviel ω_{rf} größer ω_1 sein muss, damit die BS-Gleichungen genutzt werden können und ob durch spezielle Maßnahmen der Gültigkeitsbereich für die BS-Gleichungen beeinflusst werden kann. Folglich soll hier unter weitestgehender Vermeidung einer solchen Annahme ausgehend von Gleichung 2.8 die Wirkung eines

blockförmigen HF-Pulses nachvollzogen werden. Die äußeren Magnetfelder \vec{B} werden im Weiteren durch die zugehörigen MR-Frequenzen $\vec{\omega} = \gamma\vec{B}$ dargestellt.

4.4.1 Herleitung der Bloch-Siegert-Phase

Das äußere Feld $\vec{\omega}_{ges}$ setzt sich aus der Vektorsumme folgender Feldanteile zusammen:

$$\vec{\omega}_{ges} = \vec{\omega}_0 + \Delta\vec{\omega}_0 + \vec{\omega}_1 \quad (4.16)$$

Hier stellt $\vec{\omega}_0$ den perfekt homogenen Anteil des MR-Hauptfeldes, dessen Inhomogenitäten in der Größe $\Delta\vec{\omega}_0$ abgebildet sind, und $\vec{\omega}_1$ das mit der Frequenz $(\omega_0 + \omega_{rf})$ oszillierende Feld des HF-Pulses mit der Offresonanz ω_{rf} bezüglich der Larmorfrequenz ω_0 dar, wobei $\vec{\omega}_1 \perp \vec{\omega}_0$:

$$\begin{aligned} \vec{\omega}_0 &= \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ \omega_0 \end{pmatrix}; \quad \Delta\vec{\omega}_0 = \begin{pmatrix} \Delta\omega_x \\ \Delta\omega_y \\ \Delta\omega_z \end{pmatrix}; \\ \vec{\omega}_1 &= \begin{pmatrix} \omega_{1x} \cos[(\omega_0 + \omega_{rf})t] + \omega_{1y} \sin[(\omega_0 + \omega_{rf})t] \\ -\omega_{1x} \sin[(\omega_0 + \omega_{rf})t] + \omega_{1y} \cos[(\omega_0 + \omega_{rf})t] \\ 0 \end{pmatrix} \end{aligned} \quad (4.17)$$

Unter der Annahme, dass die Dauer des HF-Pulses deutlich kürzer ist als die Relaxationszeit der Magnetisierung, kann man das Relaxationsverhalten vernachlässigen und als Bewegungsgleichung für die Magnetisierung die Gleichung 2.8 verwenden. Angesichts der üblicherweise um Größenordnungen höheren Feldstärke von $\vec{\omega}_0$ im Vergleich zu $\Delta\vec{\omega}_0$ und den Eigenschaften vektorieller Addition, können die zur Richtung des magnetischen Hauptfeldes $\vec{\omega}_0$ transversalen Anteile von $\Delta\vec{\omega}_0$ auf Null gesetzt werden. Durch eine anschließende Transformation des Problems in das mit dem Puls mitrotierende Koordinatensystem erhält man ein System aus drei gekoppelten linearen homogenen Differentialgleichungen 1. Ordnung mit nicht konstanten Koeffizienten:

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} \omega_{1x} \\ \omega_{1y} \\ (\Delta\omega_z - \omega_{rf}) \end{pmatrix} \quad (4.18)$$

Eine Darstellung für die in das Laborsystem zurücktransformierte Lösung dieses Problems, die zudem gut die Symmetrie des Bloch-Siegert-Shifts für die Offresonanz des Pulses bezüglich der lokalen Larmorfrequenz aufzeigt, ist unter Verwendung der komplexen Darstellung ($M_T = M_x + iM_y$) für die transversale Magnetisierung und unter Verwendung von $\omega_{rf\Delta} = \omega_{rf} - \Delta\omega_z$ wie folgt gegeben:

$$M_T(t, \omega_1, \varphi_{\omega_1}, \omega_{rf}, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}, \varphi_{M_0}) = Y_0 e^{-it\omega_{rf}} + Y_+ e^{-it(\omega_{rf} - \sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2})} + Y_- e^{-it(\omega_{rf} + \sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2})} \quad (4.19)$$

mit

$$Y_0(\omega_1, \varphi_{\omega_1}, \omega_{rf}, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}, \varphi_{M_0}) = M_0 \frac{\sin(\theta_{M_0})\omega_1^2 \cos(\varphi_{M_0} - \varphi_{\omega_1}) - \cos(\theta_{M_0})\omega_1 \omega_{rf\Delta}}{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2} e^{i\varphi_{\omega_1}}$$

$$Y_+(\omega_1, \varphi_{\omega_1}, \omega_{rf}, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}, \varphi_{M_0}) = \frac{M_0}{2} \sin(\theta_{M_0}) \left\{ \frac{\omega_{rf\Delta} + \sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2}}{\sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2}} e^{i\varphi_{M_0}} - \left(\frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2} \cos(\varphi_{M_0} - \varphi_{\omega_1}) - \frac{\omega_1 (\omega_{rf\Delta} + \sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2})}{(\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2) \tan(\theta_{M_0})} \right) e^{i\varphi_{\omega_1}} \right\}$$

$$Y_-(\omega_1, \varphi_{\omega_1}, \omega_{rf}, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}, \varphi_{M_0}) = \frac{M_0}{2} \sin(\theta_{M_0}) \left\{ \frac{-\omega_{rf\Delta} + \sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2}}{\sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2}} e^{i\varphi_{M_0}} - \left(\frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2} \cos(\varphi_{M_0} - \varphi_{\omega_1}) - \frac{\omega_1 (\omega_{rf\Delta} - \sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2})}{(\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2) \tan(\theta_{M_0})} \right) e^{i\varphi_{\omega_1}} \right\}$$

$$\begin{aligned}
 M_z(t, \omega_1, \varphi_{\omega_1}, \omega_{rf}, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}, \varphi_{M_0}) = & \\
 & M_0 \cos(\theta_{M_0}) \frac{\omega_{rf\Delta}^2 + \omega_1^2 \cos\left(t\sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2}\right)}{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2} \\
 & - M_0 \omega_1 \sin(\theta_{M_0}) \left(\omega_{rf\Delta} \cos(\varphi_{M_0} - \varphi_{\omega_1}) \frac{1 - \cos\left(t\sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2}\right)}{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2} \right. \\
 & \left. + \sin(\varphi_{M_0} - \varphi_{\omega_1}) \frac{\sin\left(t\sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2}\right)}{\sqrt{\omega_1^2 + \omega_{rf\Delta}^2}} \right) \quad (4.20)
 \end{aligned}$$

Ausgehend von einem beliebigen Magnetisierungszustand, definiert durch die Magnitude M_0 , den Azimutwinkel φ_{M_0} und dem Polarwinkel θ_{M_0} , beschreiben diese Gleichungen die Entwicklung der Magnetisierung unter Wirkung eines um ω_{rf} offresonant eingestrahlten BS-Pulses mit der zeitlich konstanten Amplitude $\omega_1 = \gamma B_1$, dessen Azimutwinkel zum Zeitpunkt Null φ_{ω_1} beträgt. Da primär die im Zeitverlauf akkumulierte Phase der Magnetisierung interessant ist, sind zur Eliminierung des durch die Startbedingung gegebenen Phasenoffsets – aufgrund der Ausgangsphase φ_{M_0} der Magnetisierung – in Gleichung 4.19 die Terme Y_0, Y_+, Y_- mit $e^{-i\varphi_{M_0}}$ zu multiplizieren. Da anschließend in diesen Gleichungen φ_{M_0} und φ_{ω_1} nur noch in Form ihrer Differenz auftauchen, ist die BS-Phase offensichtlich nur von der Größe $\varphi_{\Delta} = \varphi_{\omega_1} - \varphi_{M_0}$ abhängig, die im Weiteren entsprechend verwendet werden soll. Betrachtet man die durch die Gleichung 4.19 bestimmte zeitliche Entwicklung der Magnetisierung für verschiedene ω_1 -Amplituden bei $\theta_{M_0} = 90^\circ$, wie sie in Abbildung 4.10 zu finden ist, so fällt auf, dass die gewünschte – als BS-Phase bezeichnete – Phasenakkumulation durch eine Oszillation überlagert ist, deren Amplitude mit wachsendem ω_1 zunimmt. Folglich wird die Entwicklung der Magnetisierung unter einem offresonanten Puls, sobald das sich ergebende effektive Magnetfeld – entgegen der für die Herleitung der BS-Phase im Kapitel 4.2 gemachten Näherung – nicht mehr parallel zur z-Richtung ist, nicht alleine durch den für die Bloch-Siegert-Phase verantwortlichen Term in der Gleichung 4.19 bestimmt. Entsprechend bietet es sich an die Amplitudenverhältnisse für die drei unterschiedlich schnell rotierenden Anteilen von M_T (Y_0, Y_+ und Y_-) für verschiedene Werte von φ_{Δ} und θ_{M_0} zu betrachten. Diese sind relativ zur Amplitude, welche die konventionelle BS-Phase für $\omega_{rf\Delta} > 0$ liefert, in Abbildung 4.11 dargestellt.

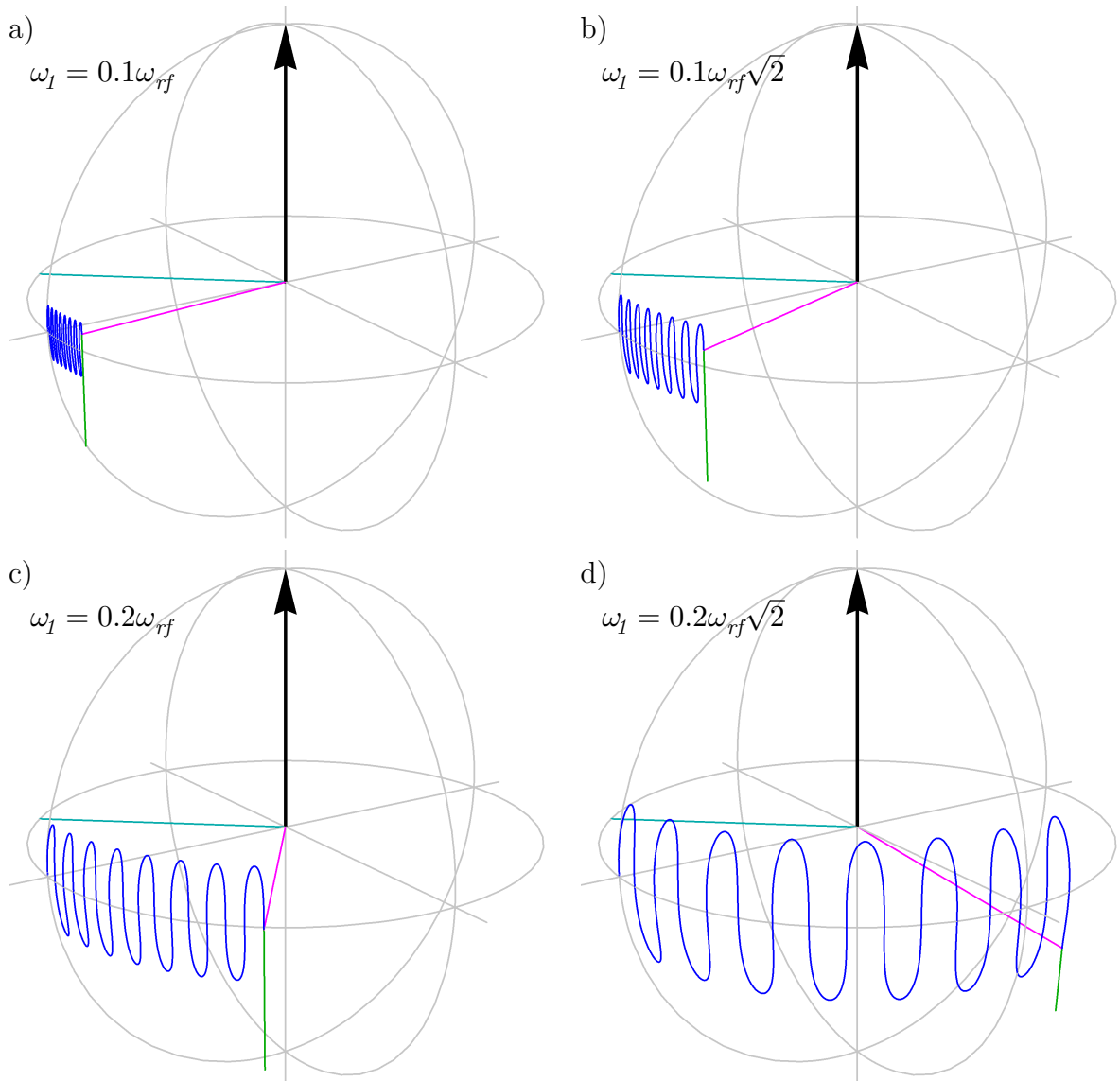


Abbildung 4.10: Resultierende zeitliche Magnetisierungsverläufe für offresonante Pulse mit unterschiedlichen ω_1 -Amplituden (blau). — unveränderte Parameter: $t = 0.00046\text{s}$; $\omega_{rf} = 16000/\text{s}$; $\omega_{rf\Delta} = 0/\text{s}$; $\theta_{M_0} = 90^\circ$; $\varphi_\Delta = 90^\circ$ — In cyan ist jeweils der ω_1 -Vektor, in magenta der Magnetisierungsvektor und in Grün deren Kreuzprodukt zum Zeitpunkt $t = 0.00046\text{s}$ dargestellt. Der Pfeil im dargestellten Koordinatensystem zeigt jeweils in die z -Richtung.

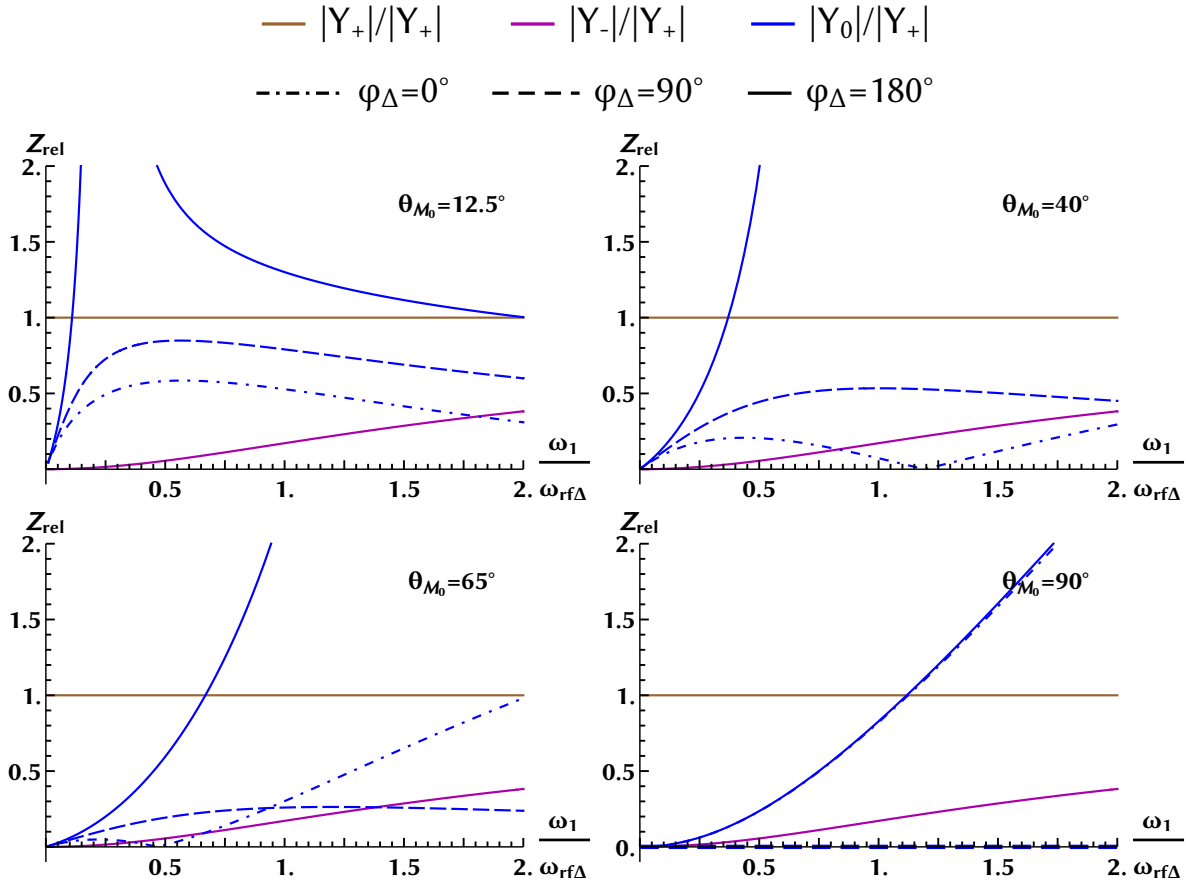


Abbildung 4.11: Darstellung der Amplituden der verschiedenen Anteile von M_T (Gleichung: 4.19) relativ zur Amplitude, welche für die gewünschte BS-Phase verantwortlich ist (für $\omega_{\text{rf}\Delta} > 0$ ist dies Y_+).

Hierbei zeigt – sobald $\omega_{\text{rf}\Delta}$ nicht mehr viel größer als ω_l ist – die relative Amplitude von Y_0/Y_+ in Abhängigkeit der beiden genannten Größen φ_Δ und θ_{M_0} nicht nur ein extrem unterschiedliches Verhalten, sondern erreicht dabei auch sehr schnell ein Amplitudenverhältnis für welches deren Anteile zur Gesamtphase nicht vernachlässigt werden kann. Ein entsprechendes Verhalten der Amplituden wäre bei Auftragung der Amplituden für $\omega_{\text{rf}\Delta} < 0$ (dann relativ zu Y_-) zu beobachten. Da man allerdings in der MRT aufgrund von unvermeidlichen Magnetfeldinhomogenitäten nur bedingte Kontrolle über φ_{M_0} und somit über φ_Δ hat, ist es sinnvoll diese Abhängigkeit aus der Gleichung 4.19 zu eliminieren. Eine dem MR-Experiment zugängliche Variante ist hierbei die Mittelung über φ_{M_0} für eine auf 2π gleichverteilte Startphase der Magnetisierung. Um von diesem gemischten

Magnetisierungszustand ein Signal detektieren zu können, muss im Experiment die durch die Startbedingung eingeführte Dephasierung nach dem BS-Puls wieder aufgehoben werden. Mathematisch betrachtet bedeutet dies für die Magnetisierung ausgehend von der Gleichung 4.19:

$$\vec{M}^{Av}(t, \omega_I, \omega_{rf}, M_0, \omega_{rf\Delta}, \theta_{M_0}) = \int_0^{2\pi} \vec{M}(t, \omega_I, \omega_{rf}, \omega_{rf\Delta}, \theta_{M_0}, \varphi_{M_0}, \varphi_{\omega_I}) e^{-i\varphi_{M_0}} d\varphi_{M_0} \quad (4.21)$$

und liefert als Ergebnis:

$$M_T^{Av}(t, \omega_I, \omega_{rf}, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}) = Y_0^{Av} e^{-it\omega_{rf}} + Y_+^{Av} e^{-it(\omega_{rf} - \sqrt{\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2})} + Y_-^{Av} e^{-it(\omega_{rf} + \sqrt{\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2})} \quad (4.22)$$

mit

$$Y_0^{Av}(\omega_I, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}) = \frac{M_0}{2} \sin(\theta_{M_0}) \frac{\omega_I^2}{\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2}$$

$$Y_+^{Av}(\omega_I, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}) = \frac{M_0}{2} \sin(\theta_{M_0}) \left(\frac{\omega_{rf\Delta} + \sqrt{\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2}}{\sqrt{\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2}} - \frac{\omega_I^2}{2(\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2)} \right)$$

$$Y_-^{Av}(\omega_I, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}) = \frac{M_0}{2} \sin(\theta_{M_0}) \left(\frac{-\omega_{rf\Delta} + \sqrt{\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2}}{\sqrt{\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2}} - \frac{\omega_I^2}{2(\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2)} \right)$$

$$M_z^{Av}(t, \omega_I, \omega_{rf}, \omega_{rf\Delta}, M_0, \theta_{M_0}) = M_0 \cos(\theta_{M_0}) \frac{\omega_{rf\Delta}^2 + \omega_I^2 \cos\left(t\sqrt{\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2}\right)}{\omega_I^2 + \omega_{rf\Delta}^2} \quad (4.23)$$

Trägt man entsprechend die Amplituden (Y_0^{Av} , Y_+^{Av} und Y_-^{Av}) für die drei unterschiedlich schnell rotierenden Anteile von M_T^{Av} für verschiedene Werte von θ_{M_0} relativ zur Amplitude, welche die konventionelle BS-Phase (Y_+^{Av}) liefert, auf (siehe Abbildung 4.12), so erkennt man, dass durch die Mittelung über φ_{M_0} die relativen Amplitudenverhältnisse auch bezüglich θ_{M_0} unabhängig geworden sind. Das entsprechende Verhalten der Amplituden ist auch bei Auftragung der Amplituden für $\omega_{rf\Delta} < 0$ (dann relativ zu Y_-^{Av}) zu

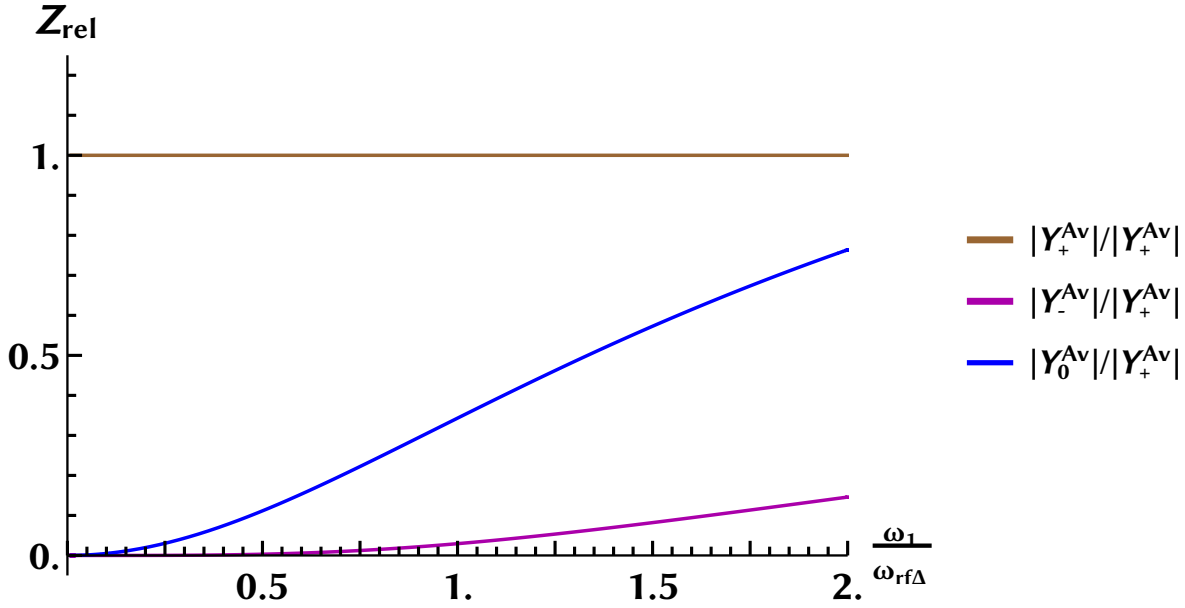


Abbildung 4.12: Darstellung der Amplituden der verschiedenen Anteile von M_T^{Av} (Gleichung: 4.22) relativ zur Amplitude, welche für die gewünschte BS-Phase verantwortlich ist (für $\omega_{rf}\Delta > 0$ ist dies Y_+^{Av}). — Beachte: die relativen gemittelten Amplituden sind unabhängig von θ_{M_0} .

beobachten. Darüber hinaus wurde durch die Mittelung der Bereich maximiert, über den die zur BS-Phase konkurrierenden Anteile aufgrund der Amplitudenverhältnisse ignoriert werden kann. Aufgrund dieses Verhaltens wurden bewusst bei den zuvor vorgestellten BS-Sequenzen die BS-Pulse zwischen die Crushergradienten der Refokussierungspulse eingebettet. Durch diese Mittelung ist es möglich unabhängig vom Anregungswinkel θ_{M_0} auch dann noch belastbare B_1^+ -Werte unter Verwendung der Bloch-Siegert-Gleichungen zu erhalten, wenn die Bedingung $\omega_{rf} \gg \omega_1$ locker gehandhabt wird. Entsprechend wurde die Bedeutung von Crushergradienten um den Refokussierungspuls mittlerweile auch in einigen Arbeiten [77, 78] hervorgehoben.

Um die Phase des Magnetisierungszustandes aus der Gleichung 4.22 zu erhalten, bietet es sich an den Anteil mit der über weite Bereiche dominanten Amplitude auszuklammern:

$$M_T^{eff} = M_0 \sin(\theta_{M_0}) \frac{1 + 2\omega_{eff}^2}{2(1 + \omega_{eff}^2)} e^{-it\omega_1 \left(\frac{\omega_{rf}}{\omega_1} - \text{sgn}(\omega_{rf}) \sqrt{1 + \omega_{eff}^2} \right)} \left\{ \begin{aligned} & 1 + e^{-i \text{sgn}(\omega_{rf}) t \omega_1 \sqrt{1 + \omega_{eff}^2}} \frac{1}{1 + 2\omega_{eff}^2} \\ & - e^{-i \text{sgn}(\omega_{rf}) t \omega_1 \sqrt{1 + \omega_{eff}^2}} \sin\left(t\omega_1 \sqrt{1 + \omega_{eff}^2}\right) \\ & i \text{sgn}(\omega_{rf}) \frac{\left(-\omega_{eff} + \text{sgn}(\omega_{rf}) \sqrt{1 + \omega_{eff}^2}\right)^2}{1 + 2\omega_{eff}^2} \end{aligned} \right\} \quad (4.24)$$

$$M_Z^{eff} = M_0 \cos(\theta_{M_0}) \frac{\omega_{eff}^2 + \cos\left(t\omega_1 \sqrt{1 + \omega_{eff}^2}\right)}{2(1 + \omega_{eff}^2)} \quad (4.25)$$

mit

$$\omega_{eff} = \frac{\omega_{rf}\Delta}{\omega_1} = \frac{\omega_{rf}}{\omega_1} - \frac{\Delta\omega_z}{\omega_1} \quad (4.26)$$

und Verwendung der Signumfunktion $\text{sgn}(\omega_{rf})$, um eine einheitliche vom Vorzeichen von ω_{rf} unabhängige Darstellung zu erhalten.

Unter Verwendung der in der Literatur für den Bloch-Siegert-Shift üblichen Annahme $\omega_1 \ll \omega_{rf}\Delta$ wird in Gleichung 4.24 der Term innerhalb der geschweiften Klammern ≈ 1 , womit als eine gute Näherung für die BS-Phase ϕ_{BS} folgender Zusammenhang angegeben werden kann:

$$\phi_{BS} = -t\omega_1 \left(\frac{\omega_{rf}}{\omega_1} - \text{sgn}(\omega_{rf}) \sqrt{1 + \omega_{eff}^2} \right) \quad (4.27)$$

Diese entspricht somit für den Fall $\Delta\omega_z = 0$ der von Ramsey [69] hergeleiteten Gleichung (siehe auch Kapitel 4.2). Von größerer Bedeutung ist allerdings, dass durch die Gleichung 4.24 sowohl Einblick in das Verhalten der Magnetisierung unter dem Puls als auch die Möglichkeit die Genauigkeit der zur Auswertung der B_1^+ -Werte verwendeten Gleichung 4.6 zu überprüfen gegeben ist.

4.4.2 Mittelung der Bloch-Siegert-Phase über Phasenzyklen

Da zum einen die exakte Rephasierung über Gradientenmomente nicht immer realisierbar ist und zum anderen die durch den Einsatz von Gradienten verursachte Fluss- beziehungsweise Diffusionswichtung nicht immer erwünscht ist, wäre es von Vorteil, wenn die Mittelung über die Anfangsphasen auch über einen Phasenlauf realisierbar wäre. Um noch einmal die Vertauschbarkeit zwischen φ_{M_0} und φ_{ω_1} hervorzuheben, soll hierbei der Phasenlauf über N äquidistant auf 2π verteilte Phasenwerte auf φ_{ω_1} angewendet werden.

Aus einem Vergleich der Amplituden $Y_0/Y_+/Y_-$ mit den entsprechenden Amplituden $Y_0^{Av}/Y_+^{Av}/Y_-^{Av}$ ergibt sich, dass durch einen solchen Phasenlauf folgende Relationen erfüllt werden müssen:

$$e^{i\varphi_{\omega_1}} \rightarrow \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N e^{i\frac{2\pi}{N}n} \stackrel{!}{=} 0 \quad (4.28)$$

und

$$e^{i\varphi_{\omega_1}} \cos(\varphi_{M_0} - \varphi_{\omega_1}) \rightarrow \frac{1}{2N} \sum_{n=1}^N \left(e^{i\varphi_{M_0}} + e^{-i\varphi_{M_0}} e^{2i\frac{2\pi}{N}n} \right) \stackrel{!}{=} \frac{1}{2} e^{i\varphi_{M_0}} \quad (4.29)$$

damit sich aus den beiden Gleichungen 4.19/4.20 die Gleichungen 4.22/4.23 ergeben. Um zu prüfen, ob beziehungsweise unter welchen Bedingungen diese Relationen erfüllt werden, ist es von Vorteil die komplexen Zahlen als Vektoren in der komplexen Zahlenebene zu betrachten. Da bei genauerer Betrachtung der Summenterme auffällt, dass der Phasenzklus in den zu erfüllenden Relationen keinen Einfluss auf die Amplituden hat, ergibt sich somit, dass die Summe dann und nur dann Null ergeben kann, wenn die Vektoren aneinandergereiht und entsprechende sortiert ein gleichseitiges Vieleck mit einheitlicher Umlaufrichtung ergeben. Anders ausgedrückt muß dann die Differenz der komplexen Phase zweier aufeinanderfolgender Vektoren dem Innenwinkel φ_{IN} eines entsprechenden gleichseitigen N -Ecks entsprechen, der wie folgt gegeben ist [79]:

$$\varphi_{IN} = \frac{(N-2)\pi}{N} = \pi - \frac{2\pi}{N} \quad (4.30)$$

Ein Blick auf Abbildung 4.13 zeigt, dass ein gleichseitiges N -Eck mit einheitlicher Umlaufrichtung aus N gleichlangen Vektoren gebildet wird, wenn der jeweils nächste Vektor

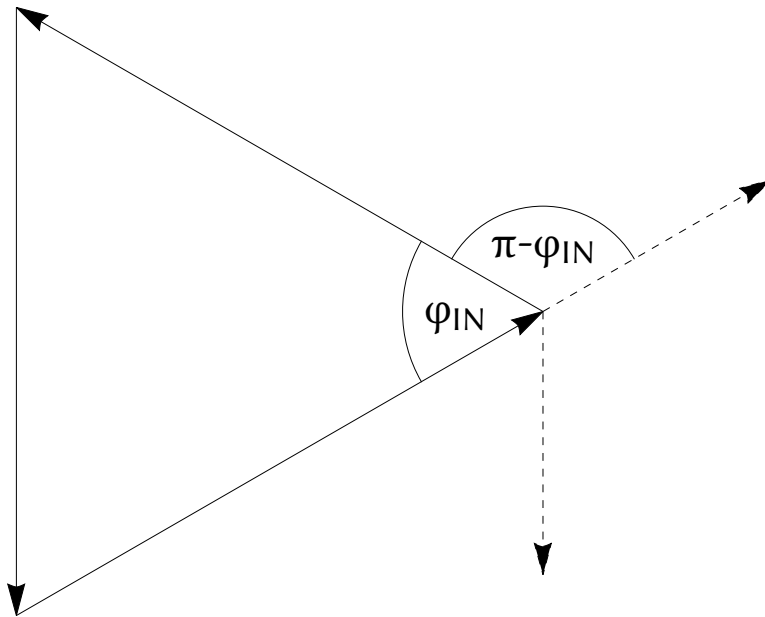


Abbildung 4.13: *Gleichseitiges Dreieck gebildet aus drei gleichlangen und äquidistant auf 2π verteilten Vektoren mit einheitlicher Umlaufrichtung.*

zum vorherigen um den zum Innenwinkel des gleichseitigen N -Ecks gehörenden Ergänzungswinkel ($\varphi_{VN} = \pi - \varphi_{IN} = \frac{2\pi}{N}$) verdreht ist. Da dieser Wert genau dem komplexen Wert der Exponentialfunktion in Relation 4.28 entspricht, erfüllen alle Phasenläufe mit N äquidistanten Werten im Intervall $[0, 2\pi[$ mit $N \geq 2$ die in 4.28 genannte Relation.

Um die Gültigkeit der Relation 4.29 zu zeigen, ist eine Fallunterscheidung zwischen gerad- und ungeradzahligen Phasenläufen – d.h. für $N = 2L$ und $N = 2L + 1$ mit $L \in \mathbb{N}$ – sinnvoll.

Für den Fall $N = 2L$ lässt sich das Argument $\frac{4\pi}{N}n = \frac{4\pi}{2L}n$ in $\frac{2\pi}{L}n$ umformen, womit sich zwei aufeinanderfolgende Vektoren um den Winkel $\frac{2\pi}{L}$ unterscheiden. Da der zugehörige Ergänzungswinkel dem Innenwinkel eines gleichseitigen L -Ecks entspricht, ist für alle entsprechenden Phasenläufe mit $L \geq 2$, bzw. alle geraden $N \geq 4$, die Relation 4.29 erfüllt.

Für den Fall $N = 2L + 1$ ergibt sich das Argument $\frac{4\pi}{N}n$ zu $\frac{4\pi}{2L+1}n$, welches aufgrund der 2π -Periodizität der Phase unter Verwendung der Modulo-Funktion für $n > L$ wie

folgt umgeschrieben werden kann:

$$\begin{aligned} \left[\frac{4\pi}{2L+1}n \right] \bmod 2\pi &= \\ \left[\frac{4\pi}{2\left(L+\frac{1}{2}\right)} \left\{ \left(L+\frac{1}{2}\right) + \frac{1}{2} + (n - (L+1)) \right\} \right] \bmod 2\pi &= \\ \frac{1}{2} \frac{4\pi}{2L+1} + \frac{4\pi}{2L+1}(n - (L+1)) & \quad (4.31) \end{aligned}$$

Somit ist das l -te Argument mit $n > L$ um eine halbe Schrittweite gegenüber dem l -ten Argument mit $n < L$ verschoben. Folglich unterscheidet sich $\left[\frac{4\pi}{2L+1}n \right] \bmod 2\pi$ von $\frac{2\pi}{2L+1}n$ lediglich durch die Sortierung der Elemente, die aufgrund der Kommutativität der Vektoraddition unerheblich ist. Bei der letzteren Sortierung jedoch sind zwei aufeinanderfolgende Vektoren um den Winkel $\frac{2\pi}{2L+1} = \frac{2\pi}{N} = \varphi_{VN}$ zueinander verdreht, womit offensichtlich wird, dass die Relation 4.29 für alle $L \geq 1$ und damit für alle ungeraden $N \geq 3$ erfüllt wird.

Daraus ergibt sich, dass die beiden Relationen 4.28 und 4.29 für alle Phasenläufe über N äquidistante Werte im Intervall $[0, 2\pi[$ mit $N \geq 3$ gleichzeitig erfüllt werden und folglich die Mittelung der Magnetisierung über entsprechende Phasenläufe für φ_{ω_l} gleichwertig zu der zuvor gezeigten Mittelung über die Gradienten ist.

4.4.3 Diskussion Bloch-Siegert-Herleitung

Die gezeigte Herleitung der BS-Phase zeigt, dass es bei blockförmigen BS-Pulsen von Vorteil ist, die Magnetisierung zuvor gleichmäßig zu dephasieren, wenn die Bedingung $\omega_{rf} \gg \omega_l$ nicht streng eingehalten wird. Entsprechend wurden in den gezeigten BS-MSE-/TSE-Sequenzen die verwendeten BS-Pulse zusammen mit dem Refokussierungspulsen zwischen die Crusher platziert. Der rechnerisch gezeigten Alternative, einen entsprechenden Phasenzyklus zu verwenden, wurde hier nicht weiter nachgegangen, da die Crusher, die in den verwendeten Spin-Echo-Bildgebungssequenzen vorhanden sind, direkt hierfür mitgenutzt werden konnten. Die Nutzung der Phasenzyklen dürfte jedoch überall da von Vorteil sein, wo Crusher nicht genutzt werden können/sollen, um zum Beispiel die Echozeit kurz zu halten oder Fluss-/Diffusionsartefakte zu vermeiden.

Auch wenn der hergeleitete gemittelte Magnetisierungszustand (Gleichung 4.24) und damit auch die daraus abgeleitete BS-Phase für die Blockpulse nicht 1:1 auf beliebige Pulsformen übertragen werden kann, so kann die Gleichung doch auch hier hilfreich sein, um die Gültigkeit der Gleichung 4.6 abzuschätzen.

In Ermangelung einer analytischen Lösung für das Verhalten der Magnetisierung unter Einwirken eines beliebig geformten Pulses mit zeitlich variabler Offresonanz, kann ein solcher durch Zerlegung in Teilpulse mit abschnittsweise konstanter Offresonanz und Amplitude unter Verwendung von z.B. Gleichung 4.19 numerisch simuliert werden. Unabhängig von der vorgehensweise zur Simulation des BS-Pulses ist in diesem Kontext das Ergebnis aus Kapitel 4.4.2 von besonderem Interesse, da dort gezeigt werden konnte, dass bereits ein Phasenzyklus über φ_{ω_1} mit 3 äquidistant auf dem Intervall $[0, 2\pi[$ verteilten Werten ausreicht, um die Mittelung über die Anfangsbedingungen durchzuführen. Entsprechend kann hierdurch die, für eine solche Simulation, benötigte Rechenzeit minimiert werden.

4.5 Zusammenfassung – Bloch-Siegert

Es konnten einige Vorteile der vorgeschlagenen Modifikation bezüglich offresonanter BS-Pulse für einen CPMG-basierten Echozug (MSE-/TSE-Sequenzen) gezeigt werden. So ermöglichen diese simultanes B_1^+ , M_0 - und T_2 -Mapping in einem einzigen Experiment. Andererseits werden nicht nur TSE-Bildartefakte aufgrund von BS-Phasenfehlern intrinsisch vermieden/reduziert, sondern erlauben auch TSE basiertes *single shot* B_1^+ -Mapping. Somit dürfte die vorgeschlagene BS-Integration in weiten Bereichen, in denen B_1^+ -Karten benötigt werden, von nennenswertem Interesse sein. Die Verwendbarkeit derselben dürfte zudem angesichts einiger Arbeiten, die gezeigt haben, dass durch eine Optimierung der BS-Pulsform die BS-Kodierung bezüglich der benötigten Pulsleistung deutlich verbessert werden kann, weiter steigen [77, 78].

Die im zweiten Teil hergeleiteten Gleichungen, für das Verhalten der Magnetisierung unter einem beliebig offresonanten Blockpuls, erlauben ein besseres Verständnis der Auswirkung der einzelnen Parameter auf den resultierenden Magnetisierungszustand und zeigen, dass durch eine entsprechende Präparation die Robustheit der BS- B_1^+ -Mapping

Methode verbessert werden kann. Zudem gestatten die Gleichungen für beliebige Parameter die Gültigkeit der durch Sacolick beschriebenen Bloch-Siegert-Näherung (Gleichung 4.6) abzuschätzen.

Im Hinblick auf die Verwendung/ den Einfluss von nicht blockförmigen Pulsen mit konstanter Offresonanz ist die Arbeit von Turk et al [80] erwähnenswert, in der basierend auf der Annahme, dass die durch den Puls erzeugte Phase nur um einen kleinen Wert bezüglich der Bloch-Siegert Näherung (Gleichung 4.5) variiert, eine Verknüpfung zwischen der Fouriertransformierten des BS-Pulses und der erzeugten Phase hergeleitet wird.

Eine interessante Variation im Kontext des B_1^+ -Mappings durch Ausnutzung der Effekte offresonanter HF-Strahlung wird zudem durch die Verwendung von adiabatischen Pulsen zur Refokussierung in der Arbeit von Jordanova [81] gezeigt. Da ein adiabatischer Puls im Zeitverlauf einen Frequenzsweep von $+\omega_{rf}$ durch die Null nach $-\omega_{rf}$ realisiert, kann dieser somit als zwei BS-Pulse mit entgegengesetzter Offresonanz um einen zentralen Refokussierungspuls betrachtet werden. Der Vorteil in der Verwendung eines adiabatischen Pulses liegt in dessen Eigenschaft, dass sobald eine minimale Pulsleistung überschritten wird diese unabhängig von der exakten Pulsleistung immer eine nahezu perfekte Refokussierung erlaubt. Allerdings benötigen diese Pulse in der Regel sehr hohe Pulsleistungen, so dass oftmals die in den BS- B_1^+ -Mapping Methoden gezeigte Pulskombination weniger Energie benötigt. Darüberhinaus ist es für die Verwendung der adiabatischen Pulse zum BS- B_1^+ -Mapping notwendig an die Pulsleistungen angepasste Lookup-Tabellen zu erstellen.

4.6 Bloch-Siegert- B_1^+ -Mapping und ^{19}F -MR

Für eine vollständig quantitative Auswertung von MR-Daten sind neben den B_1^+ -Werten, welche die relevanten Informationen für den Sendefall beinhalten, auch die korrespondierenden Information für den Empfangsfall – die sogenannten B_1^- -Werte – nötig. Wird, wie im Rahmen dieser Arbeit, ein und die selbe Spule für den Sende- und Empfangsfall verwendet, so sind diese beiden Werte aufgrund des Reziprozitätstheorems [82] zueinander proportional, so dass die relative Empfangscharakteristik auch durch die Verwendung der B_1^+ -Karte korrigiert werden kann. In der Anwendung dürfte somit das größere Problem sein, dass trotz des relativ hohen gyromagnetischen Verhältnisses von Fluor meist relativ lange Messzeiten nötig sind, um ausreichend SNR in den Datensätzen zu erreichen, da

die zu messenden Fluorkonzentrationen meist relativ klein sind. Umso wertvoller ist in diesem Zusammenhang die Fähigkeit der Bloch-Siegert-Methode trotz der im Datensatz enthaltenen B_1^+ -Kodierung weiterhin ein unverfälschtes Magnitudenbild liefern zu können.

Wird jedoch die B_1^+ -Karte in der selbigen Auflösung benötigt, so muss dennoch entweder die doppelte Messzeit investiert, oder ein reduziertes Signal-Rausch-Verhältnis bei der Berechnung der B_1^+ -Karten in Kauf genommen werden, da hierzu aus dem Datensatz zwei unterschiedlich BS-kodierte Phasenbilder erzeugt werden müssen. Die Anforderungen der MR an eine MR-Spule bedingen jedoch, dass das B_1^+ -Feld einer MR-Spule durch eine im Verhältnis zur Spulendimension langsam variable Funktion beschrieben werden kann. Entsprechend sollte es in der Regel möglich sein die B_1^+ -Bestimmung mit reduzierter Ortsauflösung durchzuführen und somit vom hierdurch erzielbaren SNR-Gewinn zu profitieren. Zur Erzeugung der Fluormagnitudenbilder lassen sich zwar die unterschiedlich BS-kodierten Teildatensätze nicht unmittelbar komplex addieren, da jedoch das B_1^+ -Feld der Spule Ursache für den Phasenunterschied zwischen den beiden Teildatensätzen ist, kann die erstellte B_1^+ -Karte genutzt werden, um die Phasen der beiden Datensätze zueinander zu korrigieren und daraus, durch komplexe Addition, ein Magnitudenbild mit entsprechend verbessertem SNR zu generieren. Ist dieses Vorgehen beziehungsweise eine entsprechende Verlängerung der Messzeit nicht vertretbar, so kann das B_1^+ -Feld auch mit der Bloch Siegert Methode nicht mehr direkt detektiert werden. Ein möglicher Ausweg aus diesem Problem ist die Verwendung von Spulen, welche ein und denselben physikalischen Kanal sowohl für ^1H als auch für ^{19}F verwenden, denn das B_1^+ -Feld einer solchen Spule ist, wie bereits gezeigt werden konnte, bis auf einen zu bestimmenden Skalierungsfaktor für beide Frequenzen identisch. Folglich kann bei einer solchen Spule eine B_1^+ -Karte, die unter Ausnutzung des häufig deutlich höheren Signalpegels im Protonenkanal akquiriert wurde, zur Korrektur der Fluordaten genutzt/reskaliert werden [E5, 83, 84].

5 Diskussion & Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit sollten die Möglichkeiten der MR Tomographie erkundet werden bakterielle Infektionen im Zeitverlauf darzustellen. Genauer gesagt sollte das Potential der MR Tomographie anhand eines durch eine Infektion induzierten lokalisierten Abszesses unter Verwendung dreier unterschiedlicher MRT Methoden untersucht werden: Mittels nativem T_2 Kontrast; der Verwendung von superparamagnetischen Eisenoxid Partieln (USPIO) als T_2^* Kontrastmittel; und dem Einsatz von Perfluorkarbonen (PFC) als ^{19}F MRT Marker (siehe Kapitel 3).

Wie erwartet führte die durch die Infektion hervorgerufene Entzündung zu veränderten T_2 -Zeiten, welche auf T_2 -gewichteten MR Bildern eine Lokalisierung des Abszessbereiches erlauben. Jedoch eigneten sich diese Daten aufgrund der graduellen Änderung der T_2 -Zeiten nicht, um eine klare Grenze zwischen Abszess und umliegendem Gewebe zu ziehen.

Superparamagnetische Eisenoxidpartikel andererseits haben als MRT Kontrastmittel bereits in den letzten Jahren ihre Fähigkeit unter Beweis gestellt Entzündungen [53, 58, 64] darzustellen. Die Anreicherung dieser Partikel am Rande des Abszesses [53], wie sie auch in unseren MR Daten zu beobachten war, erlaubte eine relativ scharfe Abgrenzung gegenüber dem umgebenden Gewebe in der chronischen Phase der Infektion (Tag 9 p.i.). Hingegen genügte die nur sehr spärlichen Anreicherung von USPIO Partikeln in der akuten Phase der Infektion (Tag 3 p.i.) nicht für eine entsprechende Abgrenzung [58].

Aufgrund der sehr geringen biologischen Häufigkeit und den sehr kurzen Relaxationszeiten von endogenem Fluor eignen sich Perfluorkarbone als Markersubstanz in der MR Tomographie von biologischen Systemen. Insbesondere da PFC Emulsionen durch phagozytierende Zellen aufgenommen werden und im Bereich von Entzündungen akkumulieren [30, 59]. In dieser Arbeit konnte anhand der erhaltenen MRT Daten eine Akkumulation von Perfluorkarbonen nicht nur in der chronischen Phase, sondern auch in der akuten Phase nachgewiesen werden. Diese Daten erlauben somit zu allen untersuchten Zeitpunkten eine Abgrenzung zwischen Infektion und umliegenden Gewebe.

Aufgrund der besagten Vorteile wurden die Perfluorkarbone gewählt, um die Möglichkeiten der MR Tomographie zu testen, quantitative Informationen über die schwere der Infektion zu liefern. Als Referenz für die Bakterienbelastung wurden die Biolumineszenzbildgebung (BLI) [49, 50] und die Standardmethode zur Bestimmung der Bakterienbelastung cfu (*koloniebildenden Einheiten*) herangezogen. Eine Gegenüberstellung der zeitlichen Verläufe der durch die Biolumineszenzbildgebung und durch die cfu erhaltenen Daten liefert eine qualitative Übereinstimmung mit den durch die ^{19}F MR Tomographie erhaltenen Daten. Dies trifft hierbei sowohl auf die über den gesamten Infektionsbereich hinweg summierten Signalamplituden, als auch auf das Volumen zu, in dem Fluor am Ort der Infektion akkumuliert wurde. Im Gegensatz zur Methode der cfu Bestimmung sind die MR Tomographie und die Biolumineszenzbildgebung nicht invasiv und erlauben die Verfolgung des Infektionsverlaufes an einem einzelnen Individuum. Hierzu benötigt, im Gegensatz zur MR Tomographie, die Methode der Biolumineszenzbildgebung jedoch einen speziellen Pathogenstamm. Darüber hinaus ist hervorzuheben, dass die MR Tomographie zudem die Möglichkeit bietet auch morphologische Informationen über den Infektionsbereich und seine Umgebung zu akquirieren.

Gerade weil jede dieser Methoden die mit der Infektion einhergehenden Prozesse aus einer leicht anderen Blickrichtung betrachtet, erscheint es sinnvoll diese etablierte Untersuchungsplattform bestehend aus MRT, BLI und cfu über die in dieser Arbeit bearbeitete Fragestellung hinaus näher zu untersuchen. Insbesondere der Aspekt inwieweit die drei Methoden sich gegenseitig ergänzen, könnte einen tieferen Einblick in die Wechselwirkung zwischen Pathogen und Wirt erlauben.

Auch wenn für die betrachtete Fragestellung bereits der hierdurchgeführte semiquantitative Ansatz zur Bestimmung der relativen Fluormengen am Ort der Infektion ausreichte, so ist doch im Allgemeinen wünschenswert probenbezogen die Sensitivität der Spule und damit die Güte der Spulenabstimmung zu bestimmen. Hierzu ist jedoch die Aufnahme von B_1 -Karten unabdingbar und wird entsprechend im Kapitel 4 *Bloch-Siebert B_1^+ -Mapping* näher adressiert. Der Schwerpunkt liegt hierbei, wie der Kapitelname bereits andeutet, auf der Bloch-Siebert Methode, die insbesondere in der präsentierten Implementierung in einer Turbo/ Multi Spin Echo Sequenz eine effiziente Nutzung der relativ langen T_2 -Zeiten der Perfluorkarbone erlaubt. Da zudem die Bloch-Siebert-Methode eine rein phasenbasierte Methode ist, kann neben der aus den Daten erzeugten B_1 -Karte zugleich ein unverfälschtes Magnitudenbild generiert werden, wodurch eine sehr effiziente Nutzung

der vorhandenen Messzeit ermöglicht wird. Diese Eigenschaft ist insbesondere für ^{19}F Bildgebung von besonderem Interesse, da hier für jede Messung, aufgrund der üblicherweise relativ geringen Konzentration an Fluoratomen, lange Messzeiten benötigt werden.

Zusammenfassend konnte anhand des untersuchten Tiermodells sowohl die Fähigkeit der MR Tomographie nachgewiesen werden Infektionen im Zeitverlauf darzustellen, als auch die Fähigkeit der MR Tomographie quantitative Informationen über den Verlauf der Infektion zu liefern. Desweiteren konnte eine Möglichkeit aufgezeigt werden, welche das Potential hat in vertretbarem Zeitrahmen auch *in vivo* B_1^+ -Karten auf dem Fluorkanal zu erstellen und so einen zentralen Unsicherheitsfaktor, für Relaxometry und absolute Quantifizierung von ^{19}F Daten *in vivo*, zu beseitigen.

6 Discussion & Conclusion

The main focus of this work is to investigate the potential of magnetic resonance imaging (MRI) to monitor the timecourse of bacterial infections *in vivo*. More specifically, it focuses on the ability to localize and assess an infection-induced localized bulky abscess using three different MRI methods: the utilization of native T_2 contrast; the usage of super paramagnetic iron oxide nanoparticles (USPIO) as MRI T_2^* contrast agents; and the application of perfluorocarbons (PFC) as ^{19}F MRI marker (see chapter 3).

Study results demonstrated that, as expected the altered T_2 values present in the abscess area permit localization of the infection when using T_2 weighted data. The precise boundary of the abscess, however, could not be determined due to the gradual change of the T_2 values in the area of the infection.

Conforming to other studies [53, 58], the MR-detected accumulation of USPIO particles along the abscess rim allowed definition of a fairly exact demarcation line between the abscess and surrounding tissue during the chronic phase of the infection (day 9 p.i.). During the acute phase of the infection (day 3 p.i.), however, the particle accumulation at the abscess rim was too sparse for precise boundary definition [58].

Because of their extremely low biological abundance and the very short relaxation times of endogenous fluorine, PFCs can be imaged background-free in a biological system. Moreover, as emulsified PFCs were taken up by phagocytosing cells and accumulated at the site of inflammation [30, 59], the acquired MRI data showed PFC accumulation during both the chronic and acute phases of infection. It was thus possible to differentiate between the abscess and surrounding tissue at each examined time point.

Due to the described advantages, PFCs were chosen to evaluate with MRI the infection severity. As a bacterial burden reference, colony forming units (cfu) and bioluminescence imaging (BLI) [49, 50] were selected. Observation of BLI, cfu and ^{19}F MRI data showed qualitative correlation during the investigated time course. This was true for the accumulated ^{19}F MR signal in the area of infection and for the ^{19}F MR signal volume. Additionally, unlike the cfu method MRI and BLI are *non-invasive* and thus data can

be gathered at multiple time points. However, contrary to BLI, MRI does not require a special pathogen strain. Moreover, it can provide morphological data from an abscess and the surrounding tissue.

Because the data delivered by each of these three methods (MRI, BLI and cfu), are based on alternative approaches, additional examinations of the established platform are suggested. For example, the extent to which the methods supplement each other may provide deeper insight into the interaction between pathogen and host.

Even though the chosen semi quantitative approach was sufficient in the context of the evaluated issues to estimate the relative fluorine amount at the site of infection, it is in general desirable for each quantification to determine the sensitivity of the coil per sample. To address this issue the Bloch Siegert (BS) based B_1 mapping method implemented in a turbo/ multi spin echo (TSE/MSE) sequence is presented in Chapter 4 *Bloch-Siegert B_1^+ -Mapping*. Such a sequence allows effective use of the relatively long PFC T_2 times and encodes BS information solely into the phase data. Thus, a B_1 map can be created in addition to the unaltered TSE/MSE magnitude image. In the context of ^{19}F imaging, this is of special interest due to the usually low amounts of fluorine resulting in long measurement times.

In conclusion, it was shown that MRI not only enables visualization of the temporal behavior of infections on the investigated animal model, but it can also provide quantitative information about the progress of the infection. Additionally, a method potentially allowing *in vivo* B_1^+ mapping was introduced. This is an important step to improve the reliability of relaxometry and absolute quantification of *in vivo* ^{19}F MRI.

7 Appendix

7.1 Herstellung von PFC Emulsionen

Wurden Partikel selbst hergestellt, wurde die in Tabelle 7.1 genannte Zusammensetzung verwendet. Die, bis auf das Perfluorcarbon, vollständige Mischung wird in einem 5ml Greiner Röhrchen im Eisbad gekühlt für etwa 5min mit Hilfe der Mikrospritze (tapered Microtip 3mm – für Probenvolumen von 1–10ml bzw. 0.5–5ml) des Sonifiers 250 (Branson) - (Output Control: 7; Duty Cycle ~ 22) voremulgiert. Nach Hinzugabe des Perfluorcarbons wird das Ganze noch einmal für 20 min mit denselben Einstellungen weiter emulgiert. Das Emulgat wird anschließend unter Verwendung von 10 ml Spritzen mit LuerLock Schraubanschluß durch Spritzenvorsatzfilter des Herstellers Sun-SRI in drei Schritten (Titan2 30mm 1.2 μ m GMF/ 0.7 μ m GMF/ 0.45 μ m Nylon) gefiltert.

Anteil	Substanz	Anteil [% mol]	g/mol	mg/2ml
20% v/v	Perfluorcarbon			
4% w/v	Surfactant Comixture (SC)			
Rest	0.9% NaCl Lösung			
SC:	Lecithin	70	779.76	65.5
	Cholesterol	29	386.65	13.5
	Fluorescent Lipid (FL)	0.1-1		
FL 1	• Atto647N-DOPE		1485	1
FL 2	• Bodipy		881	0.105-1.05
FL 3	• Oregon		1086	0.1-1

Tabelle 7.1: *Zusammensetzung der selbst hergestellten Partikel. Als fluoreszierendes Lipid wurde gewöhnlich Atto647N-DOPE verwendet*

Bezugsquellen:

Spritzenvorsatzfilter:

msscscientific

Chromatographie-Handel GmbH

Gneisenausstrasse 66/67

10961 Berlin

www.msscscientific.de

Atto647N-DOPE:

ATTO-TEC GmbH

Am Eichenhang 50

57076 Siegen

www.atto-tec.com

Mikrospritze:

G.Heinemann

Ultraschall- und Labortechnik

Erwin-Rommel-Straße 42

73525 Schwäbisch Gmünd

www.gheinemann.de

Perfluoro15Crown5ether:

ChemPur

Feinchemikalien und Forschungsbedarf

Rüppurrer Straße 92

76137 Karlsruhe

www.chempur.de

Literatur

Zitierte eigene Literatur (Prefix E) ist in einem getrennten Abschnitt zu finden.

- [1] A. J. Alanis, *Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era?*, Archives of Medical Research 36(6): Infectious Diseases: Revisiting Past Problems and Addressing Future Challenges, 697–705, 2005 (siehe S. 9).
- [2] P. M. Hawkey und A. M. Jones, *The changing epidemiology of resistance*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy 64(suppl 1): i3–i10, 2009 (siehe S. 9).
- [3] B. Spellberg, J. H. Powers, E. P. Brass, L. G. Miller und J. E. Edwards, *Trends in Antimicrobial Drug Development: Implications for the Future*, Clinical Infectious Diseases 38(9): 1279–1286, 2004 (siehe S. 9).
- [4] P. M. Hawkey, *The growing burden of antimicrobial resistance*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy 62(suppl 1): i1–i9, 2008 (siehe S. 9).
- [5] U. Theuretzbacher, *Accelerating resistance, inadequate antibacterial drug pipelines and international responses*, International Journal of Antimicrobial Agents 39(4): 295–299, 2012 (siehe S. 9).
- [6] F. D. Lowy, *Staphylococcus aureus Infections*, New England Journal of Medicine 339(8): PMID: 9709046, 520–532, 1998 (siehe S. 9).
- [7] H. W. Boucher, G. H. Talbot, J. S. Bradley, J. E. Edwards, D. Gilbert, L. B. Rice, M. Scheld, B. Spellberg und J. Bartlett, *Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America*, Clinical Infectious Diseases 48(1): 1–12, 2009 (siehe S. 9).
- [8] U. Theuretzbacher, *Resistance drives antibacterial drug development*, Current Opinion in Pharmacology 11(5): Anti-infectives/ New technologies, 433–438, 2011 (siehe S. 9).

-
- [9] K. Ohlsen, G. Dandekar, R. Schwarz und T. Dandekar, *New trends in pharmacogenomic strategies against resistance development in microbial infections*, *Pharmacogenomics* 9(11): 1711–1723, 2008 (siehe S. 9).
- [10] F. Bloch und A. Siegert, *Magnetic resonance for nonrotating fields*, *Physical Review* 57(6): 522, 1940 (siehe S. 10, 60, 62).
- [11] L. I. Sacolick, F. Wiesinger, I. Hancu und M. W. Vogel, *B1 mapping by Bloch-Siegert shift*, *Magnetic Resonance in Medicine* 63(5): 1315–1322, 2010 (siehe S. 10, 60, 62–64, 72).
- [12] M. H. Levitt, *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance, 2nd Edition*, John Wiley & Sons, Ltd., March 2008 (siehe S. 11, 14, 19).
- [13] J. A. d. B. Marinus T. Vlaardingerbroek, *Magnetic Resonance Imaging*, Springer-Verlag, 1999 (siehe S. 11).
- [14] E. Haacke, R. Brown, M. Thomson und R. Venkatesan, *Magnetic Resonance Imaging*, John Wiley & Sons, Ltd., 1999 (siehe S. 11, 13, 19, 22, 24, 32).
- [15] *Bruker Almanac 2012*, (2012) <http://nmrblogs.bruker.com.my/bruker-almanac-2012/> (siehe S. 14).
- [16] M. T. Vlaardingerbroek und J. A. Boer, *Magnetic Resonance Imaging*, Bd. second Edition, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1999 (siehe S. 14).
- [17] *Prinzipien der MR-Tomographie*. Philips Medical Systems (siehe S. 14).
- [18] N. E. Jacobsen, *NMR Spectroscopy Explained: Simplified Theory, Applications and Examples for Organic Chemistry and Structural Biology*, Wiley-Interscience, 2007 (siehe S. 16).
- [19] E. D. Becker, *High Resolution NMR, Third Edition: Theory and Chemical Applications*, Academic Press, 1999 (siehe S. 16).
- [20] M. Paxian, *Künstliche Sauerstoffträger als Alternative zur Fremdbluttransfusion*, German, *Der Anaesthesist* 50(1): S43–S49, 2001 (siehe S. 16).
- [21] J. M. Janjic und E. T. Ahrens, *Fluorine-containing nanoemulsions for MRI cell tracking*, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* 1(5): 492–501, 2009 (siehe S. 16, 17, 34, 54).

- [22] M. P. Krafft, *Fluorocarbons and fluorinated amphiphiles in drug delivery and biomedical research*, *Advanced drug delivery reviews* 47(2-3): Lipid Assemblies for Drug Delivery, 209–228, 2001 (siehe S. 16, 34).
- [23] A. Rebel, T. Frietsch, M. Quintel, C. Lenz und K. Waschke, *Zerebrale Effekte von Perfluorcarbonen*, *German, Der Nervenarzt* 70(8): 679–687, 1999 (siehe S. 16).
- [24] G. P. Biro, P. Blais und A. L. Rosen, *Perfluorocarbon blood substitutes*, *Critical reviews in oncology/hematology* 6(4): 311–374, 1987 (siehe S. 16).
- [25] P. C. Lauterbur u. a., *Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance*, *Nature* 242(5394): 190–191, 1973 (siehe S. 16).
- [26] G. Holland, P. Bottomley und W. Hinshaw, *^{19}F magnetic resonance imaging*, *Journal of magnetic resonance* 28(1): 133–136, 1977 (siehe S. 16).
- [27] J. Lutz und P. Metzner, *Effects of potential blood substitutes (perfluorochemicals) on rat liver and spleen*, *Pflügers Archiv* 387(2): 175–181, 1980 (siehe S. 16).
- [28] J. Lutz und M. Stark, *Half life and changes in the composition of a perfluorochemical emulsion within the vascular system of rats*, *Pflügers Archiv* 410(1-2): 181–184, 1987 (siehe S. 16).
- [29] U. Nöth, S. Morrissey, R. Deichmann, S. Jung, H. Adolf, A. Haase und J. Lutz, *Perfluoro-15-crown-5-ether labelled macrophages in adoptive transfer experimental allergic encephalomyelitis*, *Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology* 25(3): 243–254, 1997 (siehe S. 16).
- [30] U. Flögel, Z. Ding, H. Hardung, S. Jander, G. Reichmann, C. Jacoby, R. Schubert und J. Schrader, *In vivo monitoring of inflammation after cardiac and cerebral ischemia by fluorine magnetic resonance imaging*, *Circulation* 118(2): 140–148, 2008 (siehe S. 16, 34, 52, 54, 56, 97, 100).
- [31] S. Temme, F. Bönner, J. Schrader und U. Flögel, *^{19}F magnetic resonance imaging of endogenous macrophages in inflammation*, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* 4(3): 329–343, 2012 (siehe S. 16).
- [32] E. T. Ahrens, R. Flores, H. Xu und P. A. Morel, *In vivo imaging platform for tracking immunotherapeutic cells*, *Nature biotechnology* 23(8): 983–987, 2005 (siehe S. 16, 34, 57).

-
- [33] P. Parhami und B. Fung, *Fluorine-19 relaxation study of perfluoro chemicals as oxygen carriers*, The Journal of Physical Chemistry 87(11): 1928–1931, 1983 (siehe S. 16).
- [34] B. J. Dardzinski und C. H. Sotak, *Rapid tissue oxygen tension mapping using 19F inversion-recovery echo-planar imaging of P erfluoro-15-crown-5-ether*, Magnetic resonance in medicine 32(1): 88–97, 1994 (siehe S. 16).
- [35] J. Ruiz-Cabello, B. P. Barnett, P. A. Bottomley und J. W. Bulte, *Fluorine (19F) MRS and MRI in biomedicine*, NMR in Biomedicine 24(2): 114–129, 2011 (siehe S. 16).
- [36] M. Srinivas, P. A. Morel, L. A. Ernst, D. H. Laidlaw und E. T. Ahrens, *Fluorine-19 MRI for visualization and quantification of cell migration in a diabetes model*, Magnetic Resonance in Medicine 58(4): 725–734, 2007 (siehe S. 16, 34).
- [37] I. I. Rabi, N. F. Ramsey und J. Schwinger, *Use of Rotating Coordinates in Magnetic Resonance Problems*, Rev. Mod. Phys. 26: 167–171, 1954 (siehe S. 20).
- [38] M. A. Bernstein, K. F. King und X. J. Zhou, *Handbook of MRI Pulse Sequences*, Academic Press, 2004 (siehe S. 20, 24, 26, 27).
- [39] A. Haase, J. Frahm, D. Matthaei, W. Hanicke und K.-D. Merboldt, *FLASH imaging. Rapid NMR imaging using low flip-angle pulses*, Journal of Magnetic Resonance 67(2): 258–266, 1986 (siehe S. 24).
- [40] A. Haase, *FL MR imaging: A success story since 25 years*, Journal of Magnetic Resonance 213: 542–543, 2011 (siehe S. 24).
- [41] A. Oppelt, R. Graumann, H. Barfuss, H. Fischer, W. Hartl und W. Schajor, *Fast imaging with steady state precession*, Electromedica 54: 15–18, 1986 (siehe S. 25).
- [42] P. Schmitt, M. A. Griswold, V. Gulani, A. Haase, M. Flentje und P. M. Jakob, *A simple geometrical description of the TrueFISP ideal transient and steady-state signal*, Magnetic Resonance in Medicine 55(1): 177–186, 2006 (siehe S. 25).
- [43] E. L. Hahn, *Spin Echoes*, Phys. Rev. 80: 580–594, 1950 (siehe S. 26).
- [44] H. Y. Carr und E. M. Purcell, *Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments*, Physical Review 94(3): 630, 1954 (siehe S. 26, 27).
- [45] J. Hennig, A. Nauerth und H. Friedburg, *RARE imaging: a fast imaging method for clinical MR*, Magnetic Resonance in Medicine 3(6): 823–833, 1986 (siehe S. 27).

- [46] S. Meiboom und D. Gill, *Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times*, Review of scientific instruments 29(8): 688–691, 1958 (siehe S. 27, 82).
- [47] R. Pohmann und M. von Kienlin, *Accurate phosphorus metabolite images of the human heart by 3D acquisition-weighted CSI*, Magnetic resonance in medicine 45(5): 817–826, 2001 (siehe S. 29).
- [48] T. Hertlein, „Visualization of Staphylococcus aureus infections and antibiotic therapy by bioluminescence and ^{19}F magnetic resonance imaging with perfluorocarbon emulsions“, Dissertation (Universität Würzburg, 2014) (siehe S. 33).
- [49] N. A. Kuklin, G. D. Pancari, T. W. Tobery, L. Cope, J. Jackson, C. Gill, K. Overbye, K. P. Francis, J. Yu, D. Montgomery u. a., *Real-time monitoring of bacterial infection in vivo: development of bioluminescent staphylococcal foreign-body and deep-thigh-wound mouse infection models*, Antimicrobial agents and chemotherapy 47(9): 2740–2748, 2003 (siehe S. 33, 98, 100).
- [50] A. F. Engelsman, H. C. van der Mei, K. P. Francis, H. J. Busscher, R. J. Ploeg und G. M. van Dam, *Real time noninvasive monitoring of contaminating bacteria in a soft tissue implant infection model*, Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials 88(1): 123–129, 2009 (siehe S. 33, 98, 100).
- [51] C. P. Bleeker-Rovers, F. J. Vos, G. J. Wanten, J. W. van der Meer, F. H. Corstens, B.-J. Kullberg und W. J. Oyen, *^{18}F -FDG PET in detecting metastatic infectious disease*, Journal of Nuclear Medicine 46(12): 2014–2019, 2005 (siehe S. 33).
- [52] C. Bettgowda, C. A. Foss, I. Cheong, Y. Wang, L. Diaz, N. Agrawal, J. Fox, J. Dick, L. H. Dang, S. Zhou u. a., *Imaging bacterial infections with radiolabeled 1-(2-deoxy-2-fluoro- β -D-arabinofuranosyl)-5-iodouracil*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102(4): 1145–1150, 2005 (siehe S. 33).
- [53] A. H. Kaim, T. Wischer, T. O’Reilly, G. Jundt, J. Fröhlich, G. K. von Schulthess und P. R. Allegrini, *MR Imaging with Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Particles in Experimental Soft-Tissue Infections in Rats*, Radiology 225(3): 808–814, 2002 (siehe S. 33, 34, 42, 53, 56, 97, 100).

-
- [54] J. Ruiz–Cabello, B. Carrero–González, P. Avilés, C. Santisteban, R. Méndez, J. Ferreirós, N. Malpica, A. Santos, D. Gargallo–Viola und J. Regadera, *Magnetic resonance imaging in the evaluation of inflammatory lesions in muscular and soft tissues: an experimental infection model induced by Candida albicans*, *Magnetic resonance imaging* 17(9): 1327–1334, 1999 (siehe S. 33, 42).
- [55] S. L. Kraft, D. Dailey, M. Kovach, K. L. Stasiak, J. Bennett, C. T. McFarland, D. N. McMurray, A. A. Izzo, I. M. Orme und R. J. Basaraba, *Magnetic resonance imaging of pulmonary lesions in guinea pigs infected with Mycobacterium tuberculosis*, *Infection and immunity* 72(10): 5963–5971, 2004 (siehe S. 33).
- [56] R. Tournebize, B.-T. Doan, M.-A. Dillies, S. Maurin, J.-C. Beloeil und P. J. Sansonetti, *Magnetic resonance imaging of Klebsiella pneumoniae-induced pneumonia in mice*, *Cellular microbiology* 8(1): 33–43, 2006 (siehe S. 33).
- [57] H. Ledermann, A. Kaim, G. Bongartz und W. Steinbrich, *Pitfalls and limitations of magnetic resonance imaging in chronic posttraumatic osteomyelitis*, *European radiology* 10(11): 1815–1823, 2000 (siehe S. 33).
- [58] A. H. Kaim, G. Jundt, T. Wischer, T. O’Reilly, J. Fröhlich, G. K. von Schulthess und P. R. Allegrini, *Functional-Morphologic MR Imaging with Ultrasmall Superparamagnetic Particles of Iron Oxide in Acute and Chronic Soft-Tissue Infection: Study in Rats1*, *Radiology* 227(1): 169–174, 2003 (siehe S. 34, 42, 52, 53, 56, 97, 100).
- [59] B. Ebner, P. Behm, C. Jacoby, S. Burghoff, B. A. French, J. Schrader und U. Flögel, *Early assessment of pulmonary inflammation by 19F MRI in vivo*, *Circulation: Cardiovascular Imaging* 3(2): 202–210, 2010 (siehe S. 34, 52, 54, 56, 97, 100).
- [60] W. A. Craig, J. Redington und S. C. Ebert, *Pharmacodynamics of amikacin in vitro and in mouse thigh and lung infections*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 27(suppl C): 29–40, 1991 (siehe S. 36).
- [61] K. P. Francis, D. Joh, C. Bellinger-Kawahara, M. J. Hawkinson, T. F. Purchio und P. R. Contag, *Monitoring Bioluminescent Staphylococcus aureus Infections in Living Mice Using a Novel luxABCDE Construct*, *Infection and Immunity* 68(6): 3594–3600, 2000 (siehe S. 37).
- [62] O. Speck, K. Scheffler und J. Hennig, *Fast 31P chemical shift imaging using SSFP methods*, *Magnetic resonance in medicine* 48(4): 633–639, 2002 (siehe S. 38).

- [63] J. Sijbers, A. J. den Dekker, E. Raman und D. Van Dyck, *Parameter estimation from magnitude MR images*, International Journal of Imaging Systems and Technology 10(2): 109–114, 1999 (siehe S. 40, 72).
- [64] J. S. Lee, H. J. Kang, G. Gong, H.-D. Jung, K. H. Lim, S. T. Kim und T.-H. Lim, *MR Imaging of in Vivo Recruitment of Iron Oxide-labeled Macrophages in Experimentally Induced Soft-Tissue Infection in Mice*, Radiology 241(1): 142–148, 2006 (siehe S. 53, 57, 97).
- [65] J. Wang und L. Maurer, *Positron Emission Tomography: Applications In Drug Discovery and Drug Development*, Current Topics in Medicinal Chemistry 5(11): 1053–1075, 2005 (siehe S. 56).
- [66] P. Marzola, E. Nicolato, E. Modugno, P. Cristofori, A. Lanzoni, C. Ladel und A. Sbarbati, *Comparison between MRI, microbiology and histology in evaluation of antibiotics in a murine model of thigh infection*, English, Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine 9(1-2): 21–28, 1999 (siehe S. 57).
- [67] K. L. LaPlante, S. N. Leonard, D. R. Andes, W. A. Craig und M. J. Rybak, *Activities of Clindamycin, Daptomycin, Doxycycline, Linezolid, Trimethoprim-Sulfamethoxazole, and Vancomycin against Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus with Inducible Clindamycin Resistance in Murine Thigh Infection and In Vitro Pharmacodynamic Models*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 52(6): 2156–2162, 2008 (siehe S. 57).
- [68] T. Basse-Lüsebrink, „Einsatz der MR-Bildgebung zur Darstellung 19F-markierter Zellen in-vitro“, Diplomarbeit (Universität Würzburg, 2007) (siehe S. 58).
- [69] N. F. Ramsey, *Resonance transitions induced by perturbations at two or more different frequencies*, Physical Review 100(4): 1191, 1955 (siehe S. 60–62, 90).
- [70] R. F. Schulte, L. Sacolick, M. H. Deppe, M. A. Janich, M. Schwaiger, J. M. Wild und F. Wiesinger, *Transmit gain calibration for nonproton MR using the Bloch-Siegert shift*, NMR in Biomedicine 24(9): 1068–1072, 2011 (siehe S. 67).
- [71] R. Pohmann, M. Von Kienlin und A. Haase, *Theoretical evaluation and comparison of fast chemical shift imaging methods*, Journal of Magnetic Resonance 129(2): 145–160, 1997 (siehe S. 72).

-
- [72] H. Buckmaster, S. Cohn-Sfetcu und D. Fry, *Optimum filtering for sensitivity enhancement in magnetic resonance*, Journal of Magnetic Resonance (1969) 14(3): 296–307, 1974 (siehe S. 72).
- [73] H. Gudbjartsson und S. Patz, *The Rician distribution of noisy MRI data*, Magnetic Resonance in Medicine 34(6): 910–914, 1995 (siehe S. 80).
- [74] J. Hennig, M. Weigel und K. Scheffler, *Multiecho sequences with variable refocusing flip angles: optimization of signal behavior using smooth transitions between pseudo steady states (TRAPS)*, Magnetic resonance in medicine 49(3): 527–535, 2003 (siehe S. 82).
- [75] J. Hennig, *Multiecho imaging sequences with low refocusing flip angles*, Journal of Magnetic Resonance (1969) 78(3): 397–407, 1988 (siehe S. 82).
- [76] J. Hennig und K. Scheffler, *Hyperechoes*, Magnetic resonance in medicine 46(1): 6–12, 2001 (siehe S. 82).
- [77] Q. Duan, P. van Gelderen und J. Duyn, *Improved Bloch-Siegert based B1 mapping by reducing off-resonance shift*, NMR in Biomedicine 26(9): 1070–1078, 2013 (siehe S. 89, 94).
- [78] M. M. Khalighi, B. K. Rutt und A. B. Kerr, *RF pulse optimization for Bloch-Siegert B+1 mapping*, Magnetic Resonance in Medicine 68(3): 857–862, 2012 (siehe S. 89, 94).
- [79] I. Bronštein, K. Semendjajew, G. Musiol und H. Mühlig, *Taschenbuch der Mathematik*, 5. überarbeitete und erweiterte Auflage, Harri Deutsch, 2001 (siehe S. 91).
- [80] E. A. Turk, Y. Z. Ider, A. S. Ergun und E. Atalar, *Approximate Fourier domain expression for Bloch-Siegert shift*, Magnetic Resonance in Medicine 73(1): 117–125, 2015 (siehe S. 95).
- [81] K. V. Jordanova, D. G. Nishimura und A. B. Kerr, *B1 estimation using adiabatic refocusing: BEAR*, Magnetic Resonance in Medicine 72(5): 1302–1310, 2014 (siehe S. 95).
- [82] D. Hoult und R. Richards, *The signal-to-noise ratio of the nuclear magnetic resonance experiment*, Journal of Magnetic Resonance (1969) 24(1): 71–85, 1976 (siehe S. 95).

- [83] L. Hu, F. D. Hockett, J. Chen, G. M. Lanza und S. A. Wickline, *Single-input double-tuned birdcage coil with identical B1 filed profile for 1H and 19F imaging*, in Proceedings of the 18th annual meeting of the international society for magnetic resonance in medicine, (1502) ISMRM, 2010 (siehe S. 96).
- [84] S. Fiedler, T. C. Basse-Lüsebrink, L. M. A. und P. M. Jakob, *Solenoids for combined 1H and 19F MRI at 7 Tesla*, in Proceedings of the german section of the ismrm DSISMRM, 2009 (siehe S. 96).

Zitierte eigene Literatur

- [E1] T. Hertlein, V. Sturm, S. Kircher, T. Basse-Lüsebrink, D. Haddad, K. Ohlsen und P. Jakob, *Visualization of Abscess Formation in a Murine Thigh Infection Model of Staphylococcus aureus by 19F-magnetic resonance imaging (MRI)*, PLoS ONE 6(3): e18246, 2011 (siehe S. 33, 43, 44, 46–50).
- [E2] T. Hertlein, V. Sturm, P. Jakob und K. Ohlsen, *19F Magnetic Resonance Imaging of Perfluorocarbons for the Evaluation of Response to Antibiotic Therapy in a Staphylococcus aureus Infection Model*, PLoS ONE 8(5): e64440, 2013 (siehe S. 33, 52–55).
- [E3] T. Basse-Lüsebrink, V. Sturm, T. Kampf, G. Stoll und P. Jakob, *Fast CPMG-based Bloch-Siegert B1+ mapping*, Magnetic Resonance in Medicine 67(2): 405–418, 2012 (siehe S. 60, 63–65, 72, 73, 80–82).
- [E4] V. J. F. Sturm, T. C. Basse-Lüsebrink, T. Kampf, G. Stoll und P. M. Jakob, *Improved encoding strategy for CPMG-based Bloch-Siegert B1+ mapping*, Magnetic Resonance in Medicine 68(2): 507–515, 2012 (siehe S. 60, 63, 75, 77–79).
- [E5] T. C. Basse-Lüsebrink, V. J. F. Sturm, A. Vilter, T. Kampf, V. C. Behr und P. M. Jakob, *Fast, Indirect Assessment of the 19F B1 Profile by 1H Bloch-Siegert B1 Mapping Using Double-Resonant 1H/19F Coils*, in Proceedings of the 20th annual meeting of the international society for magnetic resonance in medicine, (3367) ISMRM, 2012 (siehe S. 96).

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei allen, die mich bei dieser Arbeit unterstützt haben, im besonderen bei:

- **Prof. Dr. Peter M. Jakob**
der mir diese interdisziplinäre Arbeit angeboten und die Arbeit mit hilfreichen Diskussionen begleitet hat, als auch die wissenschaftliche Freiheit bot zusammen mit Kollegen sich entlang des Wegs mit interessanten Aspekten zu beschäftigen.
- **Tobias Hertlein**
„meinem“ Biologen mit dem der interdisziplinäre Teil der Arbeit erst möglich wurde und damit den biologischen Teil dieser Arbeit maßgeblich mit gestaltet hat. Danke für die angenehme Zusammenarbeit auch und insbesondere bei der einen oder anderen langen Nacht am Biospec.
- **Thomas Kampf**
für die vielen hilfreichen Diskussionen – nicht nur bezüglich physikalischer Fragestellungen – und die konstruktive Zusammenarbeit über die Jahre hinweg.
- **Thomas Basse Luesebrink**
für die tolle Zusammenarbeit als „Betreuer“ unseres manchmal etwas eigensinnigen Biospecs, aber insbesondere auch für die äußerst konstruktive Kooperation mit Thomas Kampf und mir auf dem Thema des BS B_I^+ Mappings.
- **André Fischer**
für die Portierung des BS B_I^+ Mappings auf den Human Scanner und der einen oder anderen Exkursion ins hiesige Kino.
- **Simon, Anna und Ebi**
für die lockere und tolle Atmosphäre und die super Zusammenarbeit, sowie das eine oder andere leckere Mittagessen.
- **Sabine Voll**
Kurz und knapp: DANKE, für all die kleinen und großen Dinge ohne die der Lehrstuhl nicht derselbe wäre.
- **Dr. Volker Behr**
für ein allzeit offenes Ohr, und dass das EP5 Computersystem bis heute so super läuft.

- **Allen Korrekturlesern**
für ihre Geduld und Hilfe, ohne die die Arbeit nicht in dieser Form existieren würde.
- **allen ehemaligen Bürokollegen**
für die lockere und tolle Büroatmosphäre
- **Dr. Marco Parczyk**
für die Einweisung in den abwechslungsreichen Nebenjob als „Betreuer“ des Biospec.
- **Und allen bei EP5**
für dieses besondere „Biotop“ EP5.
- **Sowie dem Biospec**
für die abwechslungsreiche Nebenbeschäftigung und nicht zu letzt für deine netten Anrufe wenns dir im Hochsommer zu warm wurde.

- **Meiner Familie**
für die Unterstützung über all die Jahre hinweg.
- **Meiner Freundin, Carmen**
für deine Geduld und andauernde Unterstützung.

Und danke an alle die ich ungerechtfertigter Weise hier vergessen habe.

Volker