

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I

der Universität Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. G. Ertl

**Herzinfarkt-scheinoperierte Ratten vs. gesunde Ratten:
Ein Vergleich in der Cine-Herzmagnetresonanztomografie**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Leoni Jacobea Bönhof

aus Wiesbaden

Würzburg, Juli 2011

Referent: Prof. Dr. Dr. Wolfgang Bauer

Korreferent: Prof. Dr. Meinrad Beer

Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 29.06.2012

Die Promovendin ist Ärztin.

Für F.

Inhaltsverzeichnis:

	Seite
1. Einleitung	1
<hr/>	
2. Material und Methoden	6
<hr/>	
2.1. Versuchstiere	
2.1.1. Tierhaltung	
2.1.2. Shamoperation	7
2.1.3. Tierhandhabung bei den MR-Messungen	8
2.1.4. Histologie	
2.2. MR – Grundlagen	10
2.2.1. Physikalische Grundlagen	
2.2.2. MR - physikalische Prinzipien	11
2.2.3. MRT – Bilderrechnung	17
2.2.4. MRT – Sequenzen	19
2.2.5. Wichtung	22
2.2.6. FLASH-Anwendungen: Cine-Sequenz	24
2.2.6.a Cine-Sequenz	
2.2.6.b Durchführung einer Cine-MRT-Messung	26
2.2.6.c Berechnung der funktionellen Daten	27
2.2.7. Technische Ausrüstung	
2.3. Auswertung	30
2.3.1. Auswertung Volumetrie	31
2.3.2. Auswertung Systolische Wanddickenzunahme	32
2.3.3. Auswertungsstatistik	34
3. Ergebnisse	35
<hr/>	
3.1. Übersichtstabellen	
3.2. Ergebnistabellen	36
3.3. Signifikanztest	37
3.4. Grafische Darstellung	38
4. Gewichtsnormierte Ergebnisse – Ergänzungs betrachtung	42
<hr/>	
4.1. Tieraufstellung und technische Parameter	
4.2. Ergebnistabellen	
4.3. Signifikanztest	43
4.4. Grafische Darstellung	44
5. Diskussion	47
<hr/>	
5.1. Kernaussagen	
5.2. Vergleich mit Fremddaten	50
5.3. Detaillierte Ergebnisbetrachtung	
5.3.1. Zur Versuchsdurchführung	51
5.3.2. Zur Auswertung	52
5.4. Ausblicke	56
6. Zusammenfassung	58
<hr/>	
7. Quellenangaben	59
8. Abbildungsverzeichnis	62
9. Danksagungen	
10. Lebenslauf	

1. Einleitung

Die häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrienationen sind kardiovaskuläre Erkrankungen.

Abb. 1.1 - Angina pectoris nach Frank H. Netter



In Deutschland beispielsweise befanden sich im Jahre 2009 die chronisch-ischämische Herzkrankheit (ICD 10 – I25) auf Platz 1 mit 73899 Toten, gefolgt vom akuten Myokardinfarkt (ICD 10-I21) auf Platz 2 mit 56226 Toten und auf dem 3. Platz von der Herzinsuffizienz (ICD 10 – I50) mit 48954 Toten.

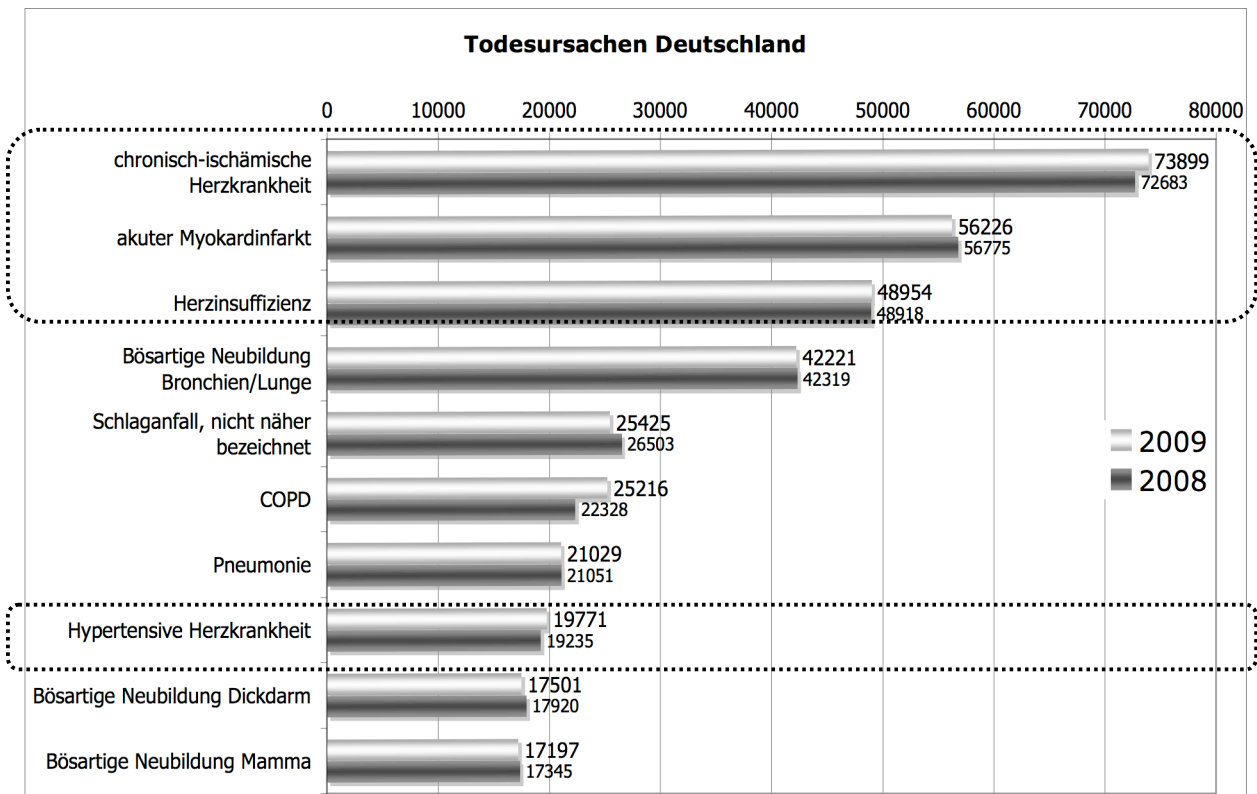


Abb. 1.2 – Todesursachen Deutschland 2008, 2009

4 der 8 häufigsten Todesursachen in Deutschland waren 2008 und 2009 also kardialer Natur [1] und ein Wandel dieses Trends ist nicht abzusehen, im Gegenteil, die weltweite Tendenz bewegt sich auch in den Schwellen- und Entwicklungsländern in diese Richtung [2], Herzerkrankungen sind weltweit die häufigste Todesursache bei Frauen [2].

Umso wichtiger wird die Erforschung von kardiovaskulären Erkrankungen in den kommenden Jahren also noch werden, wobei die experimentelle Grundlagenforschung auch einen wichtigen Platz einnimmt.

Einen Baustein hierzu liefert die MR-Bildgebung des Herzens, die sich als Goldstandard sowohl in der morphologischen als auch in der funktionellen Diagnostik bewährt hat [3]. Kardiovaskuläre MR-Bildgebung stellt sich in der klinischen Anwendung als Methode von exzellenter Abbildungsqualität insbesondere bezüglich des Weichteilkontrastes in drei Dimensionen dar, als patientenfreundlich, nicht invasiv und ohne Röntgen-Strahlenbelastung (wie sie etwa bei CT-Untersuchung oder Koronarangiografie unvermeidbar ist).

Eine Auflistung:

Vorteile	Nachteile
<ul style="list-style-type: none"> • Bester Weichteilkontrast • Hohe Auflösung • Keine Röntgenstrahlenbelastung • Keine Jod-Kontrastmittelbelastung • Keine Invasivität • Diverse Funktionsuntersuchungen möglich 	<ul style="list-style-type: none"> • Hohe Kosten • Begrenzte Verfügbarkeit • Lange Untersuchungsdauer • Compliance (Atempausen) nötig • Ersetzt nicht die Herzkatheteruntersuchung • Kontraindikationen z.B. ICD, Herzschrittmacher!

Bisher konnten für die Diagnostik folgende Methoden des Cardio-MRT etabliert werden:

Herz-MR-Funktionsuntersuchungen am Menschen
<ul style="list-style-type: none"> • Morphologie- und Funktionsdiagnostik (Cine = „cinematografique“, s. u.) • Perfusionsdiagnostik • Vitalitätsdiagnostik • Stress-Untersuchungen (z.B. unter Adenosin/Dobutamin) • MR-Koronar-Angiografie (bislang nur für spezielle Fragestellungen)

Bislang wird der Einsatz folgendermaßen gehandhabt [4], [5]:

Indikationen für Cardio-MRT
<ul style="list-style-type: none">• Koronare Herzkrankheit<ul style="list-style-type: none">▪ Linksventrikuläre Volumetrie und Wandbewegungsanalyse▪ Perfusion▪ Vitalitätsdiagnostik▪ Stressdiagnostik• Shunt/Vitien/Anomalien des Herzens und der herznahen Gefäße• Entzündliche Veränderungen (Myokarditis)• Erworbene Erkrankungen der großen herznahen Gefäße• Kardiomyopathien, z.B. arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie• Differenzialdiagnostik kardialer Raumforderungen• Differenzialdiagnostik der pulmonalen Hypertonie• Differenzialdiagnostik der Perikardveränderungen

Gerade bei Infarktpatienten ist es wichtig, nach dem akuten Geschehen die kardiale Funktion langfristig diagnostisch zu verfolgen, da von ihr die klinische Prognose und weitere Therapieentscheidungen maßgeblich beeinflusst werden. So erhebt man z.B. echokardiografisch Funktionsparameter wie die Auswurfleistung und beobachtet die Kontraktilität. Auch die mit dem MRT erhobenen Parameter der kardialen Dysfunktion korrelieren mit der klinischen Prognose post Infarkt [6].

Zur reinen Kontrolle der Funktionsparameter stellt die Echokardiografie das kostengünstigere, flexiblere und auf breiterer Basis verfügbare Verfahren dar. Jedoch bietet das MRT noch weiteres Potenzial: Durch die höhere Genauigkeit sind auch feinstrukturelle Aufnahmen (MR-Mikroskopie) möglich, weiterhin kann man die Mikrozirkulation, also Perfusion und das RBV („regional blood volume“, ein Maß für die Kapillarisation) messen. In Zukunft sollen sowohl die MR-Angiografie als valider Ersatz für die Katheter-Koronarangiografie etabliert, als auch Messungen des Myokardstoffwechsels möglich werden.

Unabdingbar ist zur Erprobung neuer, experimenteller Herz-MR-Bildgebungsmethoden der Tierversuch. An vielen Kliniken und Forschungszentren, deutschlandweit und international, findet solches tierexperimentelle Forschungsgeschehen statt.

Hier seien nur die Aktivitäten der dieser Arbeit übergeordneten Lehrstühle erwähnt, die u. a. auf den Gebieten des Hochfeld-MRT (unter Verwendung von stationären Feldern mit Feldstärken über 7 Tesla) und der Sauerstoffverbrauchs-Quantifizierung am Herzmuskel forschen. Als geeignetes Modell in der Herzforschung haben sich seit Jahrzehnten Nagetiere bewährt. Schon früh konnte gezeigt werden, dass das Infarktmodell des Menschen mit

anschließendem Myokardremodeling in der Ratte als repräsentativem Modellorganismus sehr gut abgebildet und zu beobachten ist, wobei lediglich die Entwicklungszeiträume gerafft sind. Auch in der MR-Bildgebung ist dies nachvollziehbar [7,8,9].

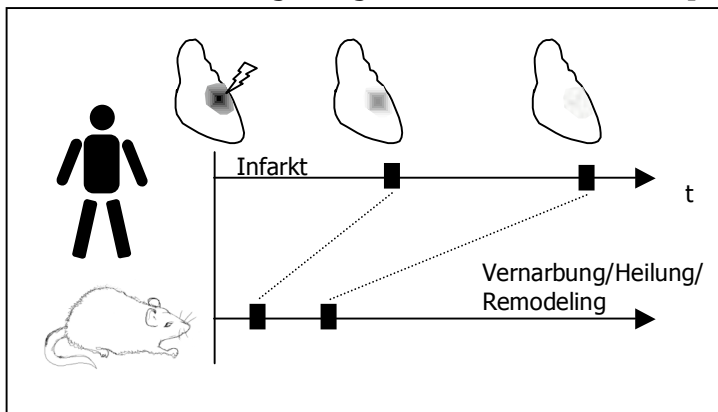


Abb. 1.3
Modellcharakter des
Herzinfarktgeschehens beim
Nager und Übertragbarkeit
auf den Menschen
bei Berücksichtigung
der zeitlichen Raffung

Auch Aussagen zur Genese der chronisch-ischämischen Herzkrankheit können auf das menschliche Herz übertragen werden [10]. Der Modellorganismus Nagetier zeigt auch hinreichend Vorhersagevalidität über das Verhalten des menschlichen Myokardgewebes unter identischer Behandlung [11].

Nicht zuletzt ermöglicht die Nutzung des etablierten Modellorganismus Ratte für kardiovaskulär-pathophysiologische Fragestellungen den Vergleich mit zahlreichen früheren Arbeiten.

Mittels der Kardio-MRT erhobene morphologische und funktionelle Befunde am Nagetier haben den Vorteil, repräsentativ und direkt die tatsächlichen morphologischen und funktionellen Veränderungen des infarzierten Herzens in vivo abbilden zu können, was mit zahlreichen weiteren diagnostischen Methoden nur indirekt oder in vitro möglich ist (diese können z.B. über Histologie, elektromagnetische Flussmessung und Druck-Volumen-Kurven erhoben werden) [8]. Die Nichtinvasivität und gute Verträglichkeit der MRT ermöglicht oder erleichtert zusätzlich die Erhebung und den Vergleich von Langzeitverläufen.

In der vorliegenden Arbeit wird primär die MR-Cine-Bildgebung zur quantitativen kardialen Funktionsdiagnostik behandelt, die sich für zahlreiche Fragestellungen in der Herzinfarktforschung in der MRT als Goldstandard etablieren konnte [12].

Experimentelle Herzinfarkt-Forschung im Tiermodell wird seit Jahrzehnten unter anderem ermöglicht durch eine Methode, bei welcher durch die operative Ligatur des RIVA ein ischämischer Schaden des Myokards erzeugt wird [13]. (Auf das genaue Vorgehen hierbei soll später noch ausführlich zurückgekommen werden).

Bei Versuchsaufstellungen mit Infarkttieren wird oft eine nicht infarzierte Vergleichsgruppe benötigt. Bei dieser möchte man die Rahmenbedingungen im Vergleich zur Gruppe der Infarkttiere möglichst identisch halten, um Quellen für systematische Fehler zu vermeiden.

Die Vergleichstiere (im Folgenden: Sham = scheinoperierte Tiere) durchlaufen den gleichen invasiven Prozess wie die Infarktgruppe (z.B. Perikarderöffnung, Operationstrauma, Operationsstress, siehe unten). Nur auf die abschließende RIVA-Ligatur wird verzichtet. Solche Sham-Gruppen werden seit langem verwendet, um den Einfluss operationsbedingter, systematischer Fehler auf die Untersuchungsergebnisse zu erkennen und nach Möglichkeit zu minimieren. Allerdings ist das Erzeugen von Sham-Tieren mit dem Aufwand des Erzeugens von Infarkttieren vergleichbar [14], wobei hier neben Personal-, Zeit- und Ressourcenaufwand auch potenziell mit dem peri- oder post-operativen Tod des Tieres gerechnet werden muss [14].

Neue Operationsmethoden haben zwar die Mortalität insgesamt vermindern können [15], wobei aber sowohl der Aufwand als auch die Sterblichkeit durch Sham-Operationen insgesamt hoch bleiben und die Verhältnismäßigkeit der fortgesetzten Verwendung solcher Kontrollgruppen unter dem Aspekt Informationsgewinn contra Tierschutzes fragwürdig bleibt.

Aber auch unabhängig von Tierschutz-relevanten ethischen Fragen ist zu überprüfen, nicht nur ob, sondern inwieweit die artifizielle Infarzierung bzw. Sham-Operation selbst die Übertragbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse auf die natürlichen Abläufe beim physiologischen Myokardinfarkt beeinflusst. So ist beispielsweise anzunehmen, dass etwa durch Eröffnung des Thorax und Perikards die hämodynamischen Verhältnisse am Herzen nicht unwesentlich beeinflusst werden, wovon wiederum ein Einfluss auf Wundheilung und Remodeling zu erwarten wäre, dessen Quantifizierung bislang noch aussteht.

Bisherige eigene Erfahrungen mit funktioneller Cine-MR-Bildgebung an Ratten andererseits legen die Vermutung nahe, dass womöglich aufgrund vergleichbarer morphologischer und Herzfunktions-Parameter auch unoperierte Ratten als Vergleichsgruppe fungieren könnten. In der vorliegenden Arbeit soll nun zur Beantwortung der aufgeworfenen Fragestellungen der Einfluss der Sham-Operation auf die Herzmorphologie und -Funktion genauer untersucht werden.

Es soll spezifisch untersucht werden, ob die mittels Cine-MRT gemessenen kardialen Morphologie- und Funktionsparameter gesunder und sham-operierter Ratten signifikant voneinander abweichen oder vergleichbar sind. Primäres Ziel ist dabei die Quantifizierung der durch die Operation verursachten morphologischen und funktionellen kardialen Alterationen. Sollten aufgrund nichtsignifikanter Unterschiede zwischen beiden Gruppen gesunde statt sham-operierte Ratten als Vergleichskollektiv möglich werden, wäre dies insbesondere unter Tierschutz-ethischen, aber auch finanziellen und zeitlichen Gesichtspunkten sehr zu begrüßen.

2. Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

2.1.1 Haltung

Das Versuchstierkollektiv rekrutiert sich ausschließlich aus weiblichen Ratten der Rasse Wistar (Züchter Charles River, Sulzfeld).

Die Haltung der Tiere erfolgt unter standardisierten Bedingungen bei 21°C und 55% Luftfeuchtigkeit unter einem 12h-Tag-Nachtrhythmus. Je nach Größe werden 2-4 Tiere pro Käfigeinheit gehalten, mit frei verfügbarem Wasser und Futter (Standard-1320-

Ratte/Maus-Haltungsdiaät, Firma Altromin, Lage, Deutschland).

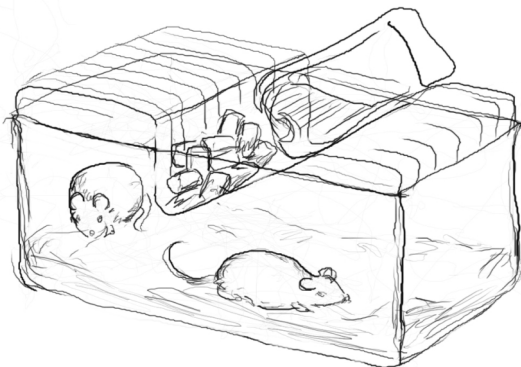


Abb. 2.1 Tierkäfig mit Wasser, Futter und Einstreu

Insgesamt 12 Tiere wurden in die Studie einbezogen. 6 Tiere durchliefen die MR-Messungen ohne Vorbehandlung. Sie wurden zur bestmöglichen Vergleichbarkeit aus einer möglichst ähnlichen Gewichtsgruppe rekrutiert (siehe Tabelle unten).

Die zweite Gruppe wurde (nach mindestens 5 Tagen Haltung unter den o.g. Standardbedingungen) dem regulären unten näher geschilderten Sham-Operationsverfahren unterzogen. In dieser Gruppe wogen die Tiere zum Zeitpunkt der Operation allesamt um 250g, beim Messzeitpunkt zur 8. postoperativen Woche ebenfalls, wie die gesunde Vergleichsgruppe, um 330g.

Aufstellung Versuchstiere					
Sham	Nr.	Gewicht (g)	Gesund	Nr.	Gewicht (g)
	1	280		1	356
	2	310		2	348
	3	330		3	384
	4	335		4	318
	5	334		5	336
	6	313		6	410
Mittelwert Sham:		317	Mittelwert Gesund:		359

2.1.2. Sham-Operation

Zur Operation (nach der Methode von Pfeffer, Kloner et al. [13]) erhielt das betroffene Tier erst inhalativ eine Isofluran-Narkose zur Einleitung, wurde nach Eintreten der Bewusstlosigkeit mit einem eigens angefertigten Trachealtubus aus transparentem PVC (16 Gauge) intubiert und über einen speziellen Kleintier-Respirator (Rodent Ventilator Typ 7025, Firma Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland) mit einem Atemzugvolumen von 2,8 ml bei ca. 90 Atemzügen/min beatmet. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte mit 1,5%igem Isofluran über einen Verdampfer („Vapor 2000“, Firma Dräger, Lübeck, Deutschland).

Das Tier wurde mit dem Rücken auf eine selbst regulierende Wärmeplatte gelegt und die Extremitäten mit Klebestreifen befestigt, der Oberkiefer wurde mit einem um die Platte gespannten Gummiband fixiert. An den 4 Extremitäten wurden zur intraoperativen kardialen Überwachung EKG-Sonden angebracht.

Nach Rasur des Operationsfeldes erfolgte parasternal links auf Höhe 4.-5. ICR die Thorakotomie auf etwa 1,5 - 2 cm Länge, das Eröffnen des Perikards und schließlich das Herausluxieren des schlagenden Herzens. Etwa 2mm distal der aortopulmonalen Abgänge erfolgte das Hindurchziehen eines 5/0-Prolene-Fadens (Firma Ethicon, Norderstedt, Deutschland).

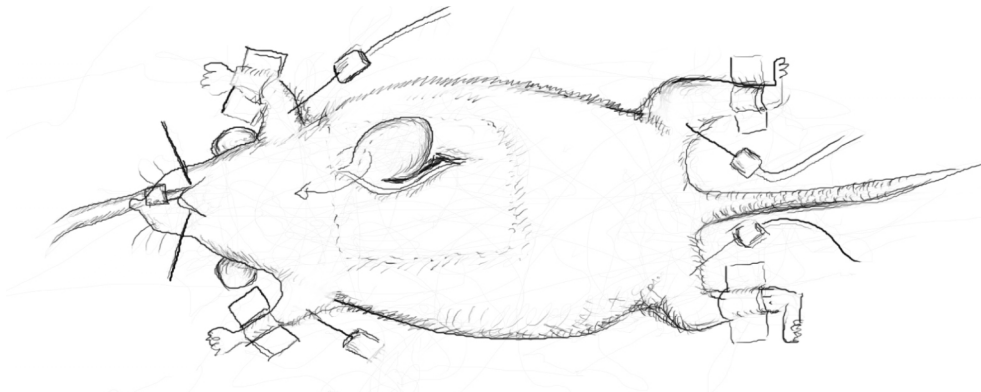


Abb. 2.2 Operationssitus nach Luxation des Herzens

Nach Beendigung dieser Prozedur folgten das Reponieren des Herzens und das Wiederverschließen des Thorax mit Klammernaht. Zum Erwachen wurde das Tier zunächst nach Einstellen der Isofluranzufuhr mit leicht erhöhter Frequenz beatmet, um die narkotikabedingte Atemdepressivität möglichst schnell zu überwinden. Nach Ausschleichen der Inhalationsnarkose extubierten sich die Tiere beim Erwachen meist selbst, sie blieben noch bei postoperativer Überwachung unter Reanimationsbereitschaft, bevor sie einige Stunden später wieder in ihre Käfige zurückversetzt wurden.

2.1.3 Tierhandhabung bei den MRT-Messungen

Zwischen dem 7. und 14. Tag sowie in der 8. Woche nach Sham-OP wurden jeweils MRT-Cine-Messungen durchgeführt. Die Narkotisierung nimmt hierbei eine Schlüsselstellung ein, sie sollte den Untersuchungsstress minimieren, bewegungsartefaktfreie Bilder bzw. zwischenatmungsfreie Messintervalle gewährleisten und die kardialen Funktionsparameter so wenig wie möglich beeinflussen. Die für diese Arbeit durchgeführten Messungen wurden zur bestmöglichen Vergleichbarkeit ausschließlich unter Inhalationsnarkose mit Isofluran (Forene, Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland) durchgeführt. Hierfür wurde wieder o.g. Beatmungsausrüstung verwendet. Die Einleitung erfolgte mit einem 4%-Anteil Isofluran, zur Narkoseaufrechterhaltung wurde dieser auf 1-2% vermindert, jeweils unter kontinuierlicher Sauerstoffgabe von 1,5 l/min.

Die so narkotisierten Tiere wurden in Rückenlage auf einer beheizten Messschiene fixiert und mit Oberflächenspulen und EKG-Elektroden versehen. Die MR-Messungen wurden unter Verwendung einer adaptierten Trigger-Einheit (Rapid Biomedical, GmbH, Rimpar, Deutschland) durchgeführt.

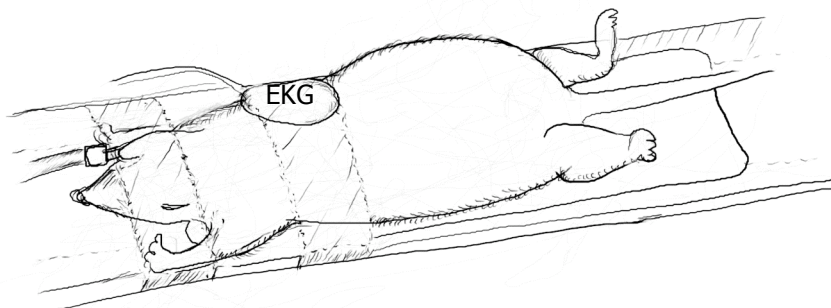


Abb. 2.3
Versuchstier auf der
Messschiene

2.1.4 Histologie

Um zu garantieren, dass es sich bei den zu untersuchenden scheinoperierten Tieren wirklich um solche handelte, d.h. um jegliches potenziell stattgehabte Infarktgeschehen auszuschließen, wurden die Tierherzen histologisch ausgewertet. Hierzu wurde den Tieren nach den MR-Messungen in der 24. Woche postoperativ eine Letaldosis von Narcoren (=Pentobarbital) intraperitoneal injiziert. Die Herzen wurden entnommen, in 4%ige Formalinlösung eingelegt und mit einem Skalpell zunächst in sechs senkrecht zur Herzachse, parallel zu den MR-Bildebenen verlaufende 2-3mm dicke Scheiben geschnitten. Diese wurden anschließend in Alkohol entwässert, in Xylol gereinigt und in Paraffin eingebettet. Von der Herzbasis bis zur Herzspitze wurden nun im 1mm-Abstand in Transversalebene (d.h. parallel zu den MR-Bildebenen bei Short Axis Imaging, siehe unten) mit dem Mikrotom etwa 5 µm dicke Schnitte angefertigt und mit Piko-Sirius-Red gefärbt [16].

Die so gewonnenen histologischen Bilder wurden mit einem Sony Videoscanner digitalisiert und danach optisch ausgewertet. Es wurde nach histologischen Zeichen eines stattgehabten Infarkts bzw einer Infarkt Narbe gefahndet. Mit Hilfe einer Makroapplikation in CorelDraw X3 (Corel Cooperation, 2006) konnte bei einem etwaigen Infarkt dessen Größe (in Flächenprozent, in Relation zur Gesamtmyokardfläche über alle Schnitte) berechnet werden. Hierfür wurden der linke Ventrikel sowie das Nekroseareal manuell umfahren und über einen Maßstabsvergleich ergaben sich die realen Flächengrößen in mm². Nur histologisch nachweisbar komplett infarktfreie Tiere durften in die Versuchsgruppe der 6 Sham-Tiere aufgenommen werden.

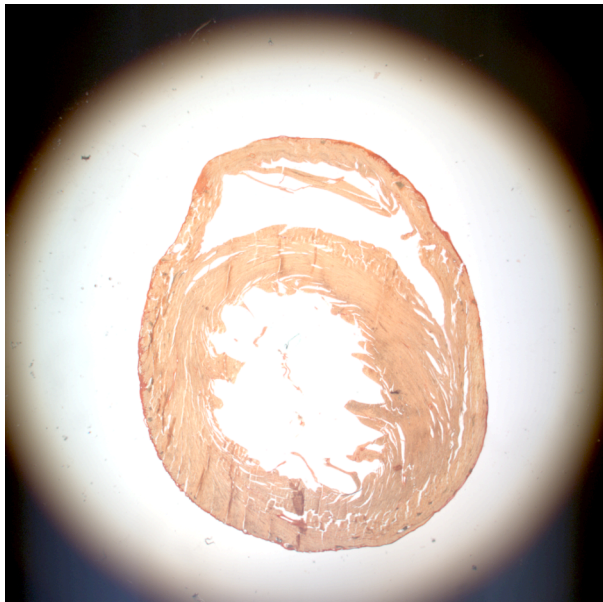


Abb. 2.4 Histologischer Schnitt senkrecht zur kurzen Achse durch ein gesundes Herz

2.2. Grundprinzipien der MRT-Bildgebung

2.2.1 Physikalische Grundlagen

Die Grundlage der MR-Bildgebung ist die magnetische Resonanz von Atomkernen. In atomaren Dimensionen kann die klassische Physik die Verhältnisse nicht mehr korrekt beschreiben, hier muss das quantenphysikalische Atommodell verwendet werden (begründet u. a. von Bohr, Heisenberg und Schrödinger, siehe z.B. [17,18]).

Der Spin

Für die Beschreibung der magnetischen Resonanz von Atomkernen wird die abstrakte quantenmechanische Eigenschaft „Spin“ genutzt, die Elementarteilchen besitzen und die sich als Eigendrehimpuls äußert, verbunden mit einem eigenmagnetischen Moment.

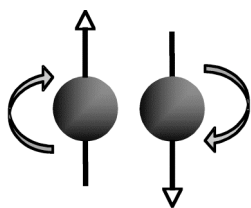
Der Spin eines jeweiligen Teilchens ist charakterisiert durch die Spinquantenzahl und das gyromagnetische Verhältnis.

Ein paar grundsätzliche Erläuterungen zum Verständnis der Quantenphysik:

Jedes Teilchen hat sowohl Korpuskel- als auch Welleneigenschaften – als Beispiel mögen die Lichtquanten (Photonen) dienen, die man sowohl als kleine Teilchen auffassen und messen als auch eine ihnen zugehörige Wellenlänge detektieren kann. Bei einer Messung muss ein Quantenteilchen definitiv „sein Gesicht zeigen“ d.h. einen distinkten Wert annehmen. Dies bezeichnet man als Annehmen eines sog. „Eigenzustandes“, der Eigenzustand geht mit einem assoziierten „Eigenwert“ einher. Typisch für die Quantenmechanik ist, dass diese Eigenwerte kein Kontinuum bilden, sondern distinkte Einzelwerte einnehmen. Diese distinkten Werte bilden potenzielle Lösungen der zugrunde liegenden Wellenfunktion.

Der Eigenwert des Spins wird auch Spinquantenzahl genannt.

Die Spinquantenzahl kann nur Vielfache von $\frac{1}{2}$ annehmen. Jedes Elementarteilchen hat seine charakteristische unveränderliche Spinquantenzahl, z.B. 0 oder $\frac{1}{2}$ oder 1. So sind beispielsweise theoretisch bei einem Teilchen mit der Spinquantenzahl 1 die Eigenwerte -1, $-\frac{1}{2}$, 0, $\frac{1}{2}$ und 1 als Spinzustände möglich. Sie beschreiben die Orientierung des Spins.



Spin $+1/2$

Spin $-1/2$

Abb. 2.5

Das Proton und das Neutron, die zum Verständnis der MR-Tomografie besonders wichtig sind, tragen die Spinquantenzahl $\frac{1}{2}$. Sie können die Spinzustände $\frac{1}{2}$ und $-\frac{1}{2}$ annehmen, vereinfachend-veranschaulichend gesagt „Spin nach oben“ oder „Spin nach unten“ .

Das gyromagnetische Verhältnis

Der Spin eines Teilchens kann über sein ihm assoziiertes magnetisches Moment gemessen werden (z.B. mittels des Stein-Gerlach-Experiments [18]). Der Spin und sein magnetisches Moment sind gleich ausgerichtet.

Das gyromagnetische Verhältnis bezeichnet den Proportionalitätsfaktor zwischen dem magnetischen Moment und dem Spin eines Teilchens. Es ist für jede Teilchenart charakteristisch. (Bestimmung z.B. über den Einstein-de-Haas-Effekt [19])

Für das Proton beträgt es $2,67522209970 \times 10^8$ /Tesla/Sekunde, d.h.
 $2,67522209970 \times 10^2$ Mhz/Tesla.

Der Kern-Spin eines Atomkerns

Dieser setzt sich zusammen aus den Spins der Einzelbausteine (Protonen und Neutronen haben je den Spin $\frac{1}{2}$). Atomkerne mit geradzahlicher Protonen- und Neutronenanzahl im Kern haben den resultierenden Spin = 0, weil sich die Protonen- und Neutronenspins paarweise antiparallel ($\frac{1}{2}$ und $-\frac{1}{2}$, up and down) ausrichten und somit resultierend aufheben. Sonst gilt: Elemente mit anderen Teilchenzahlen im Kern haben einen resultierenden Spin von $\frac{1}{2}$, wenn die Gesamtanzahl der Teilchen ungerade ist und einen resultierenden Spin von 1, wenn die Gesamtteilchenzahl gerade ist [19].

Spins sind maßgeblich mitverantwortlich für die Gruppierung von Elementarteilchen zu chemischen Elementen (was das „Pauli-Prinzip“ anschaulich verdeutlicht).

Resultierend eignen sich somit Kerne mit einem Kernspin ungleich 0 für die Kernspin-Bildgebung, weil sie magnetisch nicht inert sind.

Wasserstoffatome eignen sich somit besonders gut für die Kernspinresonanz, weil sie durch ihr großes gyromagnetisches Verhältnis ein starkes MR-Signal ermöglichen und im Körper sehr stark vertreten sind (alters- und geschlechtsabhängig bestehen der Mensch und seine Gewebe zu 53-75% aus Wasser [20]).

2.2.2 MR-Bildgebung – physikalische Prinzipien

Bringt man Wasserstoffatome in ein externes Magnetfeld B ein, so beginnen die Spins als Folge der Wechselwirkung des eigenen magnetischen Moments mit B um die Längsachse des Magnetfeldes (entlang der Feldlinien) zu präzedieren, d.h. die Drehimpulsorientierung des Kerns dreht sich um die Richtung des externen Magnetfeldes: Das ist die sog. „Larmor-Präzession“. [17,19]

Die Geschwindigkeit der Präzession wird durch die Stärke des angelegten Magnetfelds und die Art des Kerns bestimmt:

Larmorfrequenz = gyromagnetisches Verhältnis x externes Magnetfeld.

Sie wird auch als Resonanzfaktor bezeichnet.

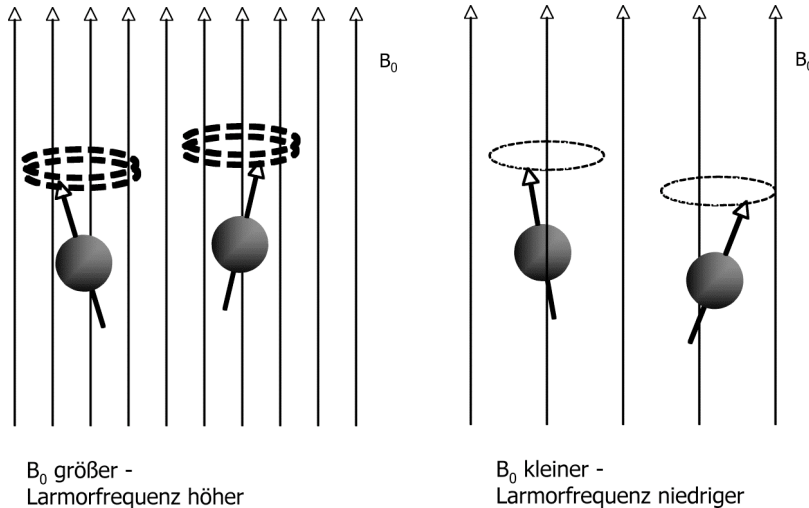


Abb. 2.6 Im Magnetfeld ausgerichtete Spins, die mit der jeweiligen magnetfeldabhängigen Larmorfrequenz präzedieren

Je nach Ausrichtung der Spins kann das Proton 2 Energieniveaus einnehmen.

In Abhängigkeit von der Stärke des Magnetfeldes und der Temperatur entsteht ein Gleichgewicht zwischen der ordnenden Wirkung des Magnetfeldes und der in Unordnung bringenden Wirkung der Temperatur. Das zahlenmäßige Verhältnis zwischen Kernspins im höheren und Kernspins im niedrigeren Energieniveau wird durch die Boltzmannverteilung beschrieben [20].

Nach der Boltzmannverteilung ergibt sich im Gleichgewichtszustand eine minimale Überbesetzung des energetisch günstigeren Niveaus (parallele Ausrichtung), die in der Summe für eine Längsmagnetisierung M_0 in Magnetfeldrichtung verantwortlich ist. Sie wird u. a. beeinflusst von der vorherrschenden Temperatur und dem Energieunterschied der beiden Energieniveaus, welcher wiederum von der jeweiligen Larmorfrequenz abhängt.

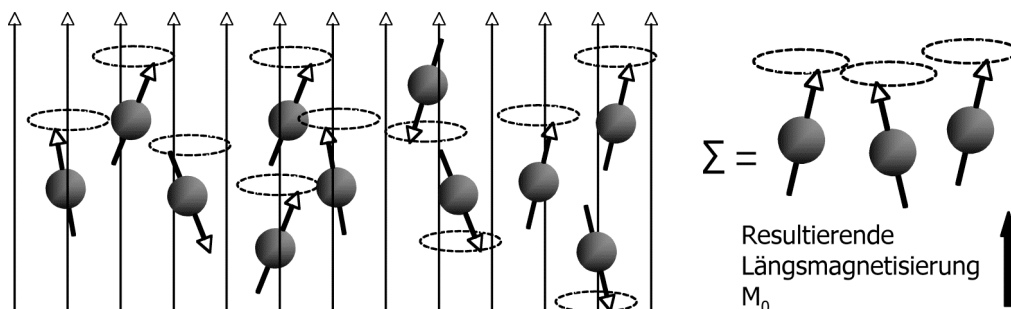


Abb. 2.7 Aufbau einer zu B_0 parallelen Längsmagnetisierung nach der Boltzmannverteilung

Das Phänomen der Kernspinresonanz kommt durch Anlegen von Hochfrequenzpulsen zustande. Wenn ein Hochfrequenzpuls - bestehend aus elektromagnetischen Wellen mit einer Frequenz nahe der Larmorfrequenz - auftrifft, kann er das Proton vom niedrigeren auf das höhere Energieniveau anheben, also die Spinlage umkehren. Das externe Hochfrequenzmagnetfeld muss hierbei senkrecht zu B_0 einwirken. Nachdem es wieder abgeschaltet wird, kehren die Spins in ihre Ausgangslage, also die Gleichgewichtslage zurück, d.h. „fallen“ wieder auf ihr altes Energieniveau „herunter“ [19,20,22,23,24].

Beim Zurückfallen baut sich die longitudinale Magnetisierung wieder auf. Das nennt man auch Spin-Gitter-Relaxation, zeitlich charakterisiert durch die T_1 -Zeit. T_1 ist erreicht, wenn die Längsmagnetisierung wieder $\sim 63\%$ ($=1-1/e$) ihres Ursprungswertes erreicht hat. Der Flipwinkel α ist benannt nach der Änderung der Nettomagnetisierung, die er hervorruft. Ein 90° -Impuls ändert die Richtung der Nettomagnetisierung um 90° .

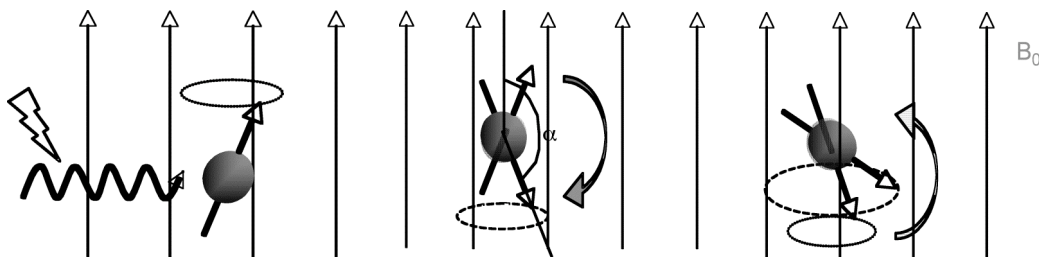


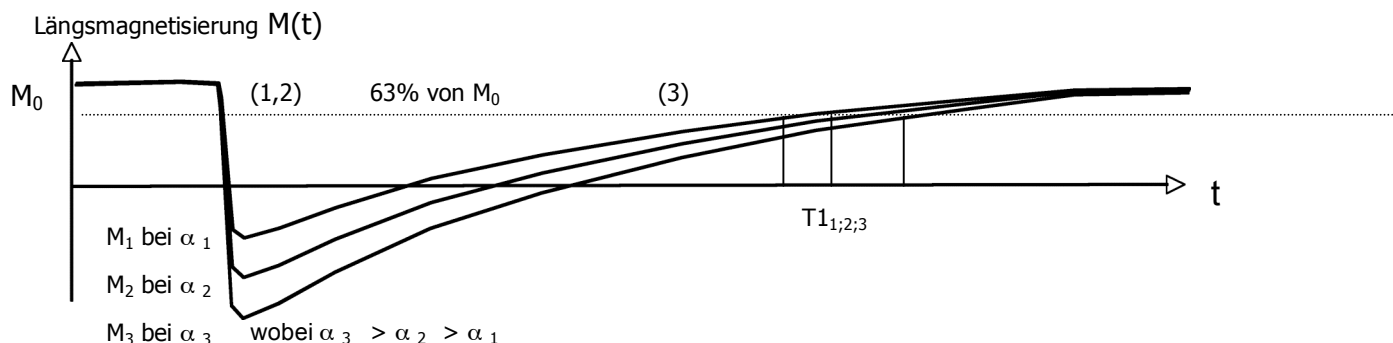
Abb. 2.8 Spin-Gitter-Relaxation

(1) Einstrahlen eines hochfrequenten elektromagnetischen Signals

(2) Absorption der Energie Einnehmen der höher-energetischen Position; „Umklappen“ um den Flipwinkel α

(3) Wiedereinpendeln in die alte Position:
- Erreichen von T_1 , dann
- Erreichen des Ausgangszustandes

T_1 ist sowohl materialspezifisch als auch vom Auslenkungswinkel abhängig.



T_1 lässt sich folgendermaßen definieren:

$$M(t) = M_0 - (1 - c e^{-\frac{t}{T_1}})$$

$$T_1: \text{wenn } M_0 \cdot (1 - c \frac{1}{e}) \approx 63\% \cdot M_0$$

Durch das Einstrahlen des Hochfrequenzpulses richten sich außerdem alle Spins in gleicher Phase aus. Die durch diese Phasenkohärenz entstandene, transversale Magnetisierung zerfällt danach wieder. Dies wird Spin-Spin-Relaxation genannt und ist durch die T_2 -Zeit charakterisiert. T_2 ist erreicht, wenn die Quermagnetisierung auf $\sim 63\% = (1 - \frac{1}{e})$ des zuvor erreichten Maximalwerts abgefallen ist.

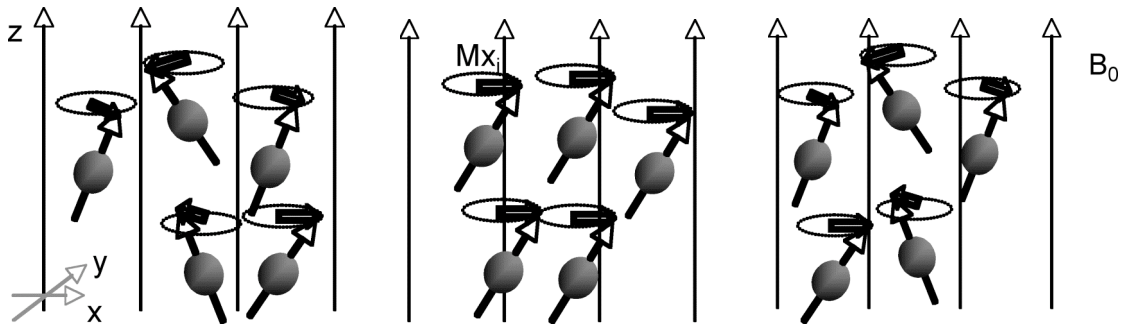


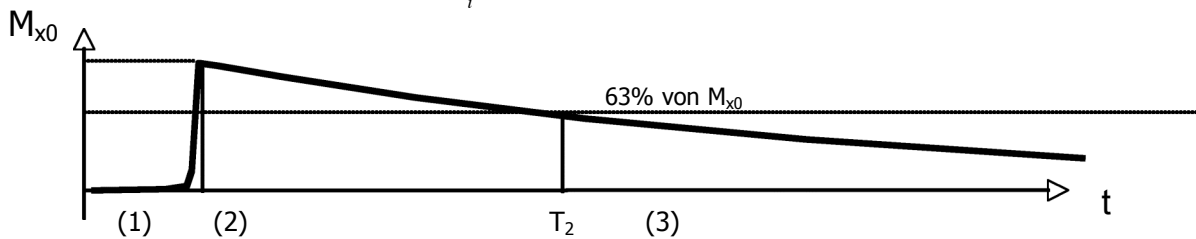
Abb. 2.9 Spin-Spin-Relaxation

(1) Spins präzedieren in x-y-Ebene ungeordnet, resultierende Quermagnetisierung $M_x = 0$

(2) Energieeinstrahlung: Spins präzedieren gleichsinnig, $M_x \neq 0$

(3) Die Unordnung nimmt wieder zu, bis wieder $M_x = 0$

$$\text{Quermagnetisierung } \bar{M}_x(t) = \sum_i \bar{M}_{x_i}(t)$$



T_2 lässt sich folgendermaßen definieren:

$$\text{Quermagnetisierung } M_x(t) = M_{x0} e^{-\frac{t}{T_2}}$$

$$T_2: \text{ wenn } M_{x0} e^{-1} \approx 63\% \cdot M_{x0}$$

Die Tatsache, dass das Resonanzphänomen nur eintritt, wenn die eingestrahlte Hochfrequenz mit der Larmor-Frequenz übereinstimmt, bildet die Grundlage der schichtselektiven Anregung, die MR-Bildgebung erst ermöglicht.

Die Larmor-Frequenz wird durch die Überlagerung des stationären Magnetfeldes mit einem magnetischen Gradientenfeld ortsabhängig:

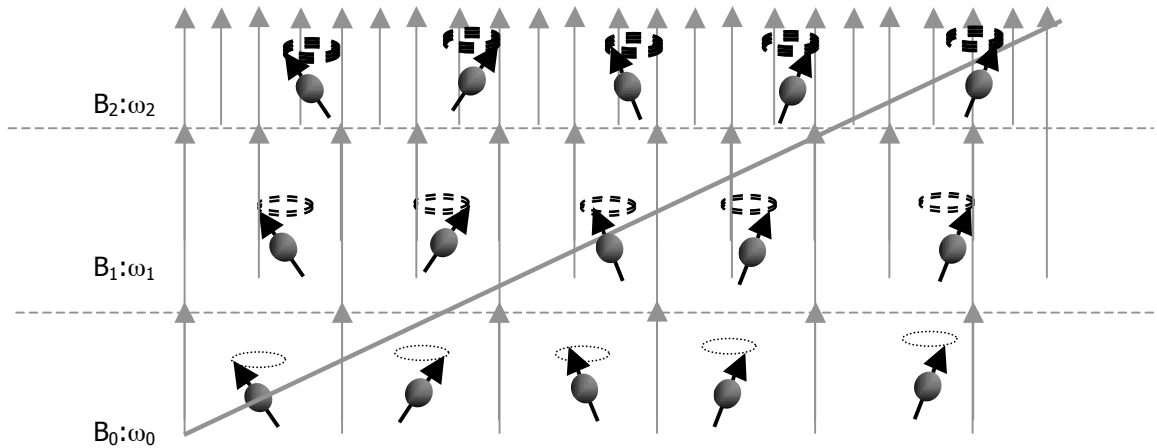


Abb. 2.10
Anlegen des Gradienten: $B(x)$; resultierendes Feld: $B_0 + B(x)$

Lässt man nun die Hochfrequenzpulse zur Resonanz mit einer bestimmten Frequenzbandbreite einwirken, so wird nur eine definierte Schicht angeregt - Magnetisierungen mit außerhalb des Bandes liegenden Larmor-Frequenzen bleiben unbeeinflusst:

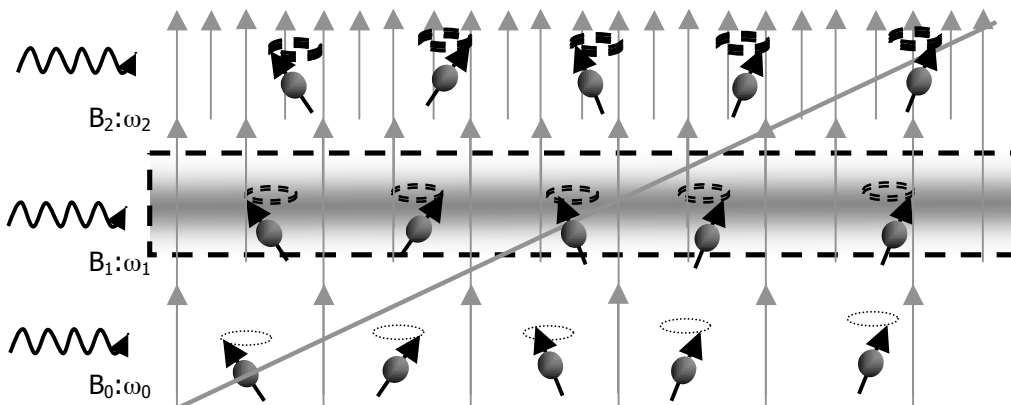
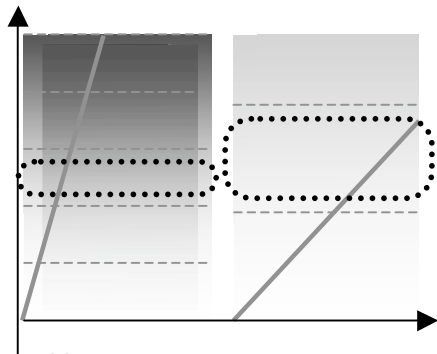


Abb. 2.11 Frequenzabhängige Ortskodierung - Schichtselektion mittels Gradient:
Der Energiepuls der Frequenz f_1 regt nur eine Schicht an
(in der die für die Resonanz passende Larmorfrequenz ω_1 herrscht)

Die Gradientenfelder werden durch eigene Gradientenspulen erzeugt. Für eine vollständige Ortskodierung in allen 3 Raumrichtungen werden 3 orthogonal aufeinander stehende Gradientenfelder (im Folgenden: Gradienten) benötigt. Die verwendeten Gradienten sind räumlich konstant, die durch sie induzierten Larmorfrequenzen linear ansteigend.

Die Schichtdicke wird durch die Gradientenstärke beeinflusst - eine geringere Gradientenstärke ermöglicht die breitere Anregung und ergibt somit dickere Schichten, während starke Gradienten feinere Selektionen und somit dünnere Schichten ermöglichen:



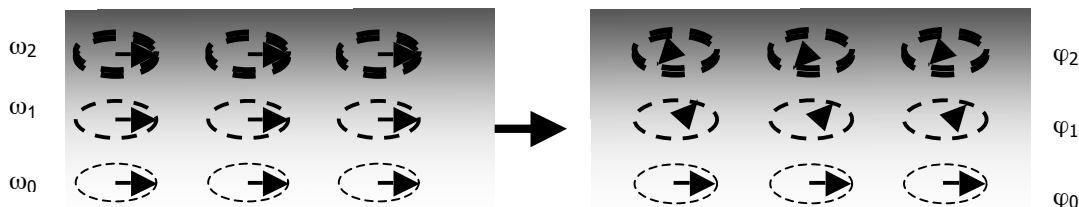
Die Graustufen können hier sowohl für die Magnetfeldstärke in einem Punkt sowie für die hier anzutreffende Larmorfrequenz stehen.

Abb. 2.12
steiler Gradient, schmale Schicht flacher Gradient, breite Schicht

Im ersten Schritt erfolgt die Ortskodierung in z-Richtung durch Schalten eines Schichtselektionsgradienten, so dass nur eine Schicht der Dicke Δz die Resonanzbedingung erfüllt.

Nachdem nun Schichtdicke und -position durch den Gradienten parallel zur B_0 -Längsrichtung festgelegt sind, erfolgt die Ortskodierung innerhalb dieser Schicht (x,y) durch einen weiteren Frequenzkodiergradienten G_R (auch: Auslesegradient) in x und durch einen Phasenkodiergradienten G_p in y. Diese zwei Schritte definieren auch die Bildauflösung.

G_p bewirkt die weitere Veränderung der Larmorfrequenz der zuvor schon angeregten Spins je nach lokal anliegender Gradientenstärke, so dass sich eine Phasendifferenz φ in y-Richtung auszubilden beginnt:



Das Phasengradientenfeld wird nun wieder abgeschaltet und Spins präzedieren wieder in der alten Larmorfrequenz, die induzierten Phasenverschiebungen jedoch bleiben erhalten und können detektiert werden:

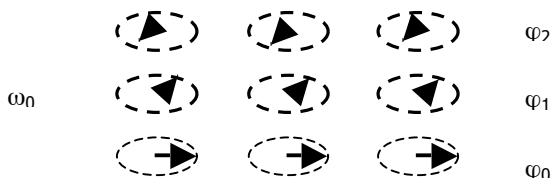


Abb. 2.13 Anliegende Gradienten ändern außer der Larmorfrequenz immer auch die Phase. Die veränderten Phasen können ausgelesen werden und zwar in so vielen Messungen, wie Bildpunkte erwünscht sind.

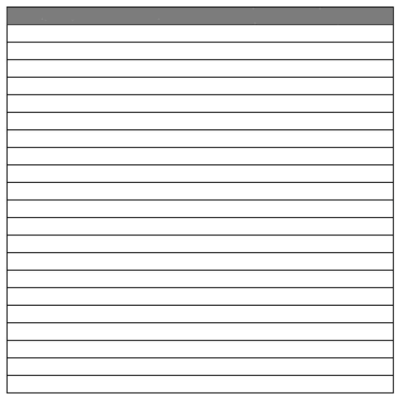
So ist schon eine Unterteilung in Zeilen gleicher Phasenverschiebungen möglich. Jetzt wird noch G_R (der Auslesegradient, als Frequenzkodiergradient) angelegt, auch hier verändert sich nun die Larmorfrequenz in x-Richtung, und diese veränderte Frequenz wird nun detektiert.

Diese Aufschlüsselung aller ankommenden Frequenzen zur rückwirkenden eindeutigen x-y-Ortsbestimmung erfolgt über Frequenzanalyse (hierfür verwendet man Fouriertransformationen), was nun erläutert werden soll.

2.2.3 MRT - Bilderrechnung

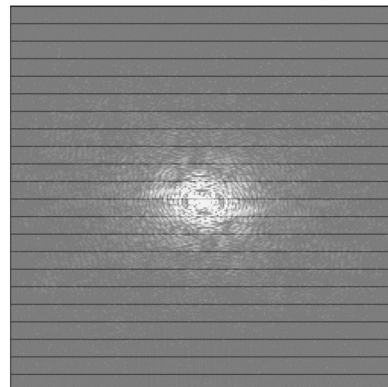
Pro Bildzeile wird eine Messsequenz erhoben. Diese Rohdaten bilden den so genannten k-Raum:

Pro Sequenzschritt (Dauer = TR) wird eine k-Raum-Zeile gemessen, m Signalstärken werden via Frequenzkodierung räumlich ausgelesen



Für die nächste k-Raumzeile wird der Phasenkodiergradient verändert, die gleiche Messung wird durchgeführt. Dieser sog. Phasenkodierschritt wird n -mal wiederholt.

$n \times T_R$



So erhält man eine Matrix von $m \times n$ Bildpunkten.

Die Messdauer beträgt $n \times T_R$.

Die Rohdatenmatrix ist ein Summenbild sich räumlich überlagernder Echosignale.

Abb. 2.14 Der k-Raum – die Messung eines höher aufgelösten Bildes dauert länger.

Für die Aufschlüsselung der Phasenkodierung müssen so viele Messungen durchgeführt werden, wie Bildzeilen in dieser (y-)Richtung erwünscht sind, damit die Transformation eindeutig ist. Hierbei kann sowohl die Gradientenstärke als auch die Dauer variiert werden. Die Messung für ein höher aufgelöstes Bild (= mehr k-Raum-Zeilen) dauert somit auch länger.

Dieses k-Raum-Bild hat den gleichen Informationsgehalt wie morphologische MRT-Bilder, denn sie lassen sich mathematisch über die Fourier-Transformation (FT) ineinander umwandeln:

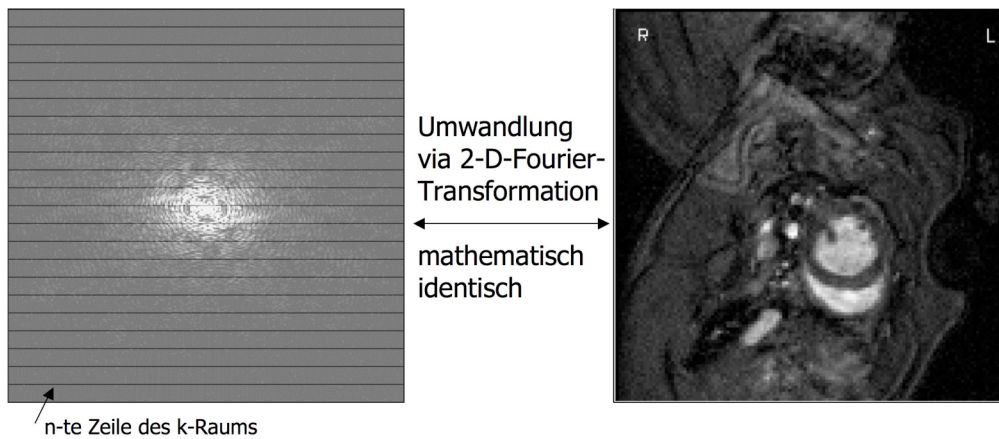
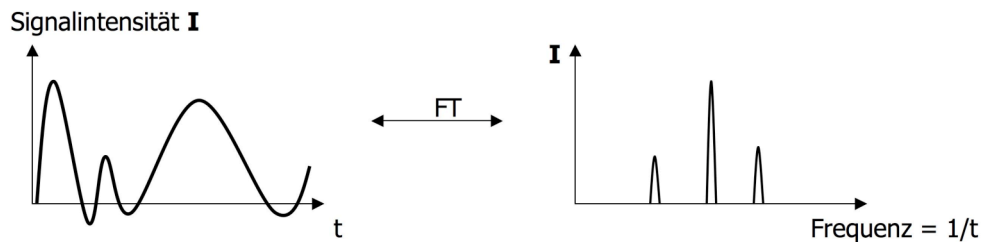


Abb.2.15

Das Prinzip der Fouriertransformation und der 2-D-Fouriertransformation erläutert die folgende Abbildung: Man kann eine beliebige Schwingungskurve als Summe von einzelnen Frequenzen mit bestimmten Intensitäten ausdrücken. Der Schwingungskurve wird also ein Frequenzspektrum zugeordnet:



Analog - räumliche Fouriertransformation:

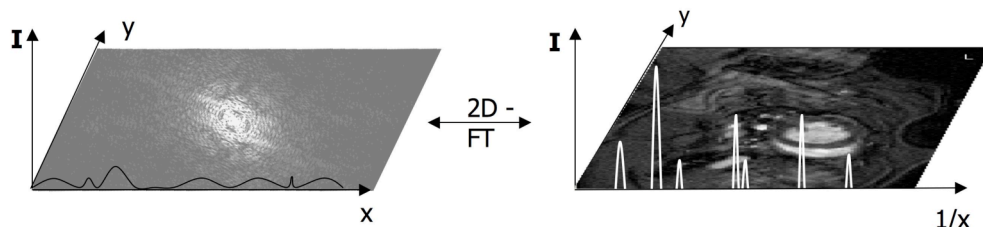


Abb. 2.16 Prinzip der Fouriertransformation als Spektralanalyse und als 2D-Anwendung

Das gleiche funktioniert auch in der räumlichen Dimension: Der 2-dimensionale k-Raum ist eine intensitätskodierte Überlagerungskarte, und über die 2D-FT kann man für jede Zeile die räumliche Herkunft des Signals wieder eindeutig zurückzuordnen. Die Signalintensität wird graustufenkodiert und man erhält das morphologische MRT-Bild.

2.2.4 MRT-Sequenzen

Eine MRT-Sequenz bestimmt den Ablauf des einzelnen MR-Experiments, insbesondere Zahl, Dauer und Stärke von Hochfrequenzimpulsen und Gradientenschaltungen.

Die Cine-Aufnahmen der hier besprochenen Experimente wurden unter Verwendung einer Fast-Low-Angle-Shot (FLASH) - Sequenz nach Haase et. al [25] durchgeführt.

Zur Erläuterung dieser Technik erst ein erklärender Überblick über die Prinzipien der verschiedenen MR-Sequenzen. Grundsätzlich läuft ein MR-Sequenzschritt ab wie folgt:

- 1.) Anregung durch Schalten eines Schichtselektionsgradienten (Frequenzkodierung)
- 2.) Phasenkodierung (repetitive kurzzeitige Schaltung von Phasengradienten)
- 3.) Echoerzeugung
- 4.) Detektion des Echos mittels eines Auslesegradienten (Frequenzkodierung)

Gradientenecho-Sequenz und FLASH-Sequenz

Der Aufbau einer MR-Sequenz soll hier anhand der Gradientenecho-Technik erläutert werden.

Nach Schritt 1 und 2 folgt die Erzeugung eines Signals und Detektieren desselben. Ein Signal kann prinzipiell auf mehrere Weisen erzeugt werden. Im einfachsten Fall dient als Signal, direkt auf den Anregungspuls folgend, die Änderung der Magnetisierung.

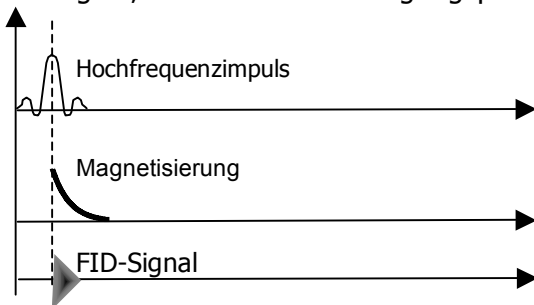


Abb. 2.17 FID (free induction decay)

Dieser Zerfall, auch FID (free induction decay), kann detektiert werden. Das so erzielte Signal ist aber durch das kleine Zeitfenster und die hohe Anfälligkeit für

Magnetfeldinhomogenitäten noch nicht optimal. Es werden daher o.g. Sequenzen entwickelt, in denen die zu detektierende Dephasierung noch einmal rekonstruiert und eine artifizielle, optimierte Echoerzeugung genutzt wird. Gängige Sequenzen sind die „Spinecho“-Sequenz oder die „Gradientenecho“-Sequenz (GRE). Letztere soll hier erläutert werden, weil die (in der vorliegenden Arbeit verwendeten) FLASH-Sequenzen auf GRE basieren. Zuerst sollen folgende Begriffe erläutert werden:

- Die **Echozeit T_E** ist die Zeit zwischen Anregung und Echodetektion
- Die **Repetitionszeit T_R** beschreibt die Zeit zwischen zwei Anregungspulsen.

Bei GRE wird durch Schaltung der Gradienten erreicht, dass sich nach vorhergehender Dephasierung und dann einsetzender Rephasierung die Spins zum Zeitpunkt der Echodetektion ebenfalls wieder in gleichsinniger Präzession ausgerichtet haben. Der Zerfall dieser artifiziell erzeugten Quermagnetisierung kann dann detektiert werden. Ein Sequenzschritt der GRE läuft ab wie folgt:

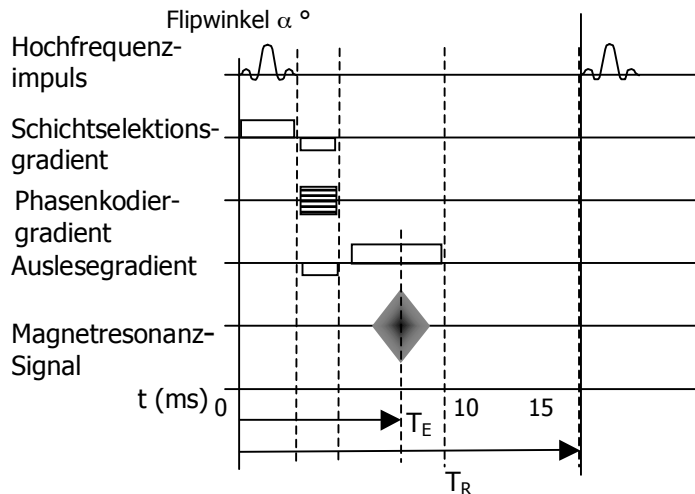


Abb 2.18 Diagramm der Anregungspulse, Gradientenschaltungen und des Magnetresonanzsignals bei einem Phasenschritt des GRE (1 x T_R entspricht der Dauer eines Phasenschrittes)

Zuerst werden der Anregungspuls und der Schichtselektionsgradient G_S geschaltet. Durch G_S verändert sich auch zwangsläufig die Phase – dies wird durch das Nachschalten von G_S (invertiert) wieder ausgeglichen.

Um nun nicht FID zu messen - sondern das Gradientenecho – wird als nächstes der Auslesegradient G_R in invertierter Polarität geschaltet, dieser sorgt für eine Vordephasierung. Gleichzeitig wirkt G_P ein, während der Auslesegradient wieder umgekehrt wird. Zum Zeitpunkt der Flächengleichheit von G_P und G_R sind die Spins dann komplett rephasiert, bevor die Quermagnetisierung wieder zerfällt - das Gradientenecho-Signal ist in maximaler Stärke detektierbar.

Die Ortskodierung in y-Richtung wird durch Schalten von G_P erreicht, d.h. der eben beschriebene Ablauf, also der Sequenzschritt, wird so oft wiederholt, wie Bildzeilen erwünscht sind. Bei einer T_R von 10 ms ergäben sich so bei einer Auflösung von 128x128 Pixeln 1,28 s für die Detektion eines Bildes.

(Die Ortskodierung in x erfolgt hierbei jeweils durch G_R .)

[26,27,28,29,30]

Ein maximales Gradientenecho-Signal kann durch maximale Quermagnetisierung, also durch Schalten von Flipwinkel = 90° erreicht werden. Weil in diesem Fall vor dem Schalten des nächsten Pulses jedoch immer abgewartet werden muss, bis sich die

Längsmagnetisierung wieder aufgebaut hat, werden die Repetitionszeiten vergleichsweise lang: $T_R \gg T_1$.

Eine Möglichkeit zur Vermeidung dieser Wartezeiten bietet das **FLASH**-Verfahren, eine schnelle Gradientenecho-Sequenz mit Flipwinkel $< 90^\circ$ (1986 von Haase et al entwickelt und ein Meilenstein in der MR-Bildgebung). Die FLASH-Sequenz ermöglichte erstmals die Aufnahme von sich schnell bewegenden Objekten, wie dem schlagenden Herzen.

Es wird wieder die Quermagnetisierung betrachtet. Durch die kleinen Flipwinkel bleibt die Längsmagnetisierung weitestgehend erhalten, muss sich also nicht immer wieder neu aufbauen, wodurch sehr viel kürzere Repetitionszeiten ($T_R \ll T_1$) erreicht werden können.

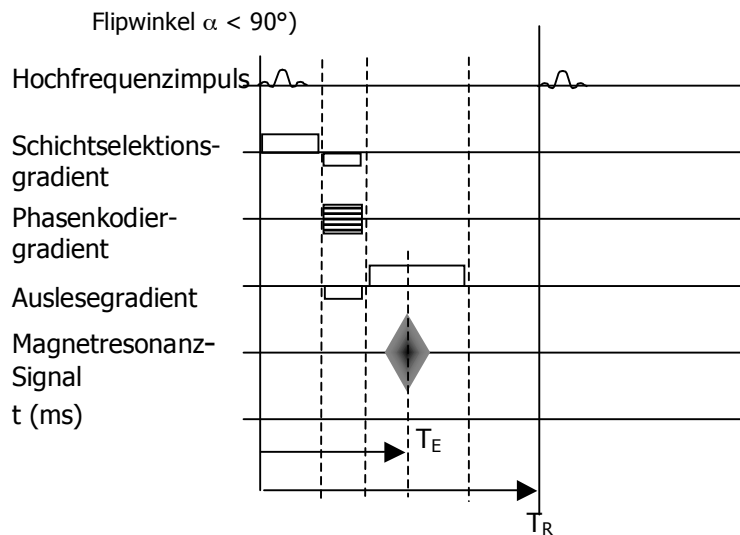


Abb. 2.19 Sequenzschritt der FLASH-Sequenz. Diese besteht aus einer Gradientenecho-Sequenz, die bei der Anregung kleine Flipwinkel einsetzt, was eine sehr schnelle Wiederholung des Sequenzschritts (Phasenkodierschritt) ohne Abwarten der T_1 -Zeit ermöglicht [25,26,30]

Dass sich die Quermagnetisierung bei wenig veränderter Längsmagnetisierung trotzdem deutlich ändert, lässt sich trigonometrisch verdeutlichen. Weiterhin zeigt sich über diese Zusammenhänge, dass Quer- und Längsmagnetisierungsänderungen immer miteinander verbunden sind, also auch T_1 - (=Längsmagnetisierungsänderungs-) -Eigenschaften ausgelesen werden können. [26,27,28,29,30]

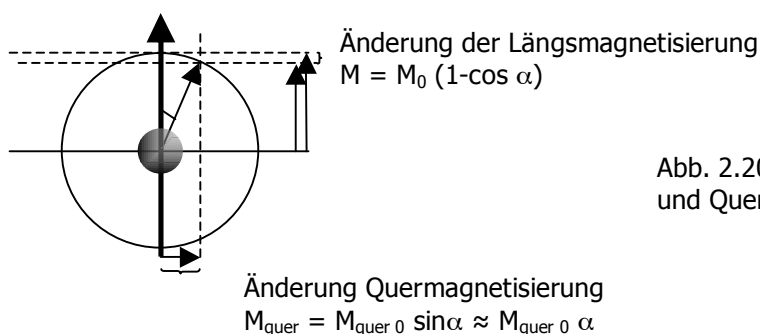


Abb. 2.20 Zusammenhang von Längs- und Quermagnetisierungs-Änderungen

Es muss angemerkt werden, dass die Änderung der Quermagnetisierung natürlich immer nur detektiert werden kann, während alle Spins in Querrichtung fokussiert sind – z.B. eben in der Gradientenechosequenz in den Momenten der Gradientenecho- Erzeugung.

Die schnelle Wiederholungsabfolge der Phasenkodierschritte wird erst möglich, weil sich durch die permanent einwirkenden kleinen Pulse und die Spin-Gitter-Relaxation ein stationärer Zustand ausbildet, in dem Längs- und Quermagnetisierung nach jeder Anregung wieder den gleichen Wert (M^*) einnehmen, mit dem dann kalkuliert werden kann. Für die Ausbildung des stationären Zustands muss die Bedingung erfüllt sein, dass α , T_R und der Betrag der Dephasierung jeweils konstant bleiben.

Realistischerweise erhält man durch die Magnetfeldinhomogenitäten, z.B. bei den Dephasierungsvorgängen, statt T_2 eine geringfügig geringere effektive T_2^* (jeweils $\ll T_1$). Insbesondere Gradientenechosequenzen (im Gegensatz zu z.B. Spinechosequenzen) sind für Magnetfeldinhomogenitäten anfällig, weil diese während der De- und Rephasierungsphasen nicht eliminiert werden.

2.2.5 Wichtung

Die Relaxationszeiten T_1 und T_2 (Definition siehe oben) sind gewebespezifische, von äußeren Parametern (wie z.B. Temperatur, Druck) beeinflussbare Konstanten, meist gilt $T_2 \ll T_1$.

Man spricht bei Bildern mit einem hohen Anteil an T_1 -relaxationszeitbedingtem Bildkontrast von T_1 -gewichteten Aufnahmen. Auf solchen haben Gewebe mit *kurzen* T_1 -Relaxationszeiten (z.B. Fett, Kontrastmittel anreichernde Strukturen) eine *hohe* Signalintensität. Umgekehrt haben Stoffe mit langen T_1 -Relaxationszeiten (z.B. Wasser, Liquor) eine niedrige Signalintensität. Auf T_2 -gewichteten Aufnahmen dagegen haben Gewebe mit *kurzen* T_2 -Relaxationszeiten eine *niedrige* Signalintensität. Stoffe mit langen T_2 -Relaxationszeiten (z.B. Wasser) zeigen dagegen eine hohe Signalintensität.

	Gewebe mit langer T_1 Längsmagnetisierung bleibt lange verringert	Gewebe mit kurzer T_1 Längsmagnetisierung ist schnell wieder hergestellt
T_1 - Wichtung	Niedere Intensität = dunkel	Hohe Intensität = hell
	Gewebe mit langer T_2 Quermagnetisierung bleibt lange erhalten	Gewebe mit kurzer T_2 Quermagnetisierung ist schnell zerfallen
T_2 - Wichtung	Hohe Intensität = hell	Niedere Intensität = dunkel

Je nachdem wie T_E in Relation zu T_2 gewählt wird, verändert sich bei Gradientenechosequenzen die Signalstärke, da T_2 die Quermagnetisierungszeiten determiniert und somit den optimalen Auslesezeitpunkt beeinflusst.

Je kürzer die T_E , desto stärker wird der Kontrast - unbeeinflusst von T_2 - nur durch die Protonendichte bestimmt, je länger T_E (z.B. bei $> T_2$), desto stärker schlägt der T_2 -determinierte Signalverlust durch.

Ebenso beeinflusst die gewebespezifische T_1 je nach Wahl von T_R die Signalstärke - also welche Erholung das System bis zum neuen Signal erfahren hat. Bei kurzen T_R überwiegt die Wichtung nach T_1 -Eigenschaft, bei langen T_R ($>> T_1$) wird der Kontrast, bzw. die Signalstärkendifferenzen nur noch von den Protonendichten beeinflusst. α geht zusätzlich in beide Zusammenhänge mit ein.

Lange $T_R \gg T_1$	Kurze $T_R \ll T_1$
Protonendichte-Wichtung	T1-Wichtung

Kurze $T_E \ll T_2$	Lange $T_E \gg T_2$
Protonendichte-Wichtung	T2-Wichtung

FLASH hat grundsätzlich ein komplexes Kontrastverhalten. Zum einen können sich bei kurzen T_E und T_R verschiedene Einflüsse überlagern. Für kurze T_R (was angestrebt wird) ist der Kontrast vorrangig von T_1 geprägt – Gewebe mit kurzer T_1 erscheinen hell – Gewebe mit langer T_2 können jedoch auch zum Signal beitragen [31,32].

(Mit speziellen Methoden ist es auch möglich, T_2^* -gewichtete Bilder zu erzeugen - z.B. über sog. Multigradientenecho-Sequenzen, in denen die De- und Rephasierung mehrfach wiederholt werden – bei den üblichen T_E erreicht man noch keine T_2^* gewichteten Bilder, weil T_E hierfür zu kurz ist. T_2^* -Wichtungen, wie z.B. MR-Mikroskopie, wurden in vorliegender Arbeit jedoch nicht verwendet).

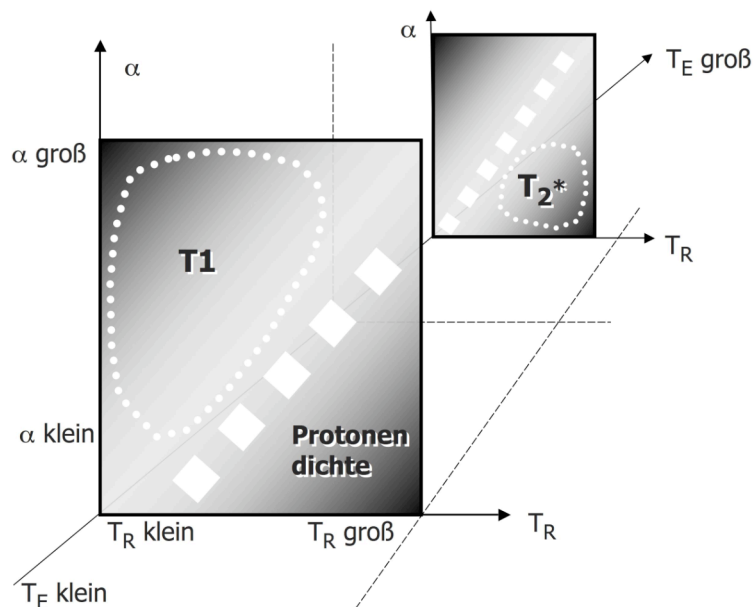


Abb. 2.21
Erzeugter Bildkontrast in FLASH
(Wichtung) in Abhängigkeit von T_R
und T_E

Jedoch findet sich in FLASH kein rein T_1 -kontrastiertes Bild, was an folgendem liegt: Bei FLASH wird ein Magnetisierungs-Gleichgewichtszustand angestrebt (s.o.). Im Bildbereich vorhandene statische Gewebe werden magnetisch gesättigt und tragen weniger zum Kontrast bei. Den höchsten Kontrast erzeugen also Spins, die den repetitiven Impulsen nicht ausgesetzt waren, sondern frisch in den abzubildenden Bereich einströmen – dies führt dazu, dass Blut in FLASH-Sequenzen weiß erscheint [33].

2.2.6 FLASH-Anwendungen: Cine-Sequenz

Es gibt verschiedene Verfahren, während des Herzzyklus FLASH-Bilder aufzunehmen, je nach Verwendungszweck. Es gibt beispielsweise segmentierte FLASH-Aufnahmen in 2D und 3D, sowie Cine-Aufnahmen und segmentierte Cine-3D oder Snapshot FLASH-Bildgebung. In der vorliegenden Arbeit wurden 2D-Cine-Sequenzen verwendet [27].

2.2.6.a Cine-Sequenz

Mit Cine-Sequenzen ist eine Darstellung der Herzmorphologie möglich, die alle Phasen des Herzzyklus in allen Schichten abdeckt. Sie lässt sich abspielen wie ein Film („cinematografique“). Eine solche Untersuchung des Herzens ist eine anspruchsvolle Herausforderung an die MR-Bildgebung, da sowohl die räumliche als auch die zeitliche Auflösung hoch sein müssen. Ermöglicht durch EKG-Triggerung (auslösend wirkt die R-Zacke) werden segmentierte Messungen mit dem Herzrhythmus abgeglichen [23,32].

Das Herz wird in verschiedenen Schichten vermessen. In jeder Schicht findet sich die gleiche Anzahl Frames. Das Durchblättern dieser Frames zeigt den kompletten Herzzyklus in dieser Schicht.

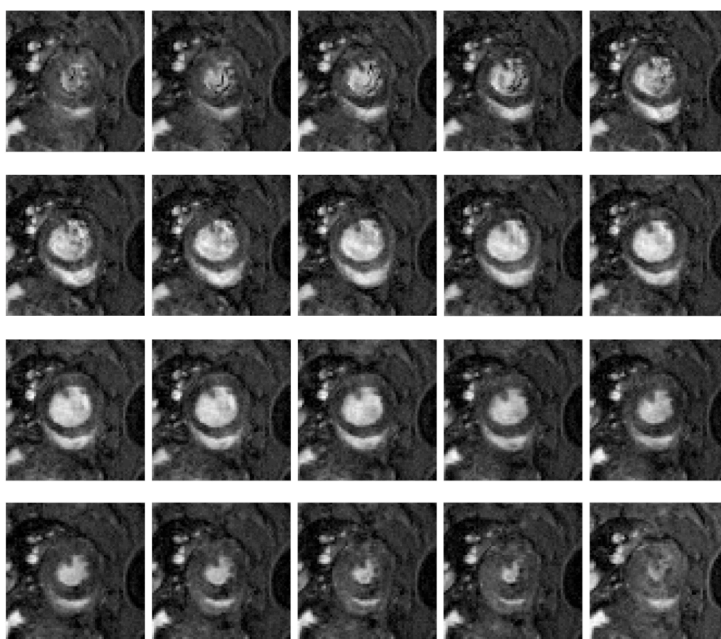


Abb. 2.22
Komplettes Durchlaufen des Herzzyklus für eine Schicht. Es wurden 20 Frames aufgenommen, um den Herzzyklus komplett abzudecken. Die RR-Zeit entspricht hier $20 \times T_R$.

Je nach Dauer des Herzzyklus werden so viele Frames pro Herzzyklus untergebracht, wie es die Zeit zwischen zwei R-Zacken ermöglicht. Während des Herzzyklus wird für alle Frames je eine k-Raum-Zeile geschrieben. Es müssen so viele Herzzyklen durchgemessen werden, wie Bildzeilen erwünscht sind, man erhält für die gemessene Schicht einen Herzzyklus wie in Abb. 2.22 gezeigt.

FLASH wird folgendermaßen genutzt, um das Herz in den verschiedenen Phasen des Herzzyklus abzubilden:

Im ersten Herzzyklus werden die ersten Zeilen des k-Raumes für jedes Frame geschrieben, im zweiten Herzzyklus jeweils die zweiten Zeilen. In jedem Herzzyklus finden so viele Anregungen bzw. Sequenzschritte (Dauer T_R) statt, wie Frames erzeugt werden.

Bei einer Auflösung von 128 x 128 Pixel ist ein vollständiges Set von Frames in einer Schicht nach 128 Herzzyklen ausgeführt.

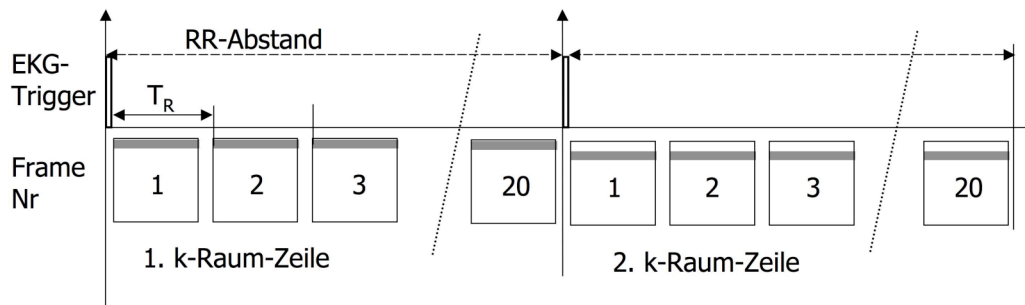


Abb. 2.23 EKG-Trigger bei Cine-Sequenz und Schaltung der Anregungspulse bei 20 geplanten Frames

Jedes weitere Set von Frames für weitere Schichten würde wieder 128 Herzzyklen Messdauer benötigen.

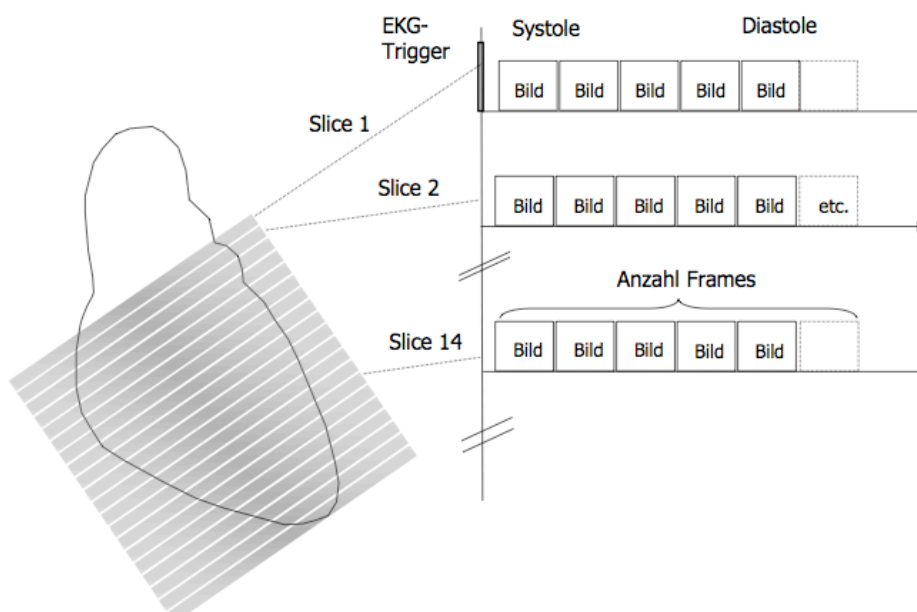


Abb. 2.24: Die Aufnahmedauer für ein komplettes Herz beträgt:
Anzahl Slices x Anzahl Zeilen in y-Richtung x RR-Zeit.

Außer der Bewegung des Herzens wirkt sich auch die Bewegung durch die Atmung auf die MR-Bilder aus. Durch die Zwerchfellbewegung wird das ganze Herz verschoben, am stärksten die Areale der Herzspitze. Der Einfluss dieser Bewegung muss eliminiert werden, damit die Herzzyklen pro Schicht überhaupt auswertbar bleiben.

Für die Elimination von atembewegungsbedingten Bildstörungen gibt es verschiedene Strategien. Bei Beatmung via Beatmungskonus (vom Prinzip ähnlich einer Beatmungsmaske) können keine künstlichen Beatmungspausen erzeugt werden, hier schaltet man sogenannte Navigatorsequenzen. Oft dauert die Atembewegung wegen narkosebedingter Schnappatmung nur sehr kurz oder ist in der Längsachse von sich aus klein genug, so dass auf die Navigatorsequenzen auch verzichtet werden kann.

Eine andere Möglichkeit ist die Beatmung mit Intubation, wie es in allen Experimenten für diese Arbeit angewandt wurde – bei intubiertem Tier lassen sich Beatmungspausen realisieren, in denen die Aufnahmen stattfinden. Vermieden werden muss hier, dass das Tier in Beatmungspausen trotzdem atmet oder nach Luft schnappt – z.B. bei nicht optimaler Narkose.

Bei der Maus wird für die Verbesserung der Bildqualität oft darauf zurückgegriffen, pro Frame mehrere Bilder (z.B. 2 oder 4) zu erheben, die dann gemittelt werden.

Dies wurde hier bei der Ratte nicht benötigt.

2.2.6.b Durchführung einer Cine-MRT-Messung

Das Herz kann in verschiedenen Schnittebenen betrachtet werden [27,33].

Hier relevant sind:

1. Ebene der vertikal langen Achse (RAO)

Sie entspricht einem 2-Kammerschnitt entlang der Ventrikellängsachse durch die Herzspitze. In dieser Ebene stellen sich linker Vorhof und linker Ventrikel dar. Der linksventrikuläre Ausflusstrakt kann u.U. mit erfasst sein.

2. Ebene der horizontal langen Achse

Sie steht rechtwinklig auf der vertikal langen Achse und wird auch 4-Kammerblick genannt, da sie beide Vorhöfe und Ventrikel erfasst.

3. Ebene der kurzen Herzachse

Sie steht senkrecht zu diesen beiden Ebenen. Der linke Ventrikel wird ringförmig getroffen, der rechte liegt ihm sichelförmig an.

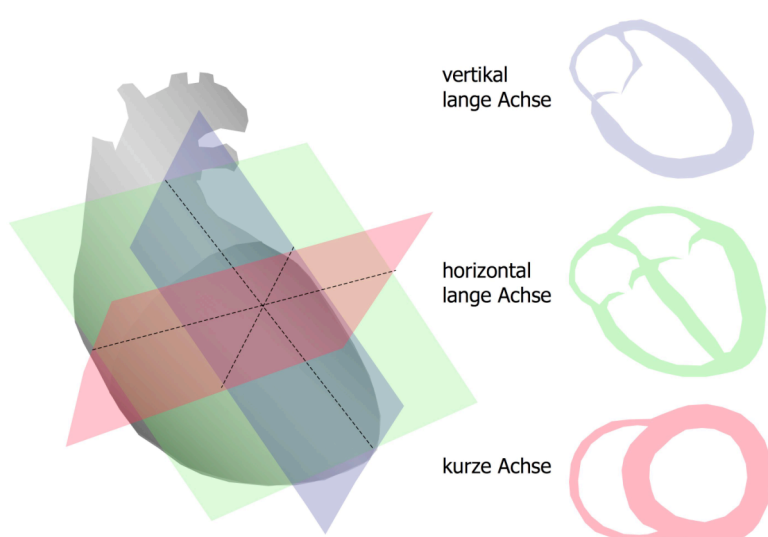


Abb. 2.25
Drei der wichtigsten
Schnittebenen - sie stehen jeweils
senkrecht zueinander

In der vorliegenden Arbeit wurden Kurzachsen-Schnitte verwendet.

Dieser „doppelt schräge“ Schnitt durch den Thorax wird wie folgt angefahren:

Zuerst wird ein zur Körperachse transversales Schnittbild (auf mittventrikulärer Höhe) aufgenommen. Auf diesem erscheinen die beiden Ventrikel angeschnitten wie eine (unterkammerte) Ellipse. Die längere Achse dieser Ellipse wird bestimmt – sie spannt die 4-Kammerebene auf, in ihr liegt die horizontal lange Achse, und zwar in der Verbindungslinie von Herzspitze und Mitralklappe. Rechtwinklig zur horizontal langen Achse liegen Ebenen der kurzen Achse [27].

Nach Bestimmung des Kurzachsenschnittes werden die Slices alle zu diesem parallel gefahren. Die Schichtdicken sind identisch, die Schichten schließen nahtlos aneinander an (d.h. ohne „interslice gaps“, welche die Genauigkeit der späteren Volumenrekonstruktion verringern würden). Bei allen Tieren wurden 18 Schichten mit Schichtdicken von 1mm verwendet.

2.2.6.c Errechnung der funktionellen Daten

Für die Rekonstruktion der ventrikulären Volumina in Cine-MRT gibt es mehrere Ansätze.

Als praktikabel hat sich die Simpson-Methode bewährt.

Hierbei werden über allen Schichten die Bildpixel aufsummiert und mit der Schichtdicke multipliziert.

Eine potenzielle Fehlerquelle sind Teilvolumeneffekte in Randbereichen. Schräg angeschnittene Herzwände können fälschlich zu breit erscheinen:

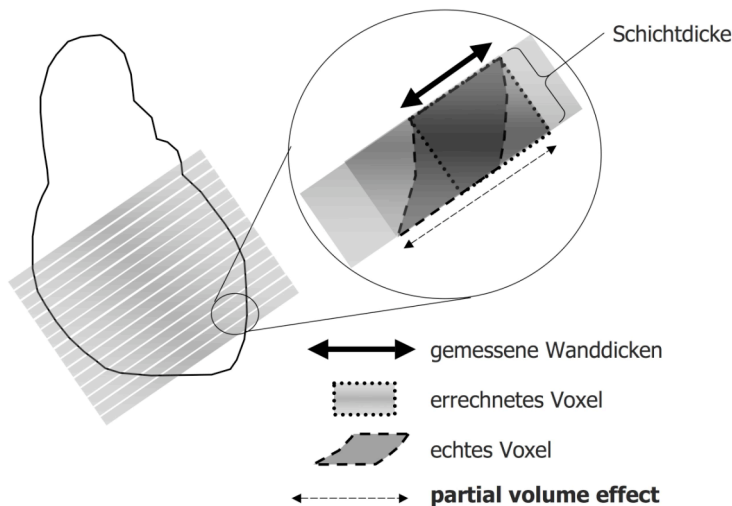


Abb. 2.26 Voxelrekonstruktion nach der Simpson-Regel; Veranschaulichung des "partial volume effect"
 Bei regulär gemessenen Wanddicken (dick schwarzer Pfeil) sind schräge Schnitte keine Fehlerquelle, da das errechnete Voxel mit dem echten Voxel mathematisch übereinstimmt. Der partial volume effect bei schräg *getroffenen* Herzwänden besteht darin, dass die Wanddicke nicht regulär, sondern aufgrund von fälschlich myokardartig kontrastierten Randpixeln zu groß erfasst wird. Der partial volume effect geht mit Verbesserung der Ortsauflösung zurück. Bei sorgfältig gewählter Herzachse lässt er sich außerdem minimieren. Das Prinzip der Simpson-Rekonstruktion noch einmal grafisch verdeutlicht:

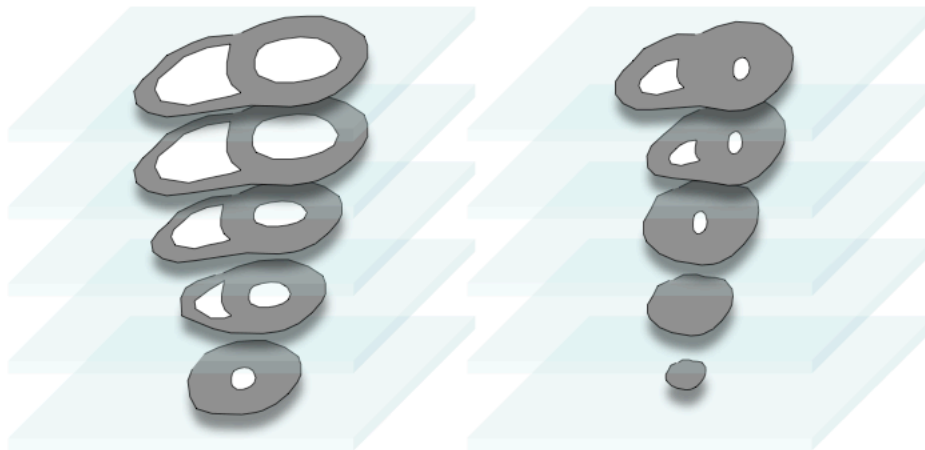


Abb. 2.27 Exemplarische Schichten, jeweils aus einer systolischen und diastolischen Herzphase

Es erfolgt eine *Auf*summation über alle Schichten:

$$1 \text{ Pixel} \times \text{Schichtdicke} = 1 \text{ Voxel}$$

$$\text{Anzahl Pixel} \times \text{Pixelgröße} \times \text{Schichtdicke} = \text{Volumen}$$

Die Cine-MRT erlaubt die Bestimmung von globalen morphologischen und funktionellen Parametern, wie Myokardmasse, Ejektionsfraktion und Ventrikelvolumetrie. Die Daten können ohne geometrische Annahmen direkt gemessen werden und mit guter Genauigkeit reproduziert werden.

2.2.7 Technische Ausrüstung

Alle hier verwendeten MR-Bilder wurden an einem MR-Tomografen BIOSPEC 70/21 (Firma Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Deutschland) aufgenommen. Das Gerät besitzt ein statisches Magnetfeld B_0 von 7,05 T, dieses wird von einer supraleitenden Spule erzeugt. Für Protonen ergibt sich hierdurch eine Larmorfrequenz von 300,3 MHz. Die Achse des Magneten ist horizontal orientiert, der nutzbare Durchmesser der Magnetbohrung beträgt 210 mm. Die Größe des nutzbaren Bereichs in Längsrichtung beträgt laut Hersteller 72 mm, laut Eigenmessung durch das Team des physikalischen Lehrstuhls 5 besteht auf etwa 90 mm ein ausreichend homogenes Magnetfeld. Zur Korrektur von Magnetfeldverzerrungen (z.B. durch Einbringen von Proben, oder hervorgerufen durch das Versuchstier), besitzt das Gerät ein System aus insgesamt 15 sog. Shimspulen [28].

Für die Messungen wurden eine Birdcage Brukerquadraturspule mit Innendurchmesser 72mm als Sendespule und eine zirkulär polarisierte Oberflächen-Empfangsspule (Fa. Rapid Biomedical, Würzburg, Deutschland) über dem Thorax des Tieres angebracht.

Das verwendete Gradientensystem besitzt eine maximale Gradientenstärke von 397 mT/m.

Bei den durchgeführten Cine-Messungen galten folgende Parameter:

Flipwinkel 30-40 °

Echozeit $T_E = 1,1$ ms

Repetitionszeit $T_R = 3,2$ ms

Auflösung 128 × 128 Pixel

FOV (Bildgröße) 50mm x 50mm

Schichtdicke 1 mm

Aufnahmezeit pro Bild ca 50 Sekunden

Aufnahmedauer msCine-Sequenz gesamtes Herz ca. 15 min

2.3. Auswertung

In beiden Tiergruppen wurden etablierte Funktionsparameter sowohl des linken als auch des rechten Ventrikels verglichen.

Das Hauptaugenmerk bei Beurteilung der Herzleistung ruht auf dem linken Ventrikel, er macht den deutlich größeren Teil der Myokardmasse aus.

Der rechte Ventrikel wurde jedoch auch betrachtet. Die Überlegung hierbei war, dass die Thorakotomie und Perikardiotomie den rechten Ventrikel mehr betroffen haben könnten als den linken, Folgen der Sham-OP hier also noch am ehesten sichtbar wären.

Die Auswertung der Cine-Daten erfolgte über die Software Interactive Data Language (IDL) (Version 5.2, Creaso GmbH, Gilching, Deutschland 1999) nach etablierter Methode, siehe auch [34,35].

Für ein Slice sei hier exemplarisch ein Herzzyklus über alle Frames (in diesem Fall 20 Frames pro Slice) gezeigt. Das Aufsuchen und Festlegen des enddiastolischen und endsystolischen Frames erfolgt optisch in mittventrikulären Schichten mittels schnellen Durchlaufens der Bilderfolge.

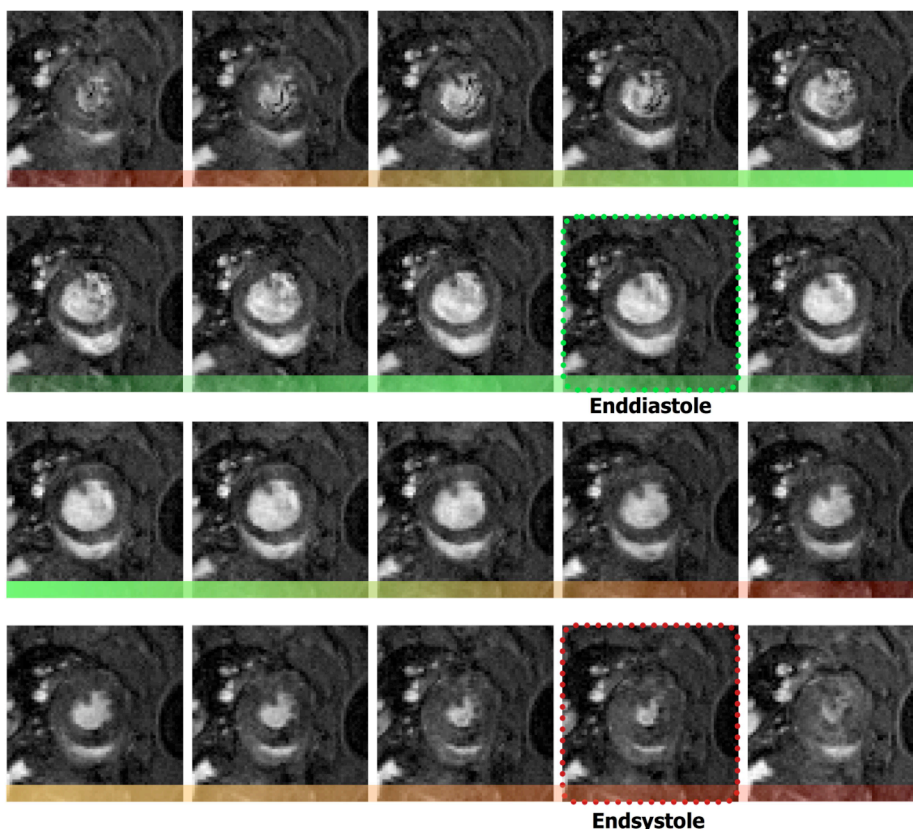


Abb.2.28 Kompletter Herzzyklus in Cine-MRT, mittventrikuläre Schicht

Danach wird in jedem Slice sowohl der linke als auch der rechte Ventrikel jeweils endsystolisch und enddiastolisch vermessen.

2.3.1. Auswertung Volumetrie

Im ersten Schritt wurde die Myokard-Außenbegrenzung umfahren, im zweiten das Innenlumen; das wurde für jede Schicht an den gleichen Zeitpunkten der Herzphase wiederholt. Die Software summiert diese Pixel über jedes Slice räumlich auf und errechnet über die gegebenen Voxelgrößen die realen Volumina (siehe auch Kap. 2.2.7, Abb.2.2.27). Über die spezifische Dichte des Myokards ($1,05\text{g/cm}^3$) konnten die Gewichte des linken und des rechten Ventrikels berechnet werden.

Bei der Auswertung war zu beachten, dass Myokard und Innenlumen jeweils komplett umfahren wurden. Dies geschah für vergleichbare Auswertegenauigkeit im jeweils gleichen Vergrößerungsfenster.

Besondere Aufmerksamkeit war an der Herzbasis und beim Auftreten von Artefakten vonnöten (siehe auch Diskussionsteil).

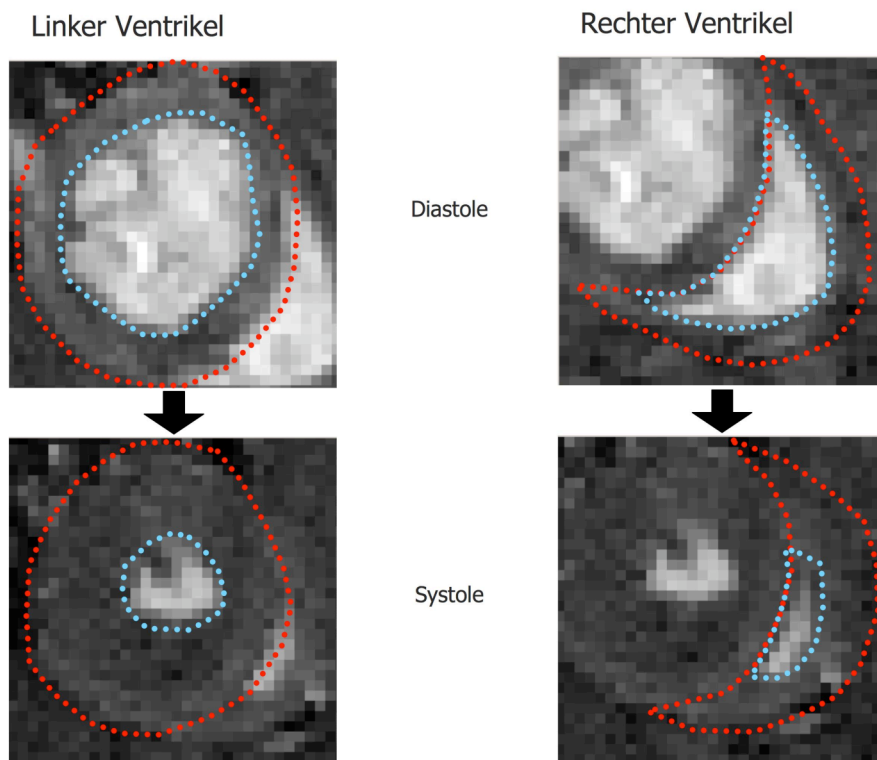


Abb. 2.29 Cine-Auswertung des linken und rechten Ventrikels, Umrandungen exemplarisch für eine Schicht veranschaulicht, jeweils endsystolisch und - diastolisch

Das Cine-MR hat sich als Goldstandard für die Quantifizierung der Herzfunktion etabliert und beschreibt diese valide [12].

Folgende Parameter aus der Cine-MR werden bei den beiden Tiergruppen verglichen – jeweils für den linken und den rechten Ventrikel:

- End-diastolisches Volumen EDV und end-systolisches Volumen ESV (in μl)
- Schlagvolumen SV (in μl)
- Ejektionsfraktion EF (in %)
- Herzzeitvolumen (cardiac output) CO (in $\mu\text{l}/\text{min}$)
- Myokardmasse (in μg)

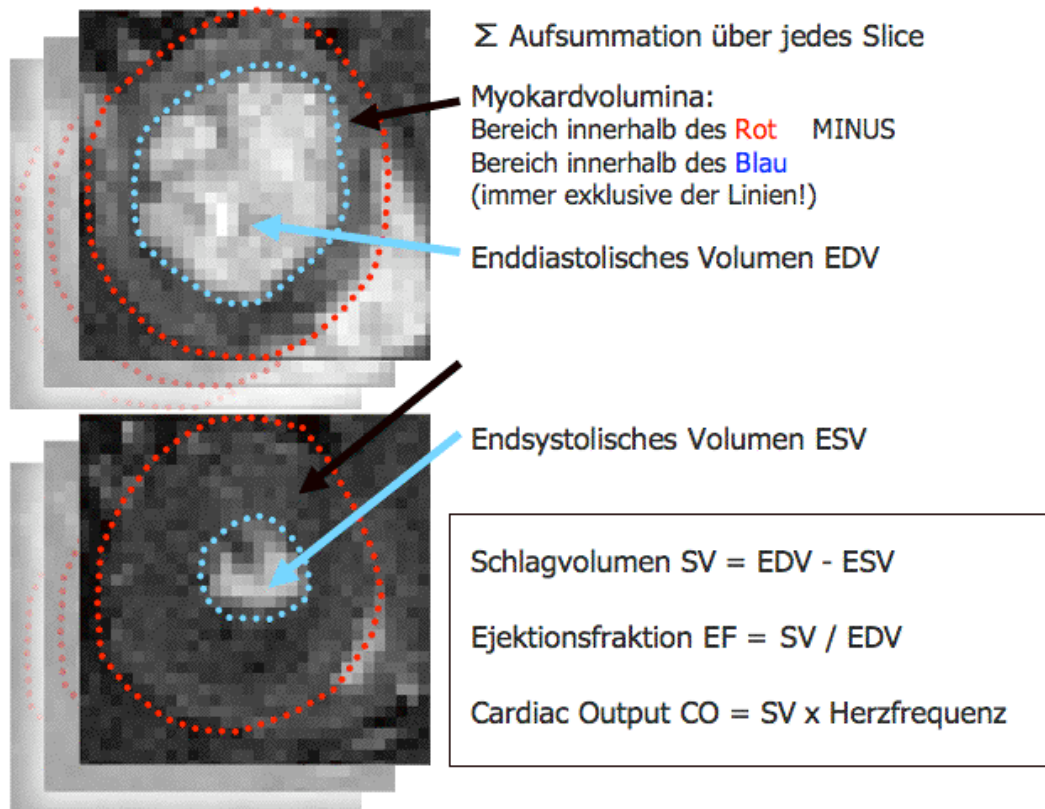


Abb. 2.30 Prinzip der Cine-Auswertung und die dort auslesbaren und berechenbaren morphologischen und funktionellen Parameter

2.3.2 Auswertung der systolischen Wanddickenzunahme

(Systolic Wall Thickening, SWT)

Die systolische Wanddickenzunahme erweist sich ebenfalls als valider Parameter zur Beschreibung und für die Quantifizierung der Herzfunktion und beschreibt direkt die Kontraktilität des Myokards [12]. Eine verminderte Dickenzunahme wird als Hypokinesie, eine ausbleibende als Akinesie der jeweiligen Region bezeichnet, eine paradoxe Bewegung, die eine ventrikuläre Asynchronie bedingen kann, als Dyskinesie.

Diese Bewegungsstörungen treten charakteristischerweise in Infarkt-, Narben- oder Aneurysmenregionen oder am insuffizienten Herzen auf. Wie die Ejektionsfraktion und das endsystolische Volumen folgen auch sie nach Infarktgeschehen einem charakteristischen Verlauf [12;37]. Die Auswertung erfolgte optisch, für beide Ventrikel jeweils in Endsystole und Enddiastole. Es wurden 3 mittventrikuläre apexferne Schichten ausgewählt, damit die

Wand möglichst rechtwinklig vom Schichtverlauf getroffen war und keine fälschliche Verdickung durch schräg getroffenes Myokard in Kauf genommen werden musste - folgende Abbildung soll das verdeutlichen:

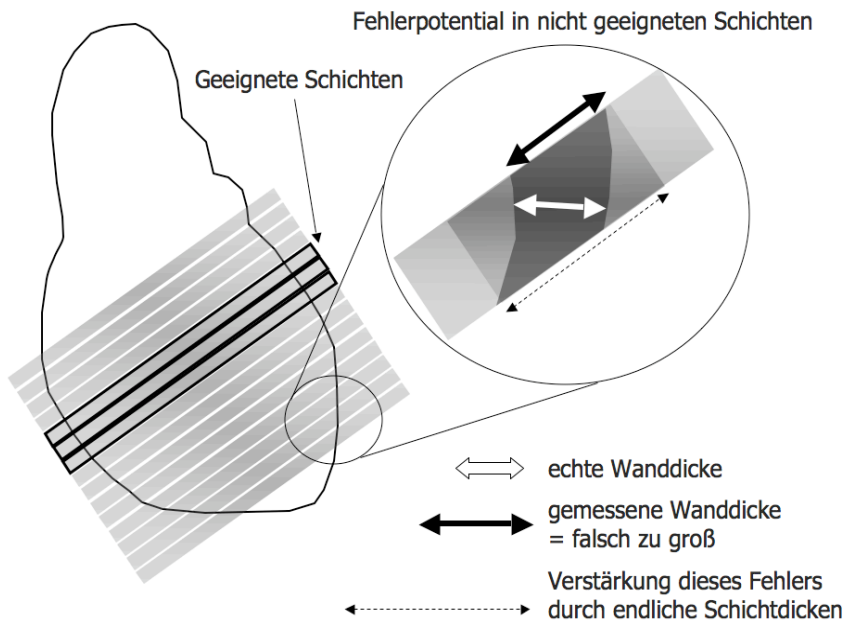


Abb. 2.31 Veranschaulichung des Fehlerpotenzials in der SWT-Auswertung bei Wahl apexnaher Schichten

Die Auswertung erfolgte für den linken Ventrikel pro Schicht in Endsystole und Enddiastole in jeweils 4 Segmenten (septal, anterior, lateral, posterior); für den rechten Ventrikel in einem Segment (mittig). Radial wurden die Wanddicken optisch vermessen (mittels Apple iWorks, Keynote, 2004). Die Berechnung erfolgt:

$$SWT = (\text{Systolische} - \text{Diastolische Wanddicke}) / \text{Diastolische Wanddicke}$$

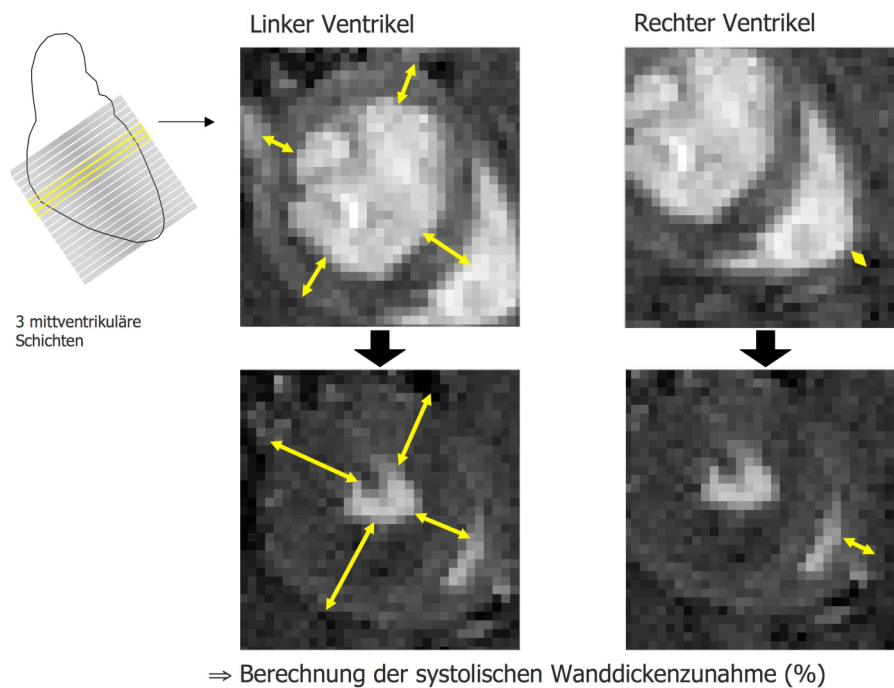


Abb. 2.32 Optische Auswertung der systolischen Wanddickenzunahme (SWT)

Die Ergebnisse der 4 Segmente wurden über die Schicht gemittelt:

$$\overline{Dicke_{Schicht1}} = \frac{Dicke_{septal} + Dicke_{anterior} + Dicke_{lateral} + Dicke_{posterior}}{4}$$

Dem (schon allein aufgrund der Auflösung anzunehmenden) Fehler beim Ausmessen (siehe Diskussion) wurde über Mittelwertbildung der Ergebnisse jeder der 3 Schichten Rechnung getragen.

2.3.3. Auswertungsstatistik

Es wurden jeweils in der Sham-Gruppe und der Gesund-Gruppe über die Messwerte aller Tiere das arithmetische Mittel gebildet:

$$\mu = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i \text{ mit } n = 6$$

Der absolute Fehler wurde jeweils über die Standardabweichung (nach der Formel für kleine n) berechnet:

$$\sigma = \frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n \Delta x_i \text{ wobei } \Delta x_i = x_i - \mu \text{ (die Abweichung für jede Messung vom Mittelwert).}$$

Bei zusammengesetzten Werten $W(x;y;z)$ (z.B. SV, EF, CO, SWT sowie Indices, z.B. SV/Bodymass) wurde das Gauß'sche Fehlerfortpflanzungsgesetz verwendet.

Der Fehler ΔW von $W(x;y;z)$ errechnet sich wie folgt:

$$\Delta W = \sqrt{\left(\frac{\partial W}{\partial x} \cdot \Delta x\right)^2 + \left(\frac{\partial W}{\partial y} \cdot \Delta y\right)^2 + \left(\frac{\partial W}{\partial z} \cdot \Delta z\right)^2} \text{ wobei } \frac{\partial W}{\partial x}$$

die partielle Ableitung von W nach x darstellt, Δx den Fehler von x .

Wenn die Standardabweichung der einzelnen zusammengesetzten Werte untereinander einen größeren Fehler ergab, als das Fehlerfortpflanzungsgesetz ergeben hatte, wurde sicherheitshalber der größere Fehler angenommen.

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe eines Zweistichproben-t-Tests auf Signifikanz geprüft.

Es wurde ein zweiseitiger T-Test für ungepaarte Stichproben verwendet und Homoskedastizität angenommen.

Das Signifikanzniveau wurde auf $p = 0,05$ ($\alpha = 5\%$) festgelegt.

Bei $p > 0,05$ wird die Nullhypothese beibehalten, welche besagt, dass zwischen den beiden gemessenen Gruppen kein Unterschied besteht.

(Das Risiko, die Nullhypothese fälschlicherweise abzulehnen, liegt bei 5%).

Da der t-Test bei zusammengesetzten Werten nicht vom durch das Fortpflanzungsgesetz errechneten Fehler ausgeht, wurde der t-Test bei solchen Parametern nur dann verwendet, wenn die Standardabweichung der zusammengesetzten Werte (mit der die t-Tests operieren) und der nach Gauß errechnete, fortgepflanzte Fehler nicht deutlich voneinander abwichen.

3. Ergebnisse

3.1 Übersichtstabellen

3.1.1 Abkürzungen:

Body Mass BM (g)	Körpergewicht
Puls	in 1/min
EDV (μ l)	enddiastolisches Volumen
ESV (μ l)	endsystolisches Volumen
SV (μ l)	Schlagvolumen
LV bzw. RV Mass (μ g)	links-/rechtsventrikuläre Myokardmasse
CO (ml/min)	Herzminutenvolumen
EF (%)	Ejektionsfraktion
SV/BM (μ l/g)	Schlagvolumen pro g Körpergewicht
EDV/BM (μ l/g)	enddiastolisches Volumen pro g Körpergewicht
ESV/BM (μ l/g)	endsystolisches Volumen pro g Körpergewicht
CO/BM (ml/min/g)	Herzminutenvolumen pro g Körpergewicht
LV bzw. RV Mass/BM (μ g/g)	links-/rechtsventrikuläre Myokardmasse pro g Körpergewicht
LV bzw. RV Mass/EDV (μ g/ μ l)	links-/rechtsventrikuläre Myokardmasse pro μ l enddiastolisches Volumen
SWT (%)	systolische Wanddickenzunahme

3.1.2 Tieraufstellung und technische Parameter

Tier	Gewicht	FOV (mm) =Bildgröße	Auflösung	SD (mm) =Schichtdicke	Frames	Slices	Narkose
SHAM 1	280	50	128x128	1	18	18	Isofluran
SHAM 2	310	50	128x128	1	16	18	Isofluran
SHAM 3	330	50	128x128	1	25 / 28	18	Isofluran
SHAM 4	335	50	128x128	1	27	18	Isofluran
SHAM 5	334	50	128x128	1	37	18	Isofluran
SHAM 6	313	50	128x128	1	37	18	Isofluran
Native 1	356	50	128x128	1	20	18	Isofluran
Native 2	348	50	128x128	1	20	18	Isofluran
Native 3	384	50	128x128	1	20	18	Isofluran
Native 4	318	50	128x128	1	20	18	Isofluran
Native 5	336	50	128x128	1	20	18	Isofluran
Native 6	410	50	128x128	1	20	18	Isofluran

3.2 Ergebnistabellen

3.2.1 Linker Ventrikel

	Sham	Gesund
Body Mass BM (g)	317,0 +/- 21,1	358,7 +/- 33,4
Puls (1/min)	305,7 +/- 29,6	355,2 +/- 29,1
EDV (µl)	480,9 +/- 46,7	551,1 +/- 65,3
ESV (µl)	116,3 +/- 42,9	143,8 +/- 31,7
SV (µl)	364,7 +/- 63,4	407,3 +/- 72,59
LV Mass (µg)	782,2 +/- 57,2	805,9 +/- 84,8
CO (ml/min)	111,7 +/- 22,2	143,9 +/- 28,7
EF (%)	76 +/- 9	74 +/- 7
SV/BM (µl/g)	1,16 +/- 0,21	1,15 +/- 0,23
EDV/BM (µl/g)	1,52 +/- 0,18	1,55 +/- 0,23
ESV/BM (µl/g)	0,36 +/- 0,14	0,40 +/- 0,90
CO/BM (ml/min/g)	0,36 +/- 0,07	0,40 +/- 0,09
LV Mass/BM (µg/g)	2,47 +/- 0,24	2,25 +/- 0,32
LV Mass/EDV	1,63 +/- 0,41	1,47 +/- 0,44
SWT (%)	86,4 +/- 11,6	77,3 +/- 10,1

3.2.2 Rechter Ventrikel

	Sham	Gesund
Body Mass BM (g)	317,0 +/- 21,1	358,7 +/- 33,4
Puls (1/min)	305,7 +/- 29,6	355,2 +/- 29,1
EDV (µl)	386,5 +/- 98,7	461,65 +/- 81,2
ESV (µl)	87,9 +/- 36,6	115,8 +/- 44,5
SV (µl)	298,6 +/- 105,3	356,8 +/- 92,6
RV Mass (µg)	260,2 +/- 33,2	310,4 +/- 48,5
CO (ml/min)	91,6 +/- 33,4	122 +/- 34,4
EF (%)	77 +/- 11	75 +/- 11
SV/BM (µl/g)	0,94 +/- 0,34	0,97 +/- 0,27
EDV/BM (µl/g)	1,21 +/- 0,32	1,29 +/- 0,26
ESV/BM (µl/g)	0,27 +/- 0,12	0,32 +/- 0,13
CO/BM (ml/min/g)	0,29 +/- 0,11	0,34 +/- 0,10
RV Mass/BM (µg/g)	0,82 +/- 0,12	0,86 +/- 0,16
RV Mass/EDV	0,70 +/- 0,42	0,68 +/- 0,36
SWT (%)	56,7 +/- 18,8	59,3 +/- 17,4

3.3 Signifikanztest

Nullhypothese:

Es gibt KEINEN Unterschied zwischen "Sham" und "Gesund"

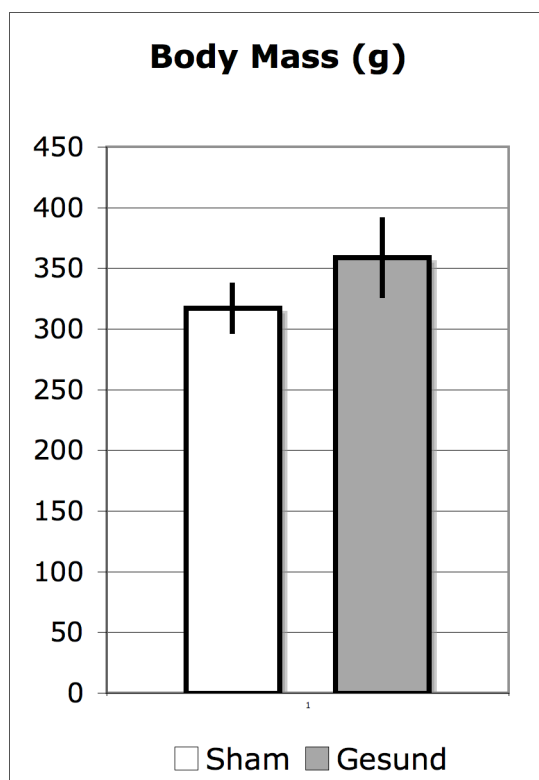
	P-Wert	Nullhypothese ist:
Body Mass BM (g)	0,03	FALSCH

Linker Ventrikel

EF (%)	0,57	WAHR
SV/BM (µl/g)	0,92	WAHR
EDV/BM (µl/g)	0,82	WAHR
ESV/BM (µl/g)	0,56	WAHR
CO/BM (ml/min/g)	0,26	WAHR
LV Mass/BM (µg/g)	0,07	WAHR
LV Mass/EDV (g/l)	0,06	WAHR
SWT (%)	0,13	WAHR

Rechter Ventrikel

EF (%)	0,67	WAHR
SV/BM (µl/g)	0,83	WAHR
EDV/BM (µl/g)	0,60	WAHR
ESV/MB (µl/g)	0,47	WAHR
CO/BM (ml/min/g)	0,27	WAHR
RV Mass/BM (µg/g)	0,31	WAHR
RV Mass/EDV (g/l)	0,76	WAHR
SWT (%)	0,77	WAHR

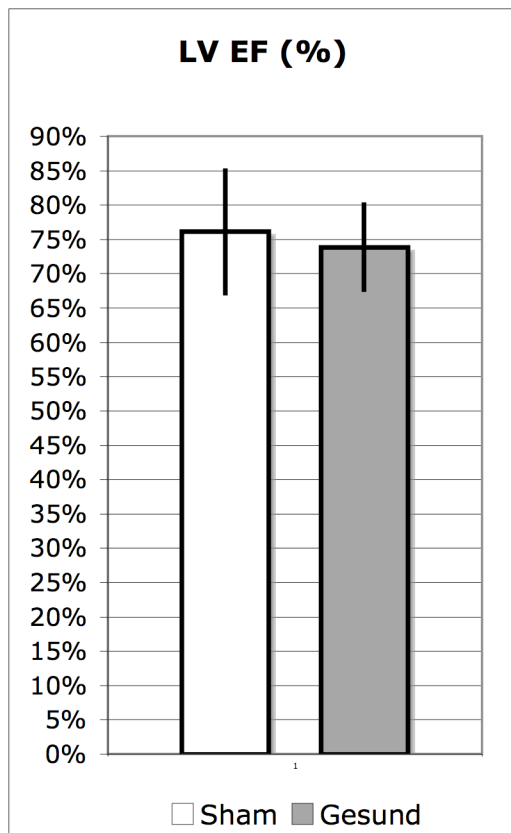


Aufgrund der signifikant unterschiedlichen Durchschnittsgewichte werden die volumetrischen Absolutwerte auch auf das Körpergewicht indiziert betrachtet.

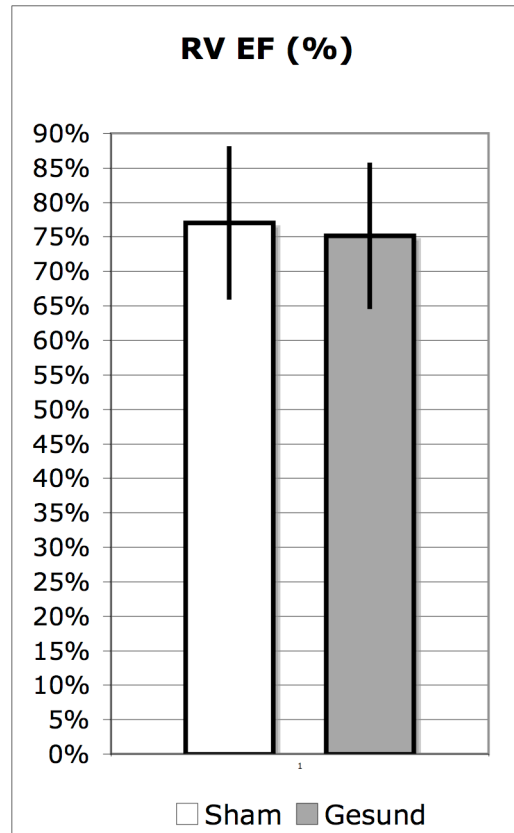
3.4 Ergebnisse - Grafische Darstellung

3.4.1 Ejektionsfraktion

Linker Ventrikel

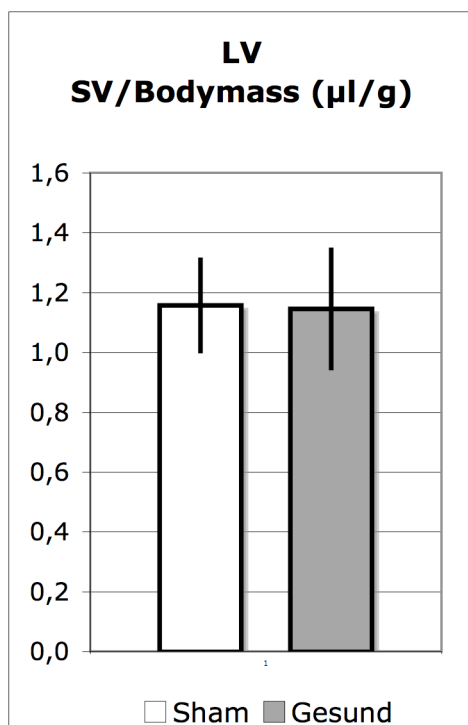


Rechter Ventrikel

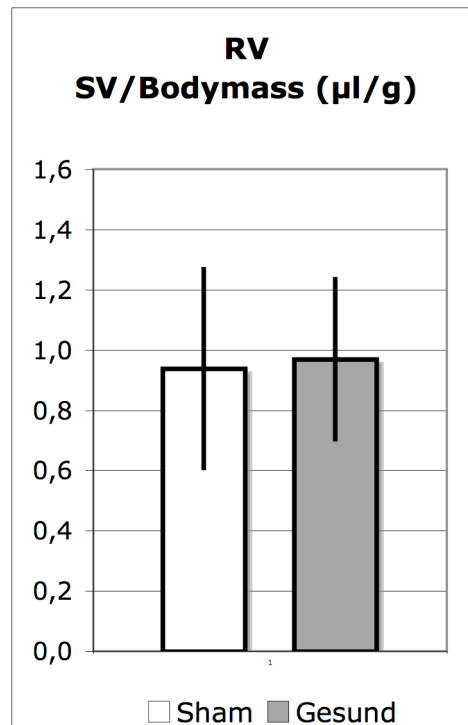


3.4.2 Schlagvolumen, bezogen aufs Körpergewicht

Linker Ventrikel

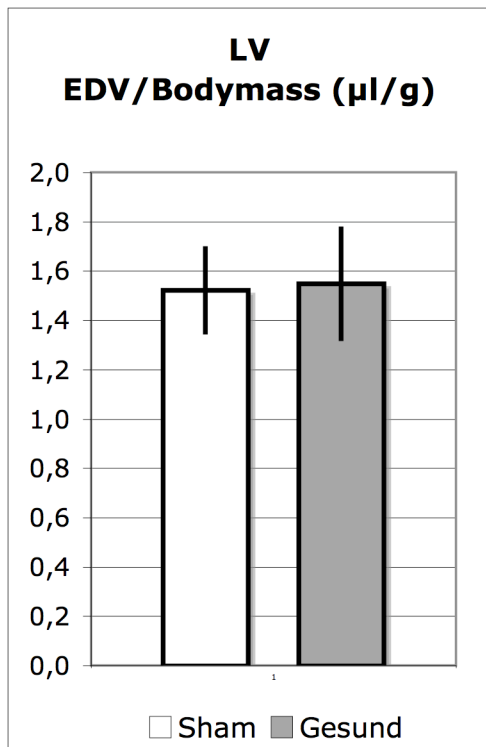


Rechter Ventrikel

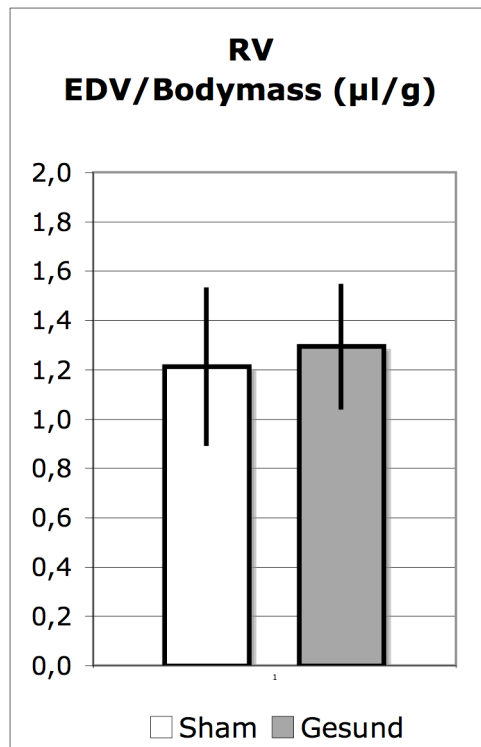


3.4.3 Enddiastolisches Volumen, bezogen aufs Körpergewicht

Linker Ventrikel

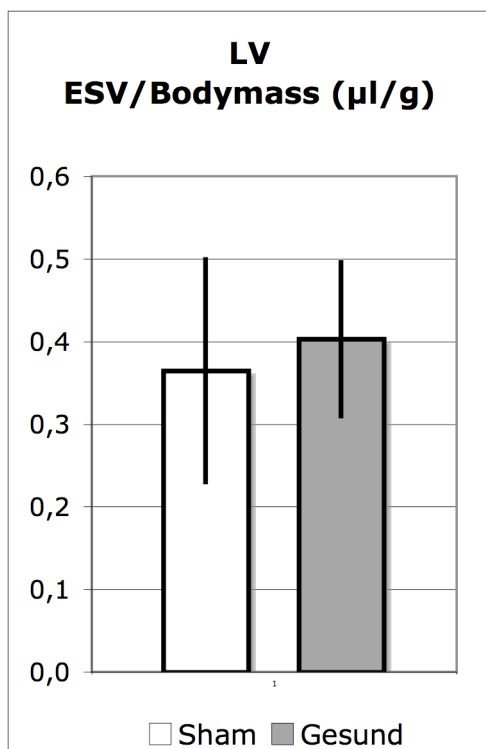


Rechter Ventrikel

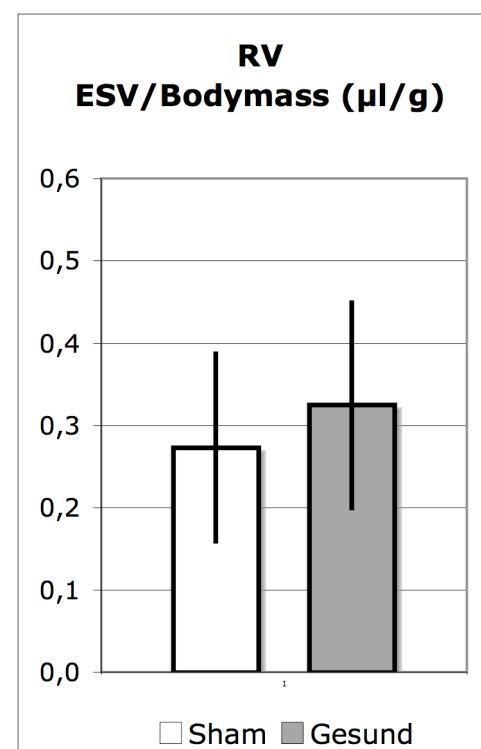


3.4.4 Endsystolisches Volumen, bezogen aufs Körpergewicht

Linker Ventrikel

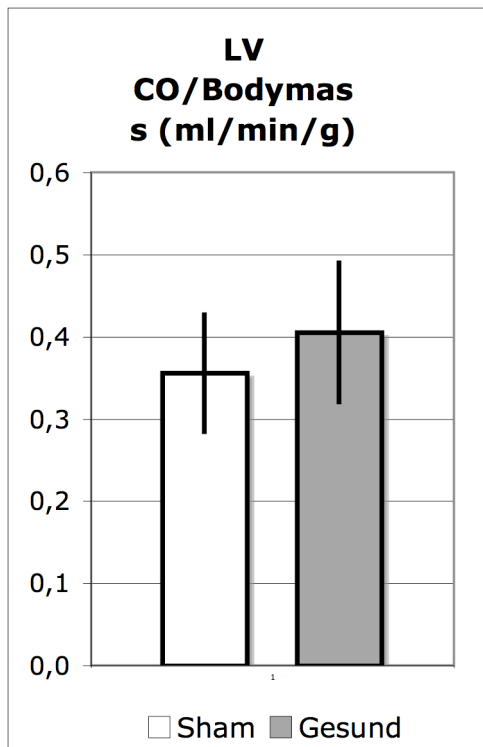


Rechter Ventrikel

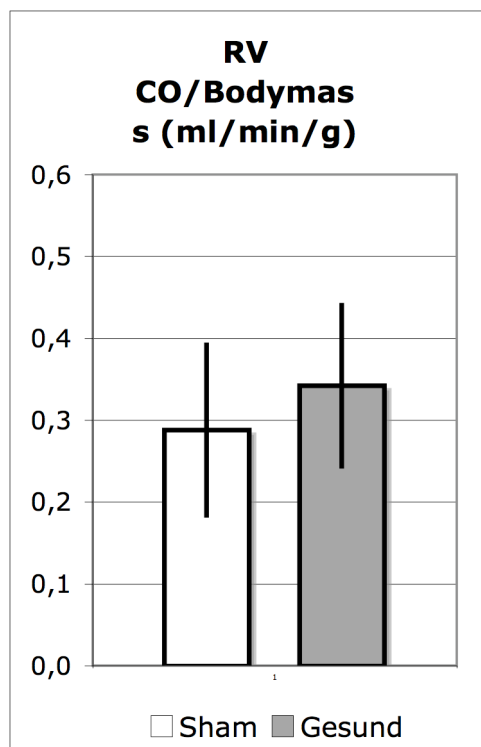


3.4.5 Herzminutenvolumen, bezogen aufs Körpergewicht

Linker Ventrikel

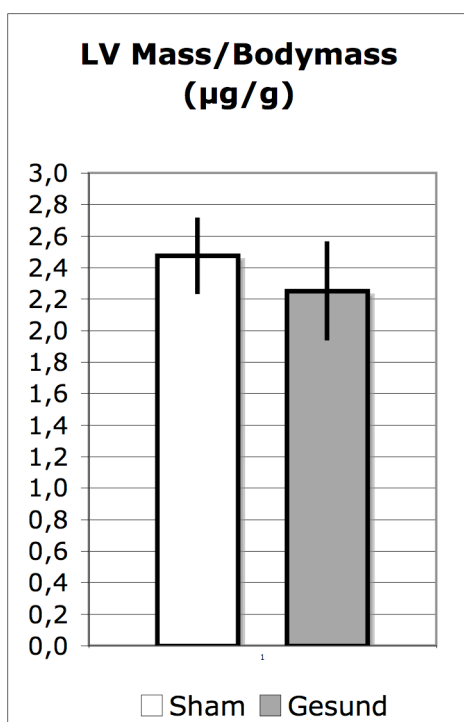


Rechter Ventrikel

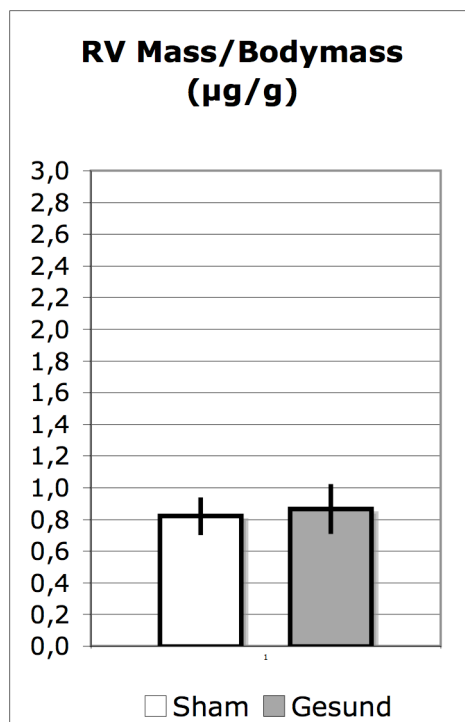


3.4.6 Myokardgewicht, bezogen aufs Körpergewicht

Linker Ventrikel

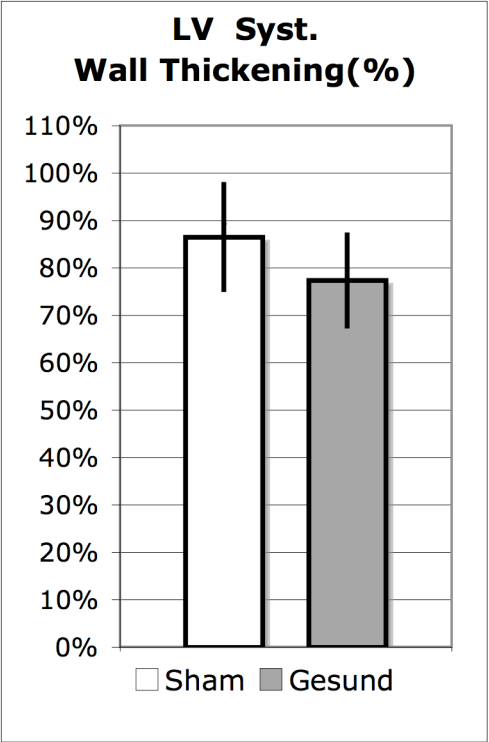


Rechter Ventrikel

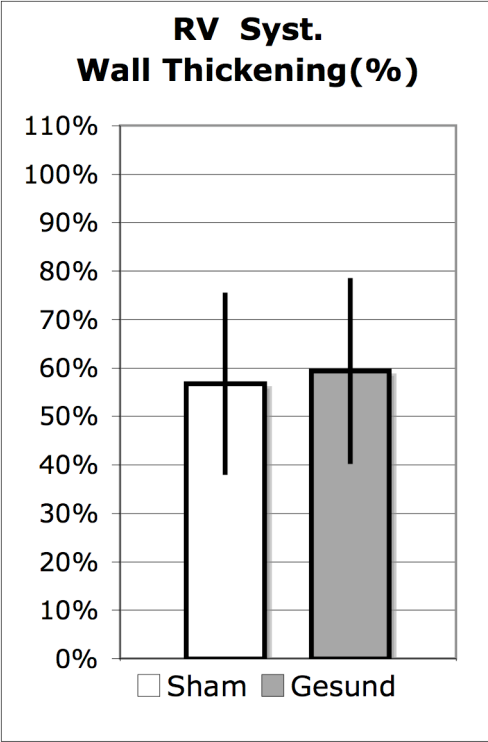


3.4.7. Systolische Wanddickenzunahme

Linker Ventrikel



Rechter Ventrikel



4. Gewichtsnormierte Ergebnisse - Ergänzungsbeurteilung

Vergleich der Gruppe der gesunden Tiere mit den gleichen Shamtieren

zu einem früheren Zeitpunkt: In der 2. Woche postoperativ

4.1 Tieraufstellung und technische Parameter

Tier	Gewicht	FOV (mm)	Auflösung	SD (mm)	Frames	Slices	Narkose
SHAM 1	264	50	128x128	1	20	16	Propofol
SHAM 2	280	50	128x128	1	20	16	Propofol
SHAM 3	260	40	128x128	1	20	18	Propofol
SHAM 4	280	40	128x128	1	20	18	Propofol
SHAM 5	267	65	256x256	1	20	18	Isofluran
SHAM 6	254	65	256x256	1	20	18	Isofluran

Es wurden ebenfalls wieder beide Ventrikel betrachtet.

4.2 Ergebnistabellen

4.2.1 Linker Ventrikel

	Sham früh		Sham		Gesund	
Body Mass BM (g)	267,5	+/- 10,6	317,0	+/- 21,1	358,7	+/- 33,4
Puls (1/min)	279,4	+/- 27,3	305,7	+/- 29,6	355,2	+/- 29,1
EDV (µl)	358,2	+/- 96,6	480,9	+/- 46,7	551,1	+/- 65,3
ESV (µl)	79,8	+/- 22,7	116,3	+/- 42,9	143,8	+/- 31,7
SV (µl)	278,4	+/- 99,2	364,7	+/- 63,4	407,3	+/- 72,59
LV Mass (µg)	587	+/- 60,7	782,2	+/- 57,2	805,9	+/- 84,8
CO (ml/min)	78,6	+/- 28,7	111,7	+/- 22,2	143,9	+/- 28,7
EF (%)	78	+/- 9	76	+/- 9	74	+/- 7
SV/BM (µl/g)	1,04	+/- 0,37	1,16	+/- 0,21	1,15	+/- 0,23
EDV/BM (µl/g)	1,31	+/- 0,36	1,52	+/- 0,18	1,55	+/- 0,23
ESV/BM (µl/g)	0,31	+/- 0,09	0,36	+/- 0,14	0,40	+/- 0,90
CO/BM (ml/min/g)	0,29	+/- 0,11	0,36	+/- 0,07	0,40	+/- 0,09
LV Mass/BM (µg/g)	2,19	+/- 0,30	2,47	+/- 0,24	2,25	+/- 0,32
LV Mass/EDV (g/l)	1,75	+/- 0,49	1,63	+/- 0,41	1,47	+/- 0,44
SWT (%)	72,6	+/- 17,6	86,4	+/- 11,6	77,3	+/- 10,1

4.2.2 Rechter Ventrikel

	Sham früh		Sham		Gesund	
Body Mass BM (g)	267,5	+/- 10,62	317,0	+/- 21,1	358,7	+/- 33,4
Puls (1/min)	279,4	+/- 27,3	305,7	+/- 29,6	355,2	+/- 29,1
EDV (µl)	323,1	+/- 82	386,5	+/- 98,7	461,65	+/- 81,2
ESV (µl)	85,9	+/- 17,9	87,9	+/- 36,6	115,8	+/- 44,5
SV (µl)	237,1	+/- 68,3	298,6	+/- 105,3	356,8	+/- 92,6
RV Mass (µg)	220,6	+/- 36,6	260,2	+/- 33,2	310,4	+/- 48,5
CO (ml/min)	66,6	+/- 21,8	91,6	+/- 33,4	122	+/- 34,4
EF (%)	73	+/- 9	77	+/- 11	75	+/- 11
SV/BM (µl/g)	0,89	+/- 0,24	0,94	+/- 0,34	0,97	+/- 0,27
EDV/BM (µl/g)	1,21	+/- 0,31	1,21	+/- 0,32	1,29	+/- 0,26
ESV/BM (µl/g)	0,32	+/- 0,14	0,27	+/- 0,12	0,32	+/- 0,13
CO/BM (ml/min/g)	0,25	+/- 0,06	0,29	+/- 0,11	0,34	+/- 0,10
RV Mass/BM (µg/g)	0,83	+/- 0,13	0,82	+/- 0,12	0,86	+/- 0,16
RV Mass/EDV (g/l)	0,70	+/- 0,20	0,70	+/- 0,42	0,68	+/- 0,36
SWT (%)	66,3	+/- 23,8	56,7	+/- 18,8	59,3	+/- 17,4

4.3 Signifikanztest

Nullhypothese:

Es gibt KEINEN Unterschied zwischen "Sham früh" und "Gesund"

	P-Wert	Nullhypothese ist:
Body Mass BM (g)	0,03	FALSCH
Puls (1/min)	0,00	FALSCH

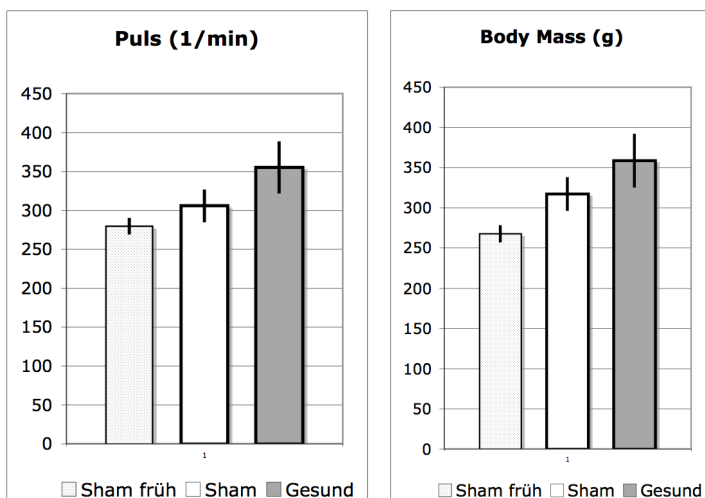
Linker Ventrikel

EF (%)	0,20	WAHR
SV/BM (μ l/g)	0,46	WAHR
EDV/BM (μ l/g)	0,21	WAHR
ESV/BM (μ l/g)	0,56	WAHR
CO/BM (ml/min/g)	0,04	FALSCH
LV Mass/BM (μ g/g)	0,62	WAHR
LV Mass/EDV (g/l)	0,24	WAHR
SWT (%)	0,56	WAHR

Rechter Ventrikel

EF (%)	0,53	WAHR
SV/BM (μ l/g)	0,53	WAHR
EDV/BM (μ l/g)	0,59	WAHR
ESV/MB (μ l/g)	0,96	WAHR
CO/BM (ml/min/g)	0,04	FALSCH
RV Mass/BM (μ g/g)	0,59	WAHR
RV Mass/EDV (g/l)	0,77	WAHR
SWT (%)	0,59	WAHR

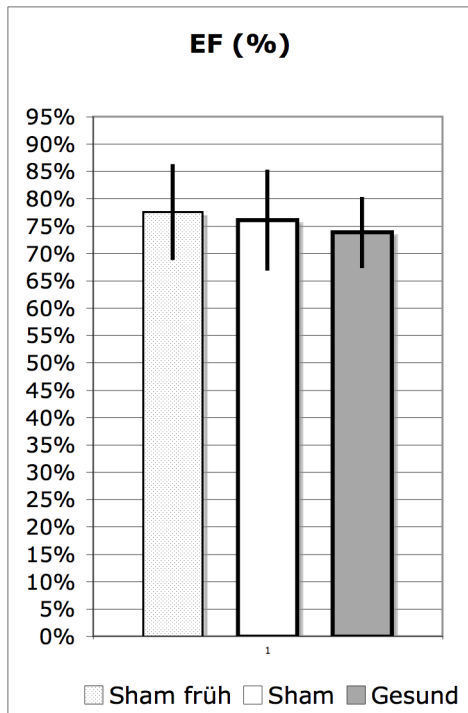
Sowohl Puls als auch Gewicht sind in den Gruppen signifikant verschieden.



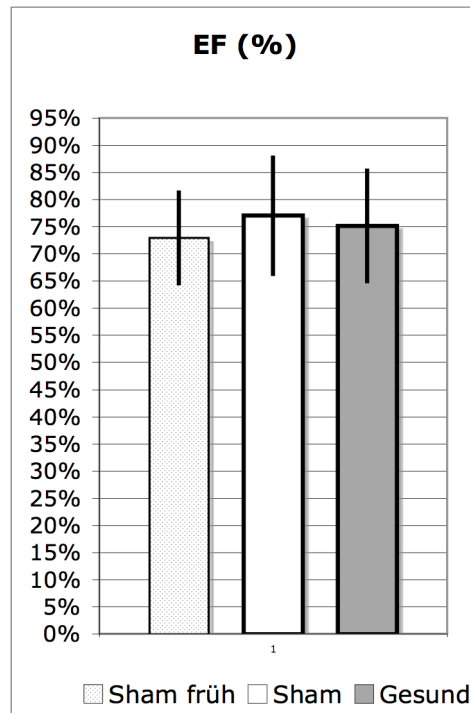
4.4. Ergebnisse - Grafische Darstellung

4.4.1 Ejektionsfraktion

Linker Ventrikel

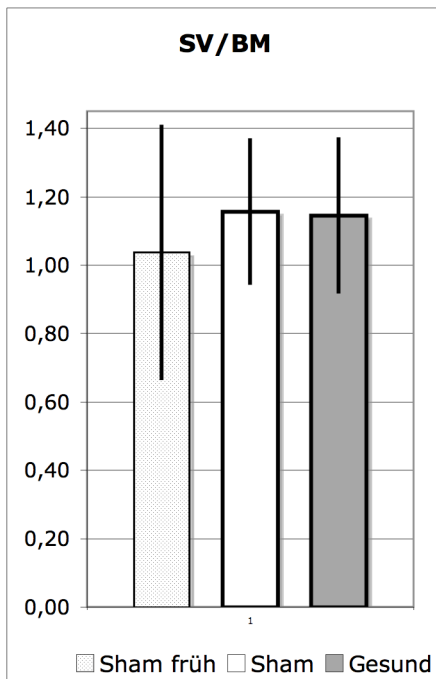


Rechter Ventrikel

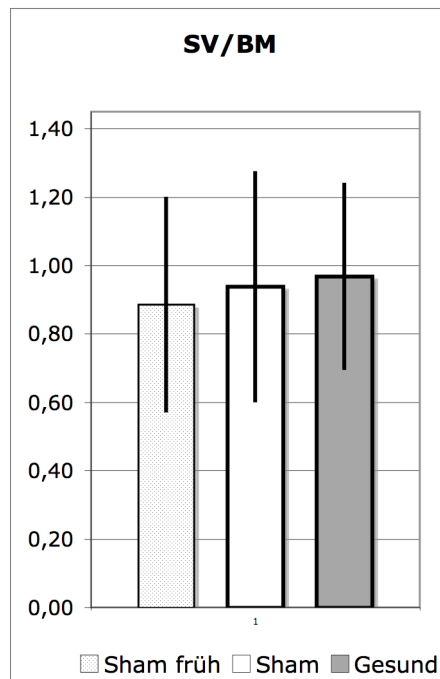


4.4.2 Schlagvolumina, bezogen aufs Körpergewicht ($\mu\text{l/g}$)

Linker Ventrikel

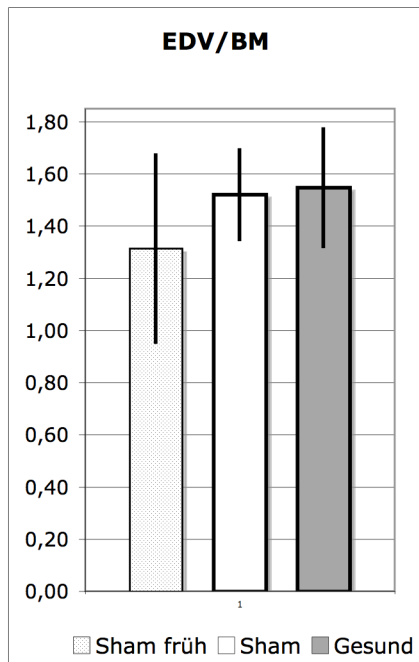


Rechter Ventrikel

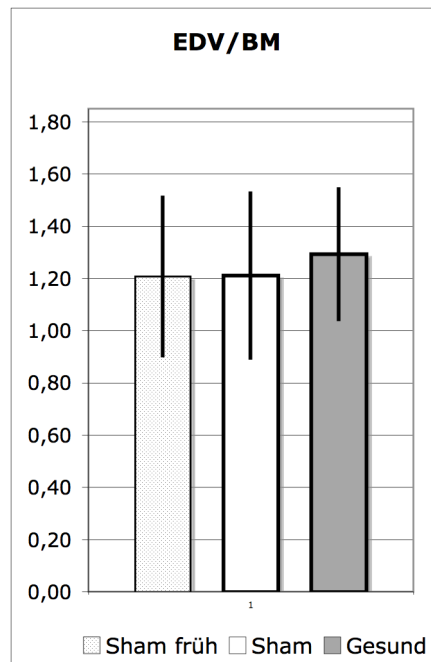


4.4.3 Enddiastolische Volumina, bezogen aufs Körpergewicht ($\mu\text{l/g}$)

Linker Ventrikel

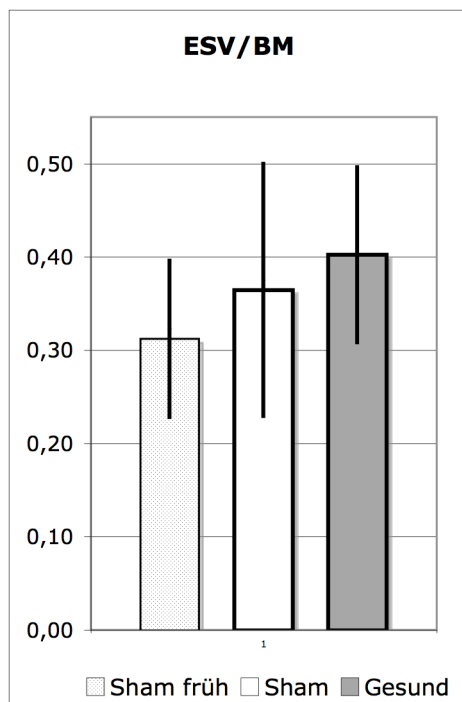


Rechter Ventrikel

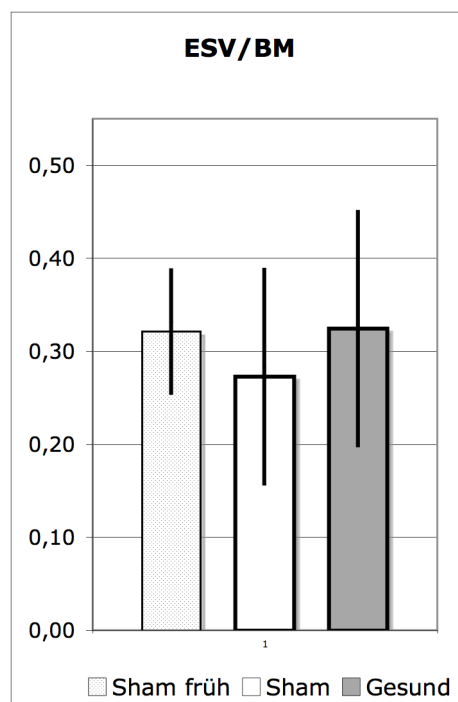


4.4.4 Endsystolische Volumina, bezogen aufs Körpergewicht ($\mu\text{l/g}$)

Linker Ventrikel

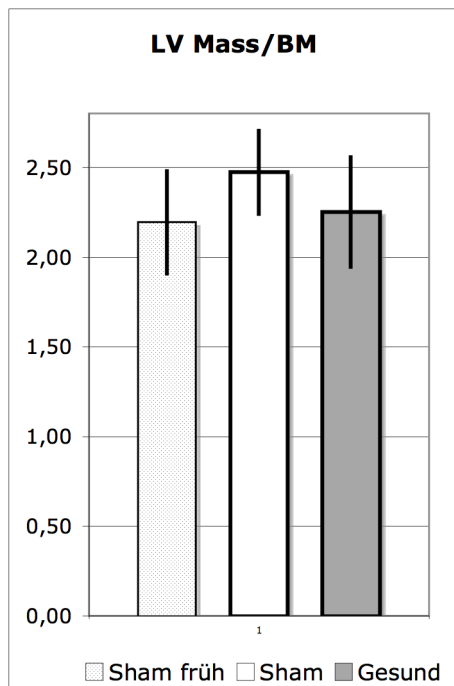


Rechter Ventrikel

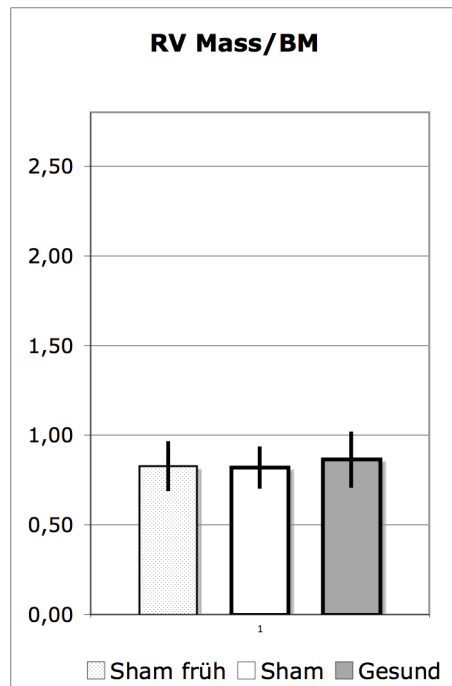


4.4.5 Ventrikuläres Gewicht, bezogen aufs Körpergewicht ($\mu\text{g/g}$)

Linker Ventrikel

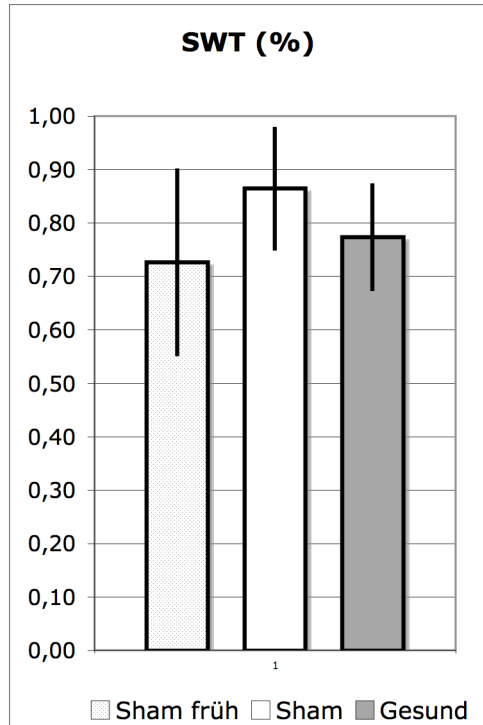


Rechter Ventrikel

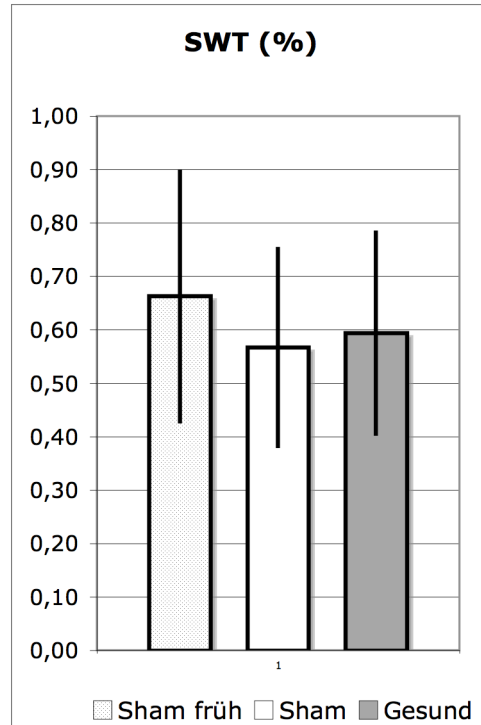


4.4.6 Systolische Wanddickenzunahme

Linker Ventrikel



Rechter Ventrikel



5. Diskussion

5.1. Kernaussagen

In der vorliegenden Arbeit wurde verglichen, ob bei shamoperierten Tieren im Vergleich zu gesunden Tieren signifikante Abweichungen in durch Cine-MR erfassbaren Parametern zur Charakterisierung von Herzmorphologie und Herzkinetik zu erfassen sind.

Wir haben eine Gesundgruppe mit einer Sham-OP-Gruppe (diese zu zwei verschiedenen Zeitpunkten postoperativ) verglichen.

Dies geschah aufgrund der Überlegung, dass bei der Betrachtung einer Gruppe zu einem frühen postoperativen Zeitpunkt etwaige Veränderungen allein durch das Operationsgeschehen (wie z.B. Thorakotomie, Perikardiotomie und Herzluxation) möglicherweise deutlicher ausfallen könnten, als zum Messzeitpunkt 8. Woche postoperativ. Zu einem frühen Zeitpunkt könnten in diesem Fall die zu messenden Diskrepanzen zwischen Sham-Tieren und gesunden Tieren möglicherweise ausgeprägter vorhanden und so auch in Cine-MR zu detektieren sein.

Die Shamoperation wird ja ausgeführt, damit bei der Untersuchung infarzierter Tiere kein systematischer Fehler durch die bloßen Operationsbegleiterscheinungen in das Endergebnis eingeht. Dies hat jedoch einen Nebeneffekt: Sollte die Operation exklusive der Koronarligatur alleine schon detektierbare Konsequenzen haben, würde dies auch die Tragfähigkeit des Herzinfarktmodells durch Infarktoperation begrenzen. Das Modell der Infarktoperation wurde ja entwickelt, um die Geschehnisse beim inzidentell bedingten Myokardinfarkt zu studieren und sollte diesen auch so getreu wie möglich abbilden [7].

Bei der vorliegenden Versuchsaufstellung wurde von allen Tieren jeweils der linke und der rechte Ventrikel verglichen. Der muskelstarke linke Ventrikel nimmt in der Funktionsdiagnostik und Forschung meist die zentrale Rolle ein.

Der rechte Ventrikel wurde jedoch ebenso miteinbezogen, aufgrund der Überlegung, dass er durch die Perikardiotomie unter Umständen sogar stärker als der linke affiziert werden könnte.

Um die absoluten volumetrischen Daten vom Einflussfaktor Gewicht soweit wie möglich zu bereinigen, wurden in beiden Vergleichen jeweils Indices mit dem Körpergewicht gebildet. Die Indexbildung mit dem Gewicht ist insofern relevant, da durch diese berücksichtigt wird, dass sich bei Wachstum des Tieres die Totalvolumina der Herzhöhlen in gewissem Rahmen mit verändern können. (Hätte eine beispielsweise um ein Drittel leichtere, jüngere Versuchstiergruppe die gleichen Totalvolumina aufgewiesen, wie die Ausgangsgruppe, hätte einen dies eher stutzig machen sollen und hätte unter Umständen als ein Hinweis auf morphologische und strukturelle Herzveränderungen gewertet werden müssen).

Daher wurde vor jedem Vergleich für jeden Absolutwert ein Index mit dem Körpergewicht gebildet: Beispielsweise Schlagvolumen pro g Körpergewicht, endsystolisches Volumen pro g Körpergewicht, ebenso bei allen weiteren Absolutgrößen.

Als Ergebnis dieser Untersuchungen wurde festgestellt:

In beiden Vergleichssettings wurden keine signifikanten Unterschiede der in Cine-MRT erfassbaren Parameter zur Beschreibung der Herzleistung sichtbar.

Nicht nur die Ejektionsfraktion (die für die Einschätzung der Herzfunktion eine definierende Größe ist) stimmte in den verschiedenen Gruppen überein, auch die volumetrischen und anderweitig abgeleiteten Größen sind innerhalb des Signifikanzkorridors ($p < 0,05$) identisch:

Ejektionsfraktion: EF (%)

Ventrikelvolumina/Gewicht: EDV/BM, ESV/BM

Schlagvolumina/Gewicht: SV/BM

Ventrikelmasse/Gewicht: V-Mass/BM

Systolische Wanddickenzunahme: SWT (%)

Es ist nun bemerkenswert, dass unter dieser vorausgehenden Berücksichtigung des Gewichts keine Unterschiede zwischen den Werten der Gesundgruppe und denen der Shamtiere auftreten.

Sowohl in den früh- als auch spät-postoperativen Messungen nach Sham-OP verhielten sich die Ergebnisse beim Vergleich mit der konstant gehaltenen Gesundtier-Gruppe jeweils gleich, d.h. unabhängig vom Körpergewicht, der Alters- oder Gewichtsdiﬀerenz zeigten die Daten von Shamtieren und gesunden Tieren im Vergleich jeweils keine signifikanten Unterschiede. Typische Veränderungen bei Infarkt, die auf Versehrtheiten der Shamgruppe hingewiesen hätten und höchstwahrscheinlich bei den gesunden Tieren nicht anzutreffen sind, wären zum einen Kinetikstörungen der Wand gewesen (Dyskinesie, Hypokinesie, Akinesie) als auch eine Ausdünnung der Herzwand an der infarzierten Stelle – nichts davon konnte hier beobachtet werden (es wäre auch bei der SWT-Auswertung deutlich aufgefallen).

Typische Beeinträchtigungen großer Infarkte [12], wie vor allem eine deutliche Erniedrigung von Schlagvolumen, Herzminutenvolumen und Ejektionsfraktion sowie das Auftreten einer dilatativen Hypertrophie (zu identifizieren durch erhöhte ventrikuläre Masse bei erniedrigtem Ventrikelmasse/EDV-Index), fanden sich in der aktuellen Studie nicht. Das Auftreten von so großen Infarkten wäre nach Sham-OP allerdings auch kaum zu erwarten gewesen.

Typische Beeinträchtigungen bei kleinen Infarkten wären gewesen [12]: Reduktion von Schlagvolumen, Herzminutenvolumen und Ejektionsfraktion, jedoch keine dilatative, sondern

eine eher kompensierte, konzentrische Hypertrophie (identifizierbar durch erhöhtes ventrikuläres Gewicht bei normalem Ventrikelmasse/EDV-Index).

Zusammenfassend gab es in der aktuellen Studie keinerlei Hinweise für das Auftreten solcher Phänomene bei den Shamtieren, weder zum regulären, noch zum frühen Messzeitpunkt.

Weiterhin wurde darauf geachtet, ob sich Beeinträchtigungen finden würden, die durch die Thorakotomie und Perikardiotomie bei der Shamoperation (wie auch durch Infarktoperation) hätten hervorgerufen werden können – u.a. Thoraxtrauma, Entzündung oder Infektion, was z.B. durch freie Flüssigkeit im Thoraxraum hätte sichtbar werden können, vor allem aber auch eine mögliche links- oder rechtsventrikuläre Dysfunktion als Folge der Perikardverletzung/Perikardektomie. Für beides ließen sich weder direkt bildmorphologisch noch anhand der ermittelten morphologischen und funktionellen kardialen Parameter eindeutige Nachweise eruieren.

Zusammenfassend lässt dies folgenden Schluss zu:

Durch die Shamoperation wird keine signifikante Beeinflussung von cine-magnetresonanztomografisch erfassbaren morphologischen und funktionellen Parametern am Herzen hervorgerufen.

Daher kann das Herzinfarktmodell der Ratte, das über Gefäßligatur-Operation eine artifizielle Myokardischämie produziert, als valides Modell für einen inzidentellen Myokardinfarkt und zur Beschreibung der dort zu erwartenden Verhältnisse im subakuten (4 Wochen) und chronischen Infarktstadium (8 Wochen) genutzt werden.

Im Nebenschluss ergibt sich, dass aufgrund der geringen Unterschiede der kardialen Morphologie und Funktion von Sham-operierten und gesunden Tieren die Notwendigkeit der Verwendung von Shamgruppen als solcher vor dem Hintergrund der Tierschutzethik kritisch zu hinterfragen ist.

5.2. Vergleich mit Fremddaten

In der übergeordneten Arbeitsgruppe an der Universität Würzburg wird schon seit vielen Jahren mit großer Expertise Herz-MRT-Forschung am Tiermodell (sowohl an der Maus, als auch an der Ratte) betrieben. Es wurden hierbei auch umfangreiche Cine-MRT-Daten im Rahmen von Infarktstudien erhoben. Daher liegt es nahe, die in der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten mit früher gemessenen in Vergleich zu stellen.

Aus einer Arbeit von Nahrendorf, Hiller und Waller [12] aus dem Jahr 2001 werden für eine gleich alte Shamgruppe von Ratten u.a. folgende Parameter erhoben: EF = 69,0 +/- 1,6 % ; SV = 228 +/- 4,6µl; ESV = 101,8 +/- 3,8 µl ; CO/BM = 0,257 +/- 0,02 bei einem Durchschnittsgewicht von 286,5 +/- 12g.

Oder auch: EF = 70,6 +/- 2%, SV = 224,4µl , ESV = 91,7 +/- 4,7 µl, CO/BM = 0,279 +/- 0,017 µl/g/min; SWT = 66,5 +/- 8,2 %.

Diese Werte, die alle mit einer uneingeschränkten Herzleistung zu vereinbaren sind, fügen sich somit allesamt sehr gut in die für die vorliegende Arbeit erhobenen Ergebnisse ein.

Weiterhin findet sich auch in einer weiteren Arbeit [36] von Nahrendorf, Hiller und Waller aus dem Jahr 2001 der Zusammenhang, dass beim Shamtier der Index LV-Mass/BM konstant bleibt, wobei hier Werte von 1,755 µg/g, 1,592 µg/g und 1,777µg/g erhoben wurden. Auch dies sind Zahlen, die sehr gut zu den in der vorliegenden Arbeit erhobenen Messdaten und zur These der Vergleichbarkeit von Sham- und Gesundtiergruppen passen. In einer weiteren Arbeit [8] von Nahrendorf und Hiller aus dem Jahr 2003 werden an gesunden (d.h. nicht shamoperierten) Tieren folgende Cine-MR-Daten gemessen: LV-Mass 537,6 +/-19,6µg, indexiert aufs Gewicht ungefähr 1,9µg/g; EF = 65,3 +/- 1,6%, SV = 224µl , EDV = 343,9 +/-19,6g. Auch diese Werte passen sehr gut sowohl zu den o.g. Shamtier-Daten als auch zu den im Rahmen der vorliegenden Arbeit erhobenen Messungen.

5.3. Detaillierte Ergebnisbetrachtung

Die Datenerhebung im Rahmen der vorliegenden Experimente hat sich erfreulicherweise reibungslos gestaltet, so dass bei der Auswertung keine größeren Probleme auftraten.

Die Grundannahme hat sich insgesamt bestätigt. Die bei den gesunden Tieren zu erwartenden guten Herzleistungswerte konnten demzufolge durch die Messungen bestätigt werden. Verkomplizierende Schwierigkeiten, wie sie z.B. durch verminderte Bildqualität oder unerwartet stark abweichende Einzelwerte hervorgerufen werden können, traten in der aktuellen Studie nicht auf.

In Bezug auf die Shamtiere stellte die Annahme, dass kein Unterschied zu den gesunden Tieren, d.h. ebenso gute Herzleistungsparameter, zu erwarten wären, die ursprüngliche Hypothese dar.

Auch diese ließ sich anhand der Ergebnisse gut bestätigen und auch hier waren keine größeren methodischen Schwierigkeiten zu bewältigen.

Obwohl die gewünschten Daten und Ergebnisse also erfolgreich erhoben werden konnten, soll im Folgenden noch analysiert werden, wie diese zustande kamen – ebenso soll analysiert werden, worin potenzielle Fehlerquellen hätten bestehen können und ob diese bei der vorliegenden Arbeit eine wesentliche Rolle gespielt haben könnten.

5.3.1 Zur Versuchsdurchführung

Cine-FLASH-MRT gilt als Goldstandard bei der volumetrischen und kinetischen Erfassung des schlagenden Herzens. Die Tatsache, dass die Bildzeilen der verschiedenen Frames nicht aus dem gleichen Herzzyklus rekrutiert werden, ist hier legitim, da erwartungsgemäß in den vorliegenden Experimenten in mutmaßlich gesunden Herzen die Kinetik der einzelnen Herzschläge nicht eklatant differieren sollte – so wie es auch im vorliegenden Fall (erwartungsgemäß) nicht zu finden war.

Cine-FLASH-MRT hat sich außerdem zur Erfassung von Langzeitverläufen als valide Methodik etabliert [12]. Daneben hat sich auch die Methode nach Simpson als zuverlässige mathematische Modellierung bewährt – sie gilt als sehr genaue Methode, da sie ohne Voraussetzung geometrischer Annahmen oder Schätzungen größerer Areale auskommt [27,34].

Das Versuchstier Ratte bietet außerdem folgende Vorteile, was die Bildqualität angeht: Zum ersten ein günstiges Verhältnis von Körpergröße zu Auflösung: Die (im Vergleich zur Maus großen) Herzen können relativ hoch aufgelöst dargestellt werden. Weiterhin ist es bei Verwendung einer üblichen Schichtdicke von 1mm möglich, deutlich mehr Schichten (hier i.d.R. 18) aufzunehmen, als bei der Maus (ca. 7 Schichten, z.B. [27,28,34]) - dies vermindert auch den Partial Volume Effect und erlaubt so eine exaktere Auswertung. Zum anderen ermöglicht die (bei der Ratte realisierbare) Intubationsnarkose gezielte Atempausen für die Bildakquisition, daher werden keine durch die Atmung induzierten Verschiebungen des Herzens bildstörend wirksam. Somit besteht keine Notwendigkeit, für die Verbesserung der Bildqualität über mehrere Bilder zu mitteln, was günstig ist, da durch Mittelung Information theoretisch kaschiert werden könnte.

Diastole und Systole wurden in den aktuellen Untersuchungen empirisch, d.h. visuell, ermittelt, woraus theoretisch immer ein systematischer Fehler resultieren kann. Bei der hier vorliegenden Frameanzahl (mindestens 20 pro Herzzyklus) wird sich dieser Fehler allerdings in vernachlässigbar kleinen Grenzen halten – zumal nur Versuchstiere mit vitaler Pumpfunktion betrachtet wurden, bei der sich die endsystolischen und enddiastolischen Ventrikellumen deutlich unterscheiden.

5.3.2 Zur Auswertung

Der Auswerter muss sich in der von Hand durchgeführten Auswerteroutine einüben, um reproduzierbare Ergebnisse zu liefern – (dies vermindert die sog. intraobserver Variabilität). Das Differieren von Ergebnissen zwischen verschiedenen Auswertern entspricht der interobserver Variabilität. Bei der Cine-MR-Auswertung des rechten Ventrikels der Maus bei Ruff et al. 1998 [34] wurde eine intraobserver Abweichung von 4-11% ermittelt (Auswertungsabstände bis zu 4 Wochen). Bei der interobserver Abweichung ergaben sich demzufolge Werte zwischen 5-13%.

Bei den günstigeren Bedingungen an der Ratte (s.o.) dürfte die Variabilität ähnlich gut sein. In vorliegender Arbeit wurde zur Minimierung systematischer Fehler stets direkt hintereinander vom gleichen Auswerter auf dem gleichem Monitor im jeweils identischen Vergrößerungsfenster sowie mit dem gleichen Zeichenwerkzeug ausgewertet.

Folgende potenzielle Fehlerquellen wurden weiterhin identifiziert und bei der Auswertung besonders sorgfältig behandelt:

Bei der möglichst exakten Ziehung der Konturen wurden nach Konvention die Papillarmuskeln immer dem Lumen zugerechnet.

An der Herzbasis war es u.U. aufwändiger, die Volumina richtig zu identifizieren und zuzuordnen, z.B. in der Klappenebene und bei Klappenausstrom.

Wie allgemein üblich erfolgte die Ausrichtung der Schichtpositionierung anhand der Hauptausrichtung des linken Ventrikels, da der myokardreichere linke Ventrikel meist im Zentrum von Betrachtungen steht und neue Verfahren meist zuerst an ihm erforscht werden.

Der Unterschied der Schichtenwahl stellt sich dar wie folgt:

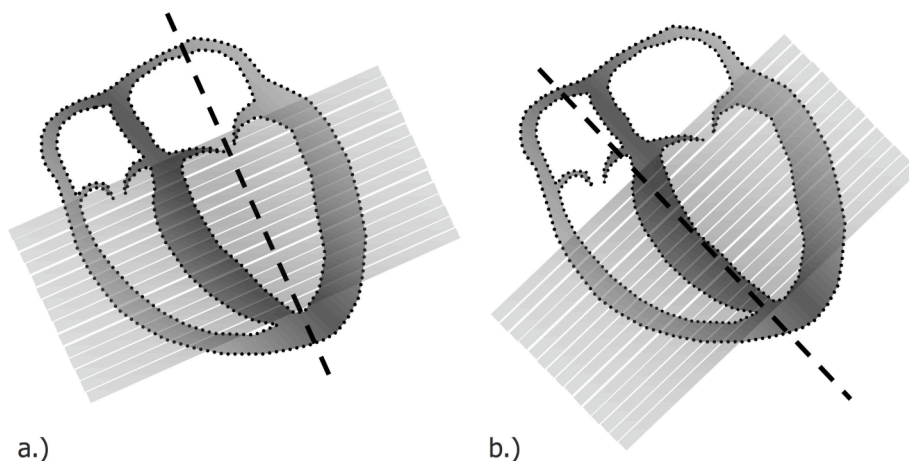


Abb. 5.1.a.) Short Axis Imaging, Schichtausrichtung anhand der Hauptachse des linken Ventrikels, dessen Wände hier ideal, d.h. quasi senkrecht angeschnitten werden. Dafür wird in Kauf genommen, dass Teile des rechten Ventrikelmyokards etwas schräger getroffen werden. Bei den vorliegenden Experimenten gewählte Einstellung.

5.1.b.) Bei Optimierung auf den rechten Ventrikel hingegen wird die Bildachse ins Interventrikularseptum gekippt, damit die Wände des rechten Ventrikels weniger schräg angeschnitten erfasst werden.

Als Schwierigkeit beim Auswerten der Parameter des rechten Ventrikels spielt der Faktor der Bildoptimierung auf den linken Ventrikel hin mit der Tatsache zusammen, dass der rechte Ventrikel, der sich ja schalenförmig dem linken anschließt, anatomisch viel komplexer und zusätzlich deutlich dünnwandiger ist. Vor allem die basisnahen Schichten sind daher in der Auswertung komplexer:

Der rechte Ventrikel läuft hier einerseits weniger spitz zu und steht andererseits in ungünstigerem Winkel zu dem gleichzeitig abgebildeten rechten Vorhof und Ausflusstrakt. So ist es schwieriger zu entscheiden, ob das ermittelte Volumen dem Vorhof, Ventrikel oder Ausflusstrakt zugeordnet werden muss. Nach Einweisung und Einübung gelingen jedoch gut reproduzierbare Ergebnisse. Folgende Abbildung zeigt exemplarisch die Zuordnung der einzelnen Lumina in einer Schicht der Herzbasis. Es wurden das endsystolische, ein frühdiastrisches und das enddiastolische Frame betrachtet.

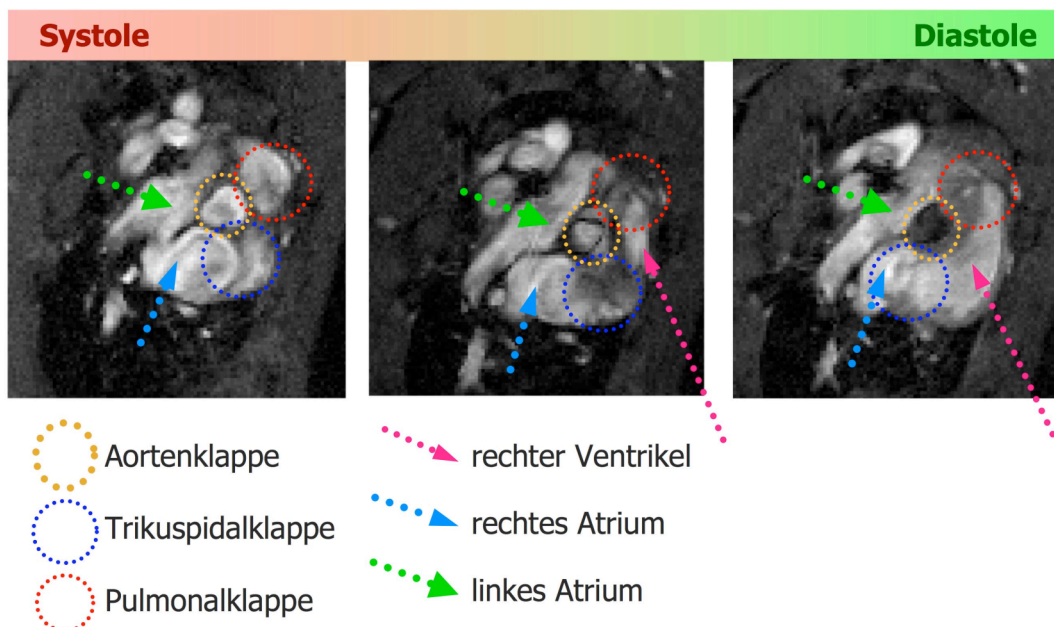


Abb. 5.2: Anatomische Verhältnisse in der Klappenebene bei Short Axis Imaging, vorrangige Betrachtung des rechten Ventrikels

Da die Schichtauswahl auf die Ausrichtung des linken Ventrikels optimiert ist, bleibt ein Teil des rechtsventrikulären Volumens an der Basis der Auswertung schlecht zugänglich und wird systematisch vernachlässigt. Folgende Hilfsbetrachtung wurde bei der Ergebnisbeurteilung herangezogen: Die Schlagvolumina beider Ventrikel sollten jeweils sehr ähnlich sein, weil mutmaßlich gesunde Herzen (keine Insuffizienzen, Rezirkulationsvolumina, keine Shunts, keine Vitien) betrachtet werden. So kann der systematische Fehler unter Umständen sogar berechnet werden - er ist jedoch im vorliegenden Fall in allen Auswertungen quasi gleich und daher im Vergleich der rechten Ventrikel untereinander zu vernachlässigen.

Die komplexeren Verhältnisse des rechten Ventrikels spiegeln sich letztendlich darin wider, dass die Auswertegenauigkeit stets etwas höher zu erwarten ist als im linken Ventrikel. Die Berechnung aller Volumina basiert auf der Erfassung der myokardialen Volumina und des enddiastolischen und endsystolischen Volumens.

Die Diastole ist meist sehr gut zu erfassen, da hier besonders übersichtliche Verhältnisse herrschen. Während der Systole bestehen u.U. etwas größere Unsicherheiten, das Lumen kann (gerade bei den hier betrachteten Herzen mit vitaler Pumpfunktion) sehr klein, teilweise fast verschwindend klein werden. Außerdem können sich die Papillarmuskeln (die hier per Definition zum Lumen zählen) systolisch stark an die Ventrikelwand anschmiegen und dann von dieser schlecht abgrenzbar sein. Außerdem wirken sich in der Systole Bewegungs- und Flusseffekte stärker aus und können damit die Auswertegenauigkeit stark stören. Beides bereitete jedoch - wie die Ergebnisse zeigen - im aktuellen Fall keine größeren Probleme.

Bei der systolischen Wanddickenzunahme (SWT) wurde zur Ermittlung der Ergebnisse und der Fehler erst schichtweise gemittelt, dann über die betrachteten drei mittventrikulären Schichten. Schichtweises Mitteln ist geboten, wenn keine Pathologien (Infarktnarben, Aneurysmata) erwartet werden, was in der jetzigen Studie der Fall war. Es wurde eine im Normbereich liegende, gute Kontraktilität bei allen Vergleichsgruppen gefunden, auch hier lagen keine signifikanten Unterschiede vor. Bei der Ermittlung der Fehler wird zum einen betrachtet, welche Abweichungen zwischen den einzelnen Schichten bestanden, was von jedem Tier mit einbezogen wurde. Von den SWT-Messdaten aller Einzeltiere wurde noch deren Standardabweichung untereinander berechnet und der jeweils größere der so ermittelten Fehler angenommen. Die Auflösung von 128x128 Pixeln erwies sich als ausreichend hoch für eine zuverlässige Betrachtung.

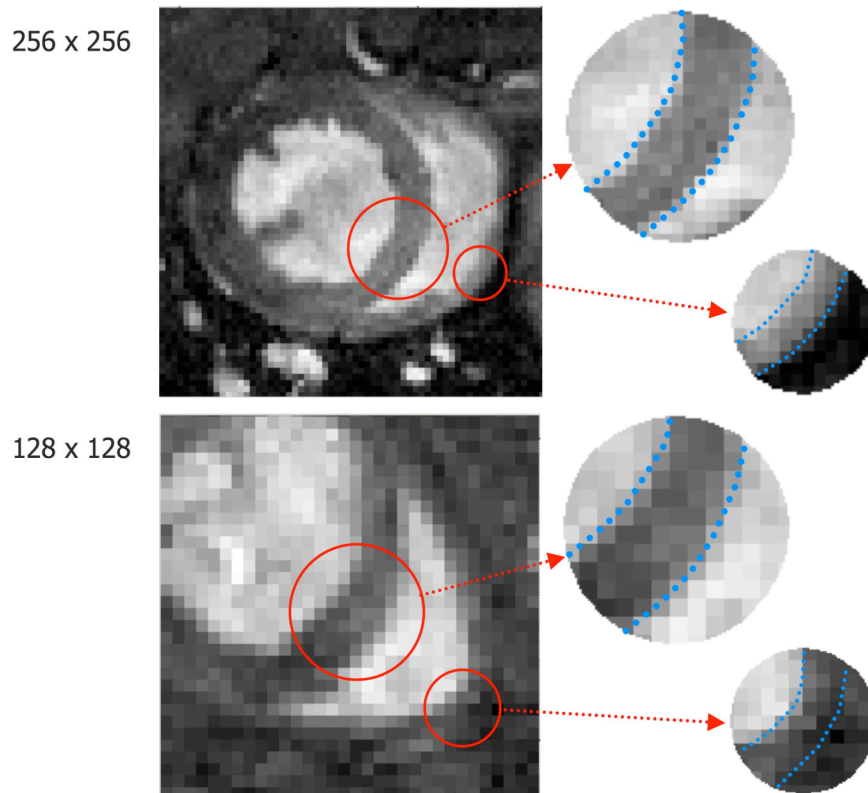


Abb. 5.3
Direkte Gegenüberstellung der Auflösungen $256 \times 256 \text{ Pixel}^2$ und $128 \times 128 \text{ Pixel}^2$ und Detailvergrößerung bei der SWT-Auswertung des linken und rechten Ventrikels. Linksventrikulär ist die durch Auflösung bedingte Genauigkeit etwas höher als rechts.

5.4 Ausblicke

Die Ergebnisse der aktuellen Studie zeigen, dass die Beschädigung durch die Shamoperation offensichtlich so minimal ist, dass das operative Infarktmodell valide für die Beschreibung der Verhältnisse beim inzidentellen Myokardinfarkt ist. Anders ausgedrückt, diese Beschädigung ist so minimal, dass die Verletzung in den Ergebnissen der Cine-MR-Auswertung – die den Goldstandard in der volumetrischen, kinetischen und morphologischen Herzbildgebung darstellt - nicht in Erscheinung tritt. Der eigentliche operative Eingriff des beschriebenen Infarktmodells ist somit als Verursacher pathologischer Effekte, welche die Rückschlüsse von den Ergebnissen auf die Verhältnisse beim "natürlichen" Myokardinfarkt verfälschen könnten, im chronischen Infarktstadium vernachlässigbar.

Auf mikrozirkulatorischer Ebene (z.B. via Perfusions-MRT) sind anhand der aktuellen Ergebnisse noch keine abschließenden Aussagen möglich, dies könnte weitergehend separat überprüft werden. Ergänzend könnte auch noch untersucht werden, wie sich die kardiale Morphologie und Funktion von Shamtieren zu extrem frühen Messzeitpunkten (z.B. 1. Tag postoperativ) im Vergleich zu gesunden Tieren verhält.

Für späte Zeitpunkte sind Abweichungen von den aktuellen Ergebnissen nicht anzunehmen, da keine Nachwirkungen der Shamoperation zu erwarten sind, die nicht schon zum Zeitpunkt 4. oder 8. Woche aufgetreten wären. Orientierend war in eigenen Messungen bei Sham-Tieren nach der hier betrachteten 8. Woche keine Abweichung im Verlauf erkennbar, hier kann lediglich die reguläre Gewichtszunahme der Tiere und die damit einhergehende diskrete proportionale Volumenzunahme festgestellt werden.

Die vorliegenden Ergebnisse können in der Cine-MRT praktische Anwendung finden.

Der personelle (professionelles, routiniertes Personal) und materielle (Material, Räumlichkeiten, Kosten) Aufwand von Sham-Operationen ist vergleichbar groß mit denen einer Infarktoperation. Die Verwendung von Shamgruppen ist außerdem tierintensiv – die postoperative Mortalität ist nicht zu vernachlässigen und für jeden Messzeitpunkt muss jeweils eine passende Shamgruppe zur Verfügung stehen. Weiterhin beinhaltet die Arbeit mit Shamtieren deutlichen Zeitaufwand für das Abgleichen nach postoperativen Wochen – ein Beispiel: Wenn für Infarktstudien an Tieren 8 Wochen postoperativ eine Vergleichsgruppe fehlt oder ergänzt werden muss, musste man für neue Shamtiere die 8. Woche postoperativ abwarten.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass statt der Verwendung von Sham-Tieren auch gesunde Tiere als Vergleichsgruppe herangezogen werden könnten.

Obwohl Alter und Gewicht die Ergebnisse von Sham- und gesunden Tieren in den vorliegenden Ergebnissen nicht beeinflusst haben, sollte beim Verwenden von gesunden

Tieren beachtet werden, dass möglichst gleich schwere (implizit: ähnlich alte) Tiere verwendet werden; denn je geringer die Gewichtsabweichungen zwischen den einzelnen Tieren, desto verlässlicher alle Messwerte, da das Gewicht und seine durchschnittliche Abweichung in alle Werte und in deren Verlässlichkeit (Fehlerangaben) durch die Indexbildung mit eingeht. Grundsätzlich ist es daher empfehlenswert, Tiere aus einer ähnlichen Gewichtsklasse (hat als Konsequenz implizit: ähnliche Altersklasse) wie die der zu untersuchenden Infarkttiere auszuwählen, um systematische Fehler zu minimieren.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde überprüft, ob sich sham-operierte Versuchsratten und gesunde Vergleichsratten in via Cine-Herz-MRT zu erfassenden Parametern signifikant unterscheiden. Hierzu wurden an einem Bruker 7 Tesla-Magnetresonanztomografen drei verschiedene Tiergruppen à 6 Tiere untersucht. Der erste Vergleich fand statt zwischen der gesunden Vergleichsgruppe und einer ähnlich schweren Shamtiergruppe, die sich in der 8. postoperativen Woche befand. Nachdem hier keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festzustellen waren, wurde der Vergleich ausgeweitet: Die Shamgruppe wurde zu einem frühen postoperativen Zeitpunkt (7-14 Tage postoperativ) ein zweites Mal mit der gesunden Gruppe verglichen. In diesem Setting war nicht nur das Operationstrauma frischer, auch das Gewicht war nun deutlich abweichend. Alle Absolutergebnisse wurden bei beiden Versuchssettings jeweils aufs Gewicht indiziert, um einer gewissen physiologischen Volumenänderung der Herzhöhlen während des Größenwachstums gerecht zu werden. Es ergaben sich auch im zweiten Vergleichssetting keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den Tiergruppen: Nicht nur die Tatsache „Sham“ oder „Gesund“ hatte keinen signifikanten Einfluss, die größere Gewichts- und Altersdiskrepanz ebenso wenig.

Daraus folgt:

Die Gefäßligations-Operation zur Infarktforschung am Tiermodell ist ein valides Modell zur Abbildung der tatsächlichen Verhältnisse beim inzidentellen Myokardinfarkt, da durch die Sham-Operation keine signifikanten Veränderungen von Herzmorphologie und Herzkinetik im Vergleich zu gesunden Tieren auftreten.

Im Nebenschluss lässt sich sagen, dass bei der Verwendung gesunder Vergleichstiere statt einer Sham-OP Vergleichsgruppe in der Herzinfarktforschung mittels Cine-MRT nur geringe Fehler zu erwarten sind, da sich diese nicht signifikant von den Shamtieren unterscheiden - auch wenn diese zu einem frühen Zeitpunkt postoperativ vermessen wurden.

Fazit:

Die Beschädigung durch die Shamoperation ist offensichtlich so minimal, dass das operative Infarktmodell valide ist, bzw. so minimal, dass die Verletzung im Cine-MRT – dem Goldstandard in der volumetrischen, kinetischen und morphologischen Herzbildgebung - nicht in Erscheinung tritt.

7. Quellenangaben

- [1] Statistisches Bundesamt, Sterbefälle nach den 10 häufigsten Todesursachen 2008, 2009
- [2] WHO www.aps.who.int/infobase
- [3] Nilsson S „MR-Imaging of Contrast-enhanced porcine Myocardial Infarction“ Uppsala, 1995
- [4] Reiser M, Kuhn F-P, Debus J „Radiologie“ Thieme Verlag Stuttgart, 2006
- [5] Weishaupt D, Köchli V. „Wie funktioniert MRI“ Springer, Berlin 2009
- [6] Holman ER, Buller VG, de Roos A, van der Geest RJ, Baur LH, van der Laarse, Reiber JH, van der Wall EE „Detection and quantification of dysfunctional myocardium by magnetic resonance imaging“. *Circulation*, 1997; 95: 924-931.
- [7] Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. „Experimental myocardial infarction in the rat: qualitative and quantitative changes during pathologic evolution“ *Am J Pathol* 1978; 90(1): 57-70.
- [8] Nahrendorf M, Hiller KH, HU K, Ertl G, Haase A, Bauer WR. „Cardiac magnetic resonance imaging in small animal models of human heart failure“ *Med Image Anal*, 2003; 7(3): 369-75.
- [9] Nahrendorf M, Wiesmann F, Hiller KH, Han H, Waller C, Ruff J, Haase A, Ertl G, Bauer WR „In vivo assessment of cardiac remodeling after myocardial infarction in rats by cine-magnetic resonance imaging“ *J Cardiovasc Magn Reson*, 2000; 2(3): 171-180.
- [10] Herold V, Wellen J, Ziener CH, Weber T, Hiller KH, Nordbeck P, Rommel E, Haase A, Bauer WR, Jakob PM, Sarkar SK „In vivo comparison of atherosclerotic plaque progression with vessel wall strain and blood flow velocity in apoE(-/-) mice with MR microscopy at 17.6 T“ *MAGMA* Juni 2009
- [11] Hiller KH, Ruile P, Kraus G, Bauer WR, Waller C „Tissue ACE inhibition improves microcirculation in remote myocardium after coronary stenosis: MR imaging study in rats.“ *Mikrovasc Res* 2010
- [12] Nahrendorf M, Wiesmann F, Hiller KH, Hu K, W aller C, Ruff J, Lanz TE, Neubauer S, Haase A, Ertl G, Bauer WR. „Serial Cine-Magnetic Resonance Imaging of left ventricular Remodeling after myocardial infarction in rats“. *JMRL*, 2001; 14: 547- 555
- [13] Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E. „Observations on experimental myocardial ischaemia“ , *Circulation Research* 1979
- [14] Dimond EG, Kittle CF, Crockett JE „Comparison of internal mammary artery ligation and sham operation for angina pectoris“ *Am J Cardiol* 1960

- [15] Samsamshariat SA, Samsamshariat ZA, Movahed MR
 „A novel method for safe and accurate left anterior descending coronary artery ligation for research in rats“ Cardiovasc Revasc Med. 2005
- [16] Kiernan JA, Histological and Histochemical Methods. Butterworth Heinemann, Oxford (England) oder Woburn, MA,USA, 1999
- [17] „Tipler PA“ Physik Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Berlin 2000
- [18] „Metzler Physik“. Hrsg Grehn J, Krause J Schroedel, Hannover 2002
- [19] „Gerthsen Physik“ Vogel H Springer Verlag, Berlin 1999
- [20] „Lehrbuch der Physiologie“ Silbernagl S, Klinke R, Thieme Stuttgart 2001
- [21] <http://www.mrx.de/mrpraxis/mrgrund.html#1.2.1.%20Boltzmannverteilung>
- [22] „Radiologie I“, Lissner J, Fink U, Enke Verlag, Stuttgart 1992
- [23] „Praxiskurs MRT - Anleitung zur MR-Physik“ Nitz WR, Runge VM Thieme Verlag, Stuttgart 2007
- [24] „Kardiovaskuläre MRT“ Homberg V, Jakob P, Schattauer Verlag 2004
- [25] Haase A „Snapshot FLASH MRI. Application to T1, T2 and chemical-shift imaging“ Magn Res Med, 1990; 13: 77-89
- [26] Jakob PM „Neue Methoden der schnellen Bildgebung in der Kernspintomografie“, Dissertation, Würzburg 1993
- [27] Ruff J „Funktionelle NMR-Bildgebung am Herzen der Maus“ Dissertation, Würzburg 2000
- [28] Streif U „NMR-Bildgebung am Herzen der Maus“ Dissertation, Tectum Verlag Marburg 2004
- [29] Köhler S „Entwicklung hochaufgelöster NMR-Methoden zur morphologischen und funktionellen Charakterisierung des Herzmuskels“ Dissertation Würzburg 2003
- [30] Schwarzbauer C „Quantifizierung der regionalen Gewebedurchblutung mit Hilfe der NMR-Bildgebung“ Dissertation, Würzburg 1995
- [31] Debatin JF, McKinnon GC „Ultrafast MRI“, Springer, Berlin 1998
- [32] Ewen K (Ed.). Moderne Bildgebung. Thieme Stuttgart 1998
- [33] Blackwell GG „MRI: Cardiovascular System“ Gower Medical Publishing, New York 1993

- [34] Alex Frydrychowicz „Hochaufgelöste cine-Magnetresonanz-Bildgebung des Mäuseherzens zur Bestimmung rechtsventrikulärer Morphologie und funktioneller Parameter. Validierung der Methode und Etablierung an zwei Modellen der Herzinsuffizienz“, Dissertation, Würzburg 2004
- [35] Katharina Bathe „Einfluss des Hepatozytenwachstumsfaktors (HGF) auf das linksventrikuläre Remodeling: Charakterisierung von Geometrie, Mechanik und Narbenentwicklung mittels der NMR-Technik“, Dissertation, Würzburg 2006
- [36] Waller, C, Hiller K-H, Kahler E, Hu K, Nahrendorf M, Voll S, Haase A, Bauer W-R „Serial Magnetic Resonance Imaging of Microvascular Remodeling in the Infarcted Rat Heart“ Circulation, 2001
- [37] Bruch C, Bartel T, Schmermund A „ Asynchronie der ventrikulären Kontraktion und Relaxation“ Cardiovascular Diseases, 1998

8. Abbildungsverzeichnis

Alle Abbildungen stammen von der Verfasserin selbst.

1. Einleitung

- 1.1. Angina pectoris, nach Frank H. Netter
- 1.2. Todesursachen 2008 und 2009
- 1.3. Zeitlicher Ablauf eines Herzinfarkts am Nager und am Menschen

2. Material und Methoden

- 2.1. Tierkäfig mit Wasser, Futter und Einstreu
- 2.2. Operationssitus nach Luxation des Herzens
- 2.3. Versuchstier auf der Messschiene
- 2.4. Histologischer Schnitt senkrecht zur kurzen Achse durch gesundes Herz
- 2.5. Spin up , Spin down
- 2.6. Ausrichtung von Spins in Magnetfeldern, die mit zugehöriger Larmorfrequenz präzedieren
- 2.7. Aufbau einer parallelen Längsmagnetisierung nach der Boltzmannverteilung
- 2.8. Spin-Gitter-Relaxation T_1
- 2.9. Spin-Spin-Relaxation T_2
- 2.10. Prinzip eines ortskodierenden Gradientenfeldes
- 2.11. Prinzip der frequenzabhängigen Schichtselektion im Gradientenfeld
- 2.12. Gradientenstärke als schichtdickenbeeinflussende Größe
- 2.13. Prinzip der Phasenkodierung
- 2.14. Der k-Raum
- 2.15. Die Fouriertransformation
- 2.16. Die 2-D-Fouriertransformation
- 2.17. Free Induction Decay
- 2.18. Phasenschritt einer Gradientenechosequenz
- 2.19. Sequenzschritt der FLASH-Sequenz
- 2.20. Zusammenhang von Längs- und Quermagnetisierungsänderungen
- 2.21. Bildkontrast in FLASH-Sequenzen
- 2.22. Kompletter Herzzyklus einer Schicht in Cine-MRT
- 2.23. EKG-Trigger in Cine-Sequenz und Schaltung der Anregungspulse
- 2.24. Cine-MR-Aufnahme eines gesamten Herzens
- 2.25. Drei der wichtigsten Schnittebenen beim Herz-MRT
- 2.26. Voxel-Rekonstruktion nach der Simpson-Regel, partial volume effect
- 2.27. Aufsummation über alle aufgenommenen Schichten
- 2.28. Kompletter Herzzyklus in Cine-MRT, mittventrikulär mit Endsystole und Enddiastole
- 2.29. Exemplarische Auswertungsumrandungen für Volumetrie
- 2.30. Prinzip der volumetrischen Auswertung
- 2.31. Fehlerpotential in der SWT-Auswertung
- 2.32. Prinzip der SWT-Auswertung

5. Diskussion

- 5.1. Vergleich der Schichtoptimierung auf den linken und den rechten Ventrikel
- 5.2. Anatomische Verhältnisse in der Klappenebene bei short-axis-imaging
- 5.3. Vergleich von Auflösungen bei der SWT-Auswertung

9. Danksagung

Ganz herzlich danken möchte ich vor allem

- an erster Stelle Herrn Professor W.R. Bauer als meinem Doktorvater
- Dr. med. Peter Nordbeck und Dr. rer. nat. Karl-Heinz Hiller -
meinen ausgezeichneten und unersetzlichen Betreuern, die mir jederzeit und unermüdlich mit Rat, Tat, Hilfe und guten Ideen zur Seite standen, mir zahlreiche wertvolle Impulse gaben und bis zum Schluss essenziell am Gelingen dieser Arbeit beteiligt waren
- ganz herzlich Herrn Professor M. Beer für die Übernahme des Korreferats
- Sabine Voll, ohne die all die Tierversuche nicht möglich gewesen wären, für ihre warmherzige Betreuung, ihre einzigartige Expertise und ihr perfektes „Mitarbeiterhandling“
- Dr. rer. nat. Xavier Helluy – stellvertretend für alle NMR-Physiker. Ohne die Forschungsinfrastruktur des Lehrstuhls „Experimentalphysik 5“ wäre diese Arbeit nicht denkbar gewesen
- Dr. med. Kai Hu und Paula Mendelez Loza für die hochprofessionelle Tierpräparation
- Alexander Hubert geb. Schmitt, meinem „Doktorbruder“
- Lisa Bauer, für die Histologie
- den „Mitarbeitern“
- Allen, die ich zwar nicht namentlich kenne, die den Lehrstuhl EP 5 ausmachen und ohne die es keine Messungen, keine FLASH-Sequenz, keine Tierspulen, keine Tierhaltung, keine Tier-Operationen und vieles mehr gegeben hätte – für alles meinen ganz außerordentlichen Dank !