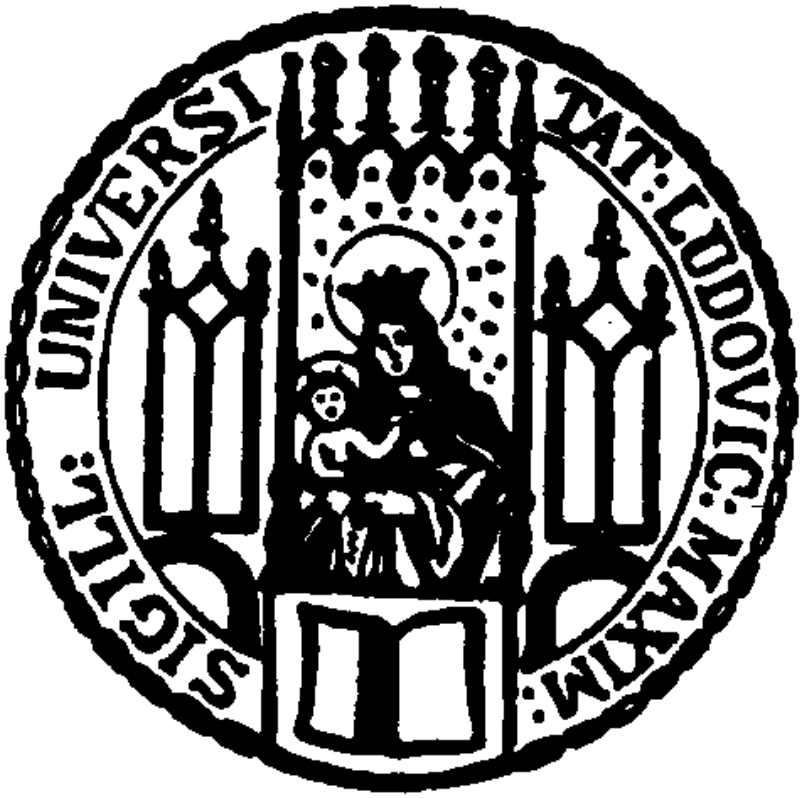
Sauerstoff-induzierte Signaländerungen in der MRT von Hirntumoren.



Christoph Losert

Aus dem Institut für Klinische Radiologie
Klinikum der Universität München
Vorstand: Professor Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser

Sauerstoff-induzierte Signaländerungen in der MRT von Hirntumoren.

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Christoph Hugo Losert
aus München
2003

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr.h.c. M. Reiser
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr.h.c. Th. Brandt
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Th. Heinzeller
	Prof. Dr. K. Tatsch
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. M. Peller
Dekan:	Prof. Dr.med. Dr.h.c. Klaus Peter
Tag der mündlichen Prüfung	16.01.2004

Für meine Eltern und Manuela

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis **7**

Abbildungsverzeichnis **9**

Tabellenverzeichnis **11**

Zusammenfassung **13**

1 Ziele der Arbeit **17**

2 MR-Grundlagen **19**
2.1 Kernmagnetisierung 21
2.2 Bloch-Gleichungen 23
2.3 Ortsauflösung 25
2.3.1 Schichtselektion 25
2.3.2 Frequenzkodierung 26
2.3.3 Phasenkodierung 26
2.3.4 Bildrekonstruktion 28
2.4 EPI-Sequenz 28

3 Der BOLD-Effekt **32**
3.1 Funktionelle Bildgebung 34
3.2 Änderung des Atemgases 36

4 Bedeutung der Tumoroxygenierung **38**
4.1 Oxygenierungsstatus von Tumoren 39
4.2 Bedeutung des Oxygenierungsstatus für Therapie und Prognose 42
4.3 Ursachen von Tumor-Hypoxie 44
4.4 Ansätze zur Verbesserung der Tumor-Oxygenierung 44
4.4.1 Behandlung mit Erythropoietin 45
4.4.2 Inspiratorische Hyperoxie 47
4.5 Methoden zur Messung der Tumoroxygenierung 48

5 Methodenentwicklung **52**
5.1 Atemsystem 52

5.2 O_2-Effekte an verschiedenen Lokalisationen 52
5.3 Messprotokoll und Entwicklung der Nachverarbeitung 55
5.3.1 Bewegungskorrektur 56
5.3.2 Berechnung von Korrelationsmaps 61
5.3.3 Festlegung einer Signifikanzschwelle 62
5.3.4 Fourier-Analyse 63
5.3.5 Berechnung des relativen cerebralen Blutvolumens 63
5.3.6 Repräsentative anatomische Lokalisationen 66
5.4 Ergebnisse der Probandenmessungen 67
5.4.1 Zeitverlauf 67
5.4.2 Rechteck-Korrelation 67
5.4.3 Venen-Korrelation 68
5.4.4 Fourier-Analyse 73
5.4.5 Festlegung einer Signifikanz-Schwelle 74
5.4.6 Charakteristika im Gewebe 75
5.4.7 Alternative Sauerstoffadministration 78
5.5 Diskussion der Probandenmessungen 80

6 Patientenstudie **84**
6.1 Messungen 84
6.2 Verlaufskontrollen 91
6.3 Folgerungen und Diskussion 93
6.3.1 Signalmechanismen 93
6.3.2 BOLD-Effekt und Tumor-pO_2 95

7 Ausblick **98**

Literaturverzeichnis **115**

Häufig verwendete Abkürzungen **118**

Danksagung **119**

Lebenslauf **121**

Abbildungsverzeichnis

2.1 Frequenz- und Absorptions-Spektrum von em-Wellen 20
2.2 Kernspinpräzession im thermischen Gleichgewicht 23
2.3 Kernspinpräzession nach Anregung durch einen 90°-Puls 24
2.4 Erklärung der Phasenkodierung 27
2.5 MR-Signal bei unterschiedlicher Position in Phasenkodier-Richtung . . 29
2.6 Schema der EPI-Sequenz 31

3.1 Suszeptibilität von Hämoglobin 32
3.2 Prinzip des BOLD-Effekts 33
3.3 Abhängigkeiten beim BOLD-Effekt 35

4.1 Rolle des Tumor-Mikromilieus für Tumor-Wachstum und Ansprechen auf Therapien 39
4.2 Oxygenierungsstatus menschlicher Tumoren 40
4.3 Kritische pO_2-Werte 41
4.4 pO_2-Abhängigkeit der Überlebenswahrscheinlichkeit 43
4.5 Hämoglobin-Konzentration und Sauerstoffpartialdruck 45
4.6 Anämie-Behandlung mit EPO 46
4.7 Lokale Tumorkontrolle unter Sauerstoff 46

5.1 Durchschnittlicher O_2-induzierter Signalanstieg an verschiedenen Lokalisationen 53
5.2 Prinzip der Kantenwichtung 58
5.3 Verbesserung der Bewegungskorrektur durch Kantenwichtung 59
5.4 Test des Korrekturalgorithmus 59
5.5 Analyse und Korrektur kleiner Kopfbewegungen 60
5.6 Kontrastmittel-Anflutungskurven bei einem Patienten mit Glioblastom 65
5.7 Signal-Intensitäts-Zeitverlauf aus einem Voxel des Sinus Sagittalis Superior 68
5.8 Zeitliche Verschiebung der Referenzfunktion 69
5.9 Vergleich der Korrelation mit zwei verschiedenen Referenz-Funktionen . 71
5.10 Vergleich verschiedener Auswerte-Techniken 72
5.11 Frequenzanalyse 73

5.12 Verteilung der relativen Signalintensitäts-Änderungen im gesamten Messvolumen 75
5.13 Verteilung der Signalintensitäts-Änderungen in verschiedenen ROIs . . 76
5.14 Sauerstoff-Administration 79

6.1 Vergleich von rCBV und Sauerstoffmessung in gesundem Gewebe . . . 85
6.2 O_2-induzierter Signalanstieg in verschiedenen ROIs 86
6.3 Signalverlauf im Tumorrandbereich eines Patienten mit Hirn-Metastasen 87
6.4 Tumorregionen mit verzögertem Signalanstieg 87
6.5 Patientenmessungen - Beispiel 1 89
6.6 Patientenmessungen - Beispiel 2 90
6.7 Patientenmessungen - Beispiel 3 90
6.8 Sauerstoff-induzierte Signaländerungen während Radiotherapie 92
6.9 Modell der Einflussfaktoren auf die Signalintensität bei Hyperoxie . . . 94

Tabellenverzeichnis

2.1 Eigenschaften ausgewählter NMR-Kerne 21

5.1 Festlegung einer Signifikanzschwelle für zwei verschiedene Paradigmen . 77
5.2 Analyse repräsentativer anatomischer Regionen 77

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Sauerstoff-induzierte Signaländerungen in der Magnetresonanztomographie (MRT) von Tumoren untersucht. Nach einem kurzen Abriss der Grundlagen der MRT folgt eine Beschreibung des zugrundeliegenden BOLD-Kontrastes (blood oxygenation level dependent contrast). Hintergrund der Arbeit ist die Bedeutung der Oxygenierung maligner Tumore. Das Auftreten hypoxischer Tumorareale ist nicht gekoppelt mit anderen klinischen Parametern wie Tumor-Grad oder -Stadium, bedingt aber eine wesentlich schlechtere Prognose für den Patienten. Bislang steht keine diagnostische Methode zur Verfügung, die den Erfolg der verschiedenen therapeutischen Ansätze zur Überwindung der Tumor-Hypoxie bei dem individuellen Patienten vorhersagen oder überwachen könnte.
Das in dieser Arbeit verwendete Konzept der MRT-Bildgebung während des Atmens von Gasen mit hohen Sauerstoffkonzentrationen wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen an murinen Tumormodellen entwickelt. Ziel der Arbeit war es, die Methode für die Anwendung am Menschen weiter zu entwickeln. Zunächst war wichtig zu zeigen, dass sich die Ergebnisse der Experimente an tumortragenden Mäusen prinzipiell auch auf den Menschen übertragen lassen. In den ersten Messungen konnten an verschiedenen Lokalisationen im Menschen Sauerstoff-induzierte Signaländerungen nachgewiesen werden. Mit dieser Messreihe wurde die Größenordnung der nachzuweisenden Effekte ermittelt und damit die Anforderungen an die Messmethode und die zu entwickelnden Nachverarbeitungsprozeduren definiert. Außerdem ließen diese Voruntersuchungen eine Konzentration auf Hirntumore für die weitere Entwicklung der Methodik sinnvoll erscheinen.
Aufgrund der unterschiedlichen physiologischen Gegebenheiten ist der im Menschen gemessene Effekt mit durchschnittlich 2% Signaländerung wesentlich kleiner als bei murinen Tumoren. Daher wurde in der zweiten Messreihe die Methodik optimiert, um die mit dem Sauerstoff gekoppelten Signaländerungen sicher nachweisen zu können. An einer Reihe von Probanden wurden zwei Paradigmen zum Ablauf der Sauerstoff-Administration verglichen. In der Auswertung der Messungen war es wichtig, die Anstiegszeiten bis zum Erreichen einer Sättigung zu berücksichtigen. Es wurde ein Verfahren entwickelt, bei dem Korrelationsmaps aus einer vom Signalverhalten im Sinus Sagittalis Superior abgeleiteten Referenzfunktion berechnet werden. Außerdem wurde

eine Methode entwickelt, um einen objektiven Schwellwert für das Signifikanzniveau unabhängig von dem verwendeten Paradigma festzulegen. Mit dem vorgestellten Verfahren lassen sich unabhängig von dem genauen Ablauf des Experiments vergleichbare Ergebnissen erzielen, die sich nur in ihrer statistischen Signifikanz unterscheiden. Verschiedene Messungen können damit direkt verglichen werden. Mit Hilfe der Probanden-Untersuchungen konnten in gesundem Gewebe Referenzwerte für das Signalverhalten festgelegt werden. Damit konnten Kriterien definiert werden, um die Patientenmessungen qualitativ einzustufen und abweichendes Signalverhalten in Tumorregionen besser beurteilen zu können.
Aufbauend auf den Ergebnissen aus den Probandenmessungen wurden 30 Patienten mit histologisch gesicherten Hirntumoren (primäre Hirntumore und Metastasen von Bronchialkarzinomen) untersucht. Der induzierte Sauerstoffkontrast wurde bei allen Untersuchungen einer Kontrastmitteldynamik gegenübergestellt, die mit der gleichen Sequenz aufgenommen wurde. Damit konnte ein Abbild der relativen Blutvolumina in gesundem Gewebe und im Tumor berechnet werden, das in Schnittführung, Auflösung und Sequenzwichtung genau der Sauerstoffmessung entsprach. Für die Untersuchung des zu Grunde liegenden Kontrastmechanismus ist diese gute Vergleichbarkeit ein großer Vorteil. Durch die Korrelation der Sauerstoffmessungen mit den relativen Blutvolumina konnte nachgewiesen werden, dass mittels des BOLD-Kontrastes physiologische Änderungen erfasst werden, die über eine reine Abbildung der Blutversorgung hinausgehen und die Reaktion des Tumors auf das vermehrte Sauerstoffangebot charakterisieren. Dies deckt sich mit Ergebnissen der aktuellen Literatur, in denen gezeigt wird, dass sich die BOLD-Bildgebung prinzipiell zur Beobachtung von Oxygenierungsänderungen eignet. Folgende Schlussfolgerungen wurden aus den Ergebnissen der Probanden- und Patientenmessungen gezogen:

1. Die Sauerstoffmethode zeigt in gesundem Gewebe ein reproduzierbares Signalverhalten. Dieses Verhalten kann als Referenz für Abweichungen in pathologisch verändertem Gewebe dienen.

2. Der durch Hyperoxie induzierte BOLD-Kontrast wird in nicht-pathologischem Gewebe von den lokalen Blutvolumina bestimmt.

3. Tumorgewebe reagiert im Vergleich zu gesundem Gewebe sehr heterogen auf die Hyperoxie. Abweichende Charakteristika im Signalverlauf mancher Tumore deuten auf langsame physiologische Änderungen hin.

4. Im Tumorgewebe lassen sich die beobachteten Signaländerungen nicht allein mit den Blutvolumina erklären.

Aus diesen Ergebnissen wurde ein Modell zur Beschreibung der wichtigsten Einflussgrößen auf den MR-Kontrastmechanismus abgeleitet, das sich auf bekannte Zusammenhänge der funktionellen Bildgebung stützt.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die Messung Sauerstoff-induzierter Signaländerungen das Potential hat, einen wichtigen funktionellen Parameter zur Tumor-Charakterisierung beizusteuern. Die Methode könnte helfen, für den einzelnen Patienten die geeignetste Strategie zu finden, um die individuell kritischen Faktoren der Tumoroxygenierung gezielt anzugehen.

Kapitel 1

Ziele der Arbeit

Hintergrund der Arbeit ist die Bedeutung der Tumoroxygenierung für die Prognose von Patienten mit bösartigen Tumoren. Tumorhypoxie ist allgemein ein Zeichen eines aggressiveren biologischen Verhaltens des Tumors [Gra96], sie ist aber vor allem auch bedeutsam für den möglichen Misserfolg einer Strahlentherapie. Erste Erfolge konnten mit neuen Behandlungskonzepten erzielt werden, die darauf ausgerichtet sind, die Tumor-Hypoxie vor Therapiebeginn zu überwinden [Mar01, Bus99, Gla01, Lit01, Dun01a]. Der zunehmenden Bedeutung in der Tumor-Therapie stehen bislang nur wenige diagnostische Verfahren gegenüber. Für quantitative Messungen haben sich Einstichsonden etabliert (pO_2 Histographie, Eppendorf), die aber invasiv arbeiten und als Ergebnis nur Stichproben liefern können. Trotz einer engen Beziehung zur Oxygenierung [Bec00, Mol98a, Kel96, Vau91] kann auch eine Bestimmung des Hämoglobin-Wertes die Verhältnisse im Tumor nur indirekt wiederspiegeln. Die vorliegende Arbeit baut auf der Beobachtung sauerstoff-induzierter Signaländerungen (ΔSI) an murinen Tumormodellen auf [Kup95, Kar94, Rob98, Dun97, Rob95, Pel98a]. Durch das Atmen von Gasen mit hohen Sauerstoffkonzentrationen lassen sich in der Magnetresonanztomographie (MRT) unterschiedliche Signalintensitätsänderungen in verschiedenen Tumorarealen induzieren, die auf den konventionellen MR-Bildern nicht zu erkennen sind. Die Methode erfasst einen funktionellen Tumor-Parameter, der in direktem Zusammenhang mit der Oxygenierung steht. Der Effekt basiert auf der Abhängigkeit der T_2^*-Relaxationszeit von der Sauerstoffsättigung im Blut. Dieser Signalmechanismus ist als BOLD-Effekt (blood oxygenation level dependend contrast [Oga90]) bekannt und findet normalerweise in der funktionellen Bildgebung (fMRI) Anwendung.
Ziel dieser Arbeit war es, die Methode der Sauerstoff-induzierten Signaländerungen für die Anwendung am Menschen weiter zu entwickeln. Es sollten folgende Fragestellungen bearbeitet werden:

- *Vorbereitung.* Aufgrund der unterschiedlichen physiologischen Gegebenheiten lassen sich die Ergebnisse der Messungen an murinen Tumormodellen nicht direkt

auf den Menschen übertragen. Daher musste zunächst gezeigt werden, dass sich die Methode prinzipiell auch am Menschen anwenden lässt. In diesem Rahmen sollte auch evaluiert werden, welche Lokalisation für die weiteren Messungen am besten geeignet wäre.

- *Verwendung von reinem Sauerstoff.* Die Hyperoxie wird durch Gase mit hohen Sauerstoffkonzentrationen herbeigeführt. Die angewendeten Gase unterscheiden sich dabei in ihrem CO_2-Gehalt und reichen von Carbogen (95% O_2, 5% CO_2) bis zu reinem Sauerstoff (100% O_2). CO_2 dilatiert die Gefäße, der resultierende erhöhte Blutfluss kann die beobachteten Signaländerungen (ΔSI) dominieren. Wenn man die Veränderung der Oxygenierung in Tumoren beobachten will, ist dies nicht unbedingt erwünscht. Um therapeutisch die Tumoroxygenierung zu verbessern, reicht ein verstärkter Blutfluss nicht aus [The01]. Möglicherweise kann der Anteil an CO_2 gegenüber Carbogen verringert werden und die Oxygenierung in gleichem Maß verbessert werden [Pow99, Rob01]. Da auch von den Patienten das Atmen von Gasen, die mit CO_2 versetzt sind, als unangenehm empfunden wird [Rob01], wird sich die Verwendung von Gasen mit geringen CO_2-Anteilen in nächster Zeit verstärken. Es sollte untersucht werden, ob der von reinem Sauerstoff induzierte Kontrast für die Bildgebung ausreicht.

- *Entwicklung der Nachverarbeitung.* Die Signaländerungen, die durch die Atmung von reinem Sauerstoff induziert werden, sind relativ klein. Standard-Nachverarbeitungstechniken aus der fMRI sind auf die Detektion kleiner Signaländerungen ausgelegt. Ein Ziel der Arbeit war, diese Techniken für die Anwendung bei Experimenten mit Hyperoxie weiterzuentwickeln und anzupassen. Probandenmessungen dienten dazu, die Methoden zu evaluieren und zu optimieren. Wichtige Fragestellungen waren die Wahl des Paradigmas und die Festlegung einer Signifikanzschwelle. Ein weiterer Zweck der Probandenmessungen war, eine Referenz für das Signalverhalten in gesundem Gewebe zu erhalten.

- *Patientenmessungen.* Basierend auf den Erfahrungen der Probandenmessungen sollten Tumorpatienten untersucht werden. Zunächst war zu klären, ob sich die Signalintensität in nicht-betroffenem Gewebe genauso verhält wie bei den Probandenmessungen. Im Tumorgewebe sollten die Signaländerungen und die Charakteristika des Signalverlaufs bestimmt werden. Zusätzlich kann bei den Patienten mit einer dynamischen Kontrastmitteluntersuchung auch ein physiologischer Parameter erfasst werden. Durch die Gegenüberstellung von Kontrastmittel- und Sauerstoffuntersuchung sowohl in gesundem wie auch in Tumor-Gewebe läßt sich feststellen, ob mit der Sauerstoff-Untersuchung neue Informationen über den Tumor gewonnen werden können.

Kapitel 2

MR-Grundlagen

Die Nutzung elektromagnetischer Wellen zur Abbildung des Körperinneren ist durch die Absorption der Strahlung im Körper begrenzt. So kann Strahlung mit Wellenlängen im sichtbaren Bereich den Körper praktisch nicht durchdringen. Wie in Abbildung 2.1 gezeigt, gibt es im Wesentlichen zwei "Fenster" im Frequenzspektrum, die sich durch eine geringe körpereigene Absorption auszeichnen: ein Bereich bei sehr kleinen Wellenlängen ($< 10^{-10}$m, Röntgen- und Gammastrahlen) und ein Bereich bei relativ großen Wellenlängen ($>$ 10m, Radiofrequenzen). Wird Röntgen- und Gammastrahlung verwendet, läßt sich das Körperinnere mit optischen Methoden darstellen. Aufgrund der Unschärferelation ist die Auflösung einer optischen Abbildung durch die verwendete Wellenlänge limitiert. Nach Abbe's Gesetz gilt für den kleinsten noch auflösbaren Abstand Δx bei einer optischen Abbildung mit der Wellenlänge λ:

$$\Delta x \geq \frac{\lambda}{2} \tag{2.1}$$

Im Radiofrequenzbereich kann man daher keine optischen Effekte zur Körper-Darstellung nutzen. "The maximum radio-frequency useful for imaging is about 100MHz, leading to a resolution of 3m which is not sufficient even for imaging elephants."[Ern87]. Erst 1972 gelang es Paul C. Lauterbur, Radiowellen für die medizinische Bildgebung nutzbar zu machen. Er wandte dazu das im Jahre 1946 von Felix Bloch und Edward M. Purcell entdeckte Prinzip der magnetischen Kernresonanz (NMR, nuclear magnetic resonance) an. In der MR-Tomographie wird der Entstehungsort der elektromagnetischen Strahlung nicht mit optischen, sondern mit spektroskopischen Methoden detektiert: durch Magnetfeldgradienten werden unterschiedlichen Orten des abzubildenden Objekts unterschiedliche Frequenzen zugeordnet. Eine passende spektrale Analyse der Rohdaten (Fouriertransformation) liefert dann die Information über die räumliche Verteilung der Signalquellen (Wasserstoffprotonen).

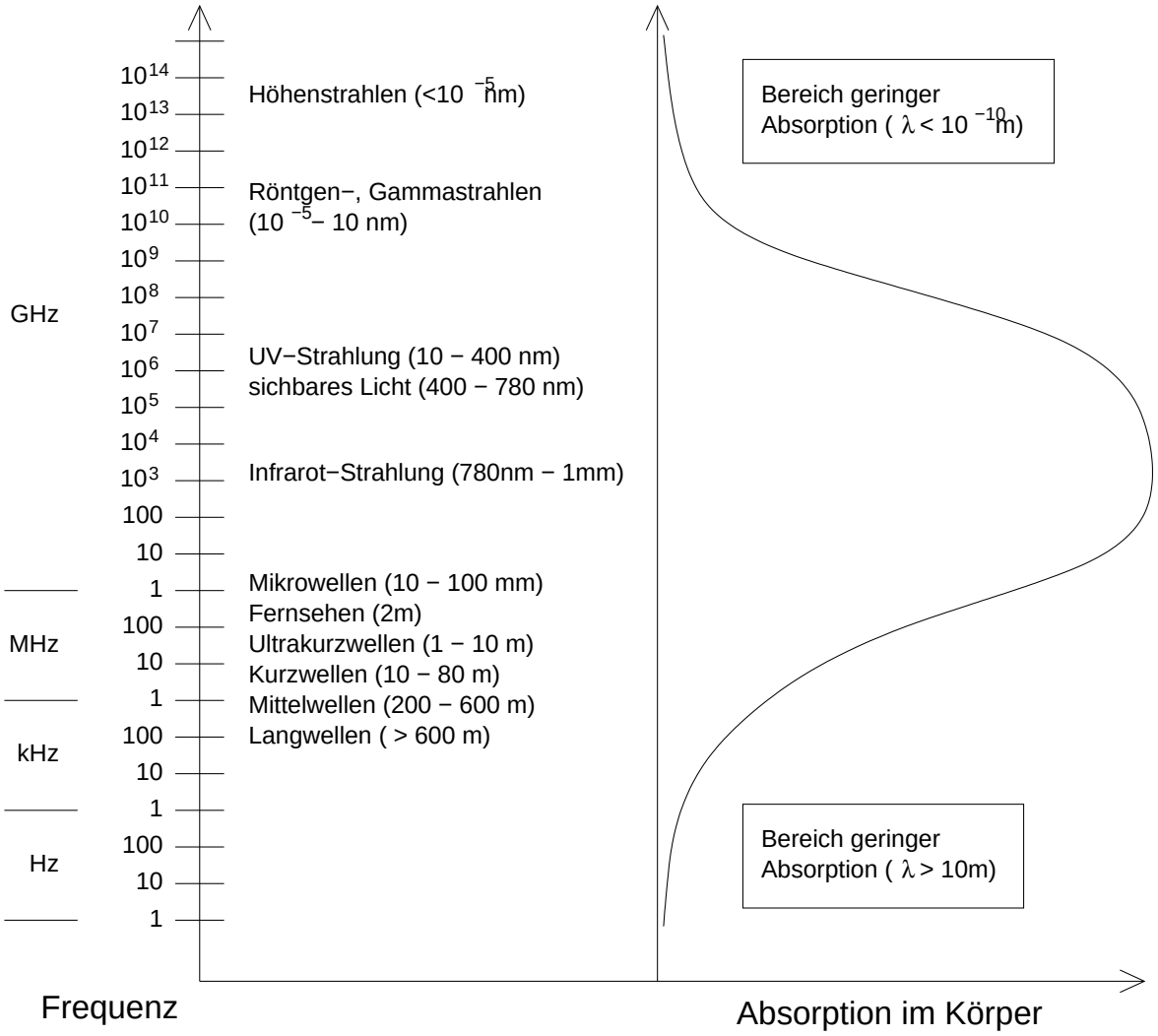


Abbildung 2.1.

Frequenzspektrum von em-Wellen. Oberhalb von Wellenlängen von $\lambda = 10m$ und unterhalb von $\lambda = 10^{-10}m$ ist der menschliche Körper für em-Wellen durchlässig, im dazwischenliegenden Frequenzbereich wird die Strahlung stark absorbiert. Dieser Bereich ist somit für die Bildgebung des Körperinneren nicht geeignet.

Kern	Spin	$\gamma/2\pi$ (MHz/T)	relatives natürliches Vorkommen	relative Empfindlichkeit	relative Signalintensität
^{1}H	1/2	42.58	0.9998	1	≈ 1
^{2}H	1	6.53	$1.5\ 10^{-4}$	$1.0\ 10^{-2}$	$1.5\ 10^{-6}$
^{13}C	1/2	10.70	0.011	$1.6\ 10^{-2}$	$1.76\ 10^{-4}$
^{14}N	1	3.08	0.9964	$1.0\ 10^{-3}$	$1.0\ 10^{-3}$
^{17}0	5/2	5.77	0.0004	$2.9\ 10^{-2}$	$1.1\ 10^{-5}$
^{19}F	1/2	40.08	1.0	0.8	0.8
^{23}Na	3/2	11.26	1.0	$9.3\ 10^{-2}$	$9.3\ 10^{-2}$
^{31}P	1/2	17.26	1.0	$6.6\ 10^{-2}$	$6.6\ 10^{-2}$

Tabelle 2.1. *Eigenschaften ausgewählter NMR-Kerne. Das relative natürliche Vorkommen multipliziert mit einer kernspezifischen Empfindlichkeit (Proton als Bezugsgröße mit 1 bewertet) ergibt die relative Signalintensität (bei gleicher Anzahl von Kernen und gleicher Feldstärke) als Maß für die NMR-Empfindlichkeit.*

2.1 Kernmagnetisierung

Aus der klassischen Elektrodynamik ist bekannt, dass geladene Teilchen mit einem Drehimpuls I ein magnetisches Moment

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I} \tag{2.2}$$

besitzen. γ ist das gyromagnetische Verhältnis, das umgekehrt proportional zur Masse ist. Eine große Anzahl von Atomkernen besitzt ein von Null verschiedenes magnetisches Moment, das in klassischer Sichtweise entsprechend Gleichung 2.2 als eine Art Eigendrehimpuls des Teilchens interpretiert werden kann. Quantenmechanisch sind $\vec{\mu}$ und $\vec{I}$ Operatoren, den Wert der z-Komponente von $\vec{\mu}$ bezeichnet man als Kernspin:

$$\mu = \gamma \hbar I \tag{2.3}$$

Prinzipiell eignen sich alle stabilen Kerne mit $I \geq 1/2$ für die NMR. Die Amplitude des MR-Signals ist aber abhängig von dem natürlichen Vorkommen des Isotops und der relativen MR-Empfindlichkeit des Kerns [1]. Daher kommen in der Praxis nur einige ausgewählte Kerne für die NMR in Frage (Tabelle 2.1). Für die Bildgebung am Menschen ist zusätzlich die Häufigkeit des Kerns im menschlichen Körper entscheidend. Außer in einigen Spezialanwendungen wird in der Medizin ^{1}H als signalgebender Kern genutzt.

[1] In die relative MR-Empfindlichkeit geht beispielsweise die Abhängigkeit des Signals von dem magnetischen Moment und damit von der Masse des Kerns ein.

Entscheidend für die Nutzung in der Bildgebung ist das Verhalten des Kernspins bei angelegtem äußeren Magnet-Feld. Ein magnetisches Feld $\vec{B}$ bewirkt eine Präzession des Kernspins um die Richtung von $\vec{B}$ und eine Aufspaltung der Energieniveaus des Kerns:

Kernspinpräzession Die Zeitentwicklung des ursprünglichen Kernzustandes kann quantenmechanisch mit Hilfe des Hamilton-Operators $\mathcal{H} = \gamma I_z B_z$ beschrieben werden. Für die zeitabhängige Wellenfunktion des Kernspins $\Psi(t)$ gilt [Sch97]:

$$\Psi(t) = \exp\left[-i\mathcal{H}t/\hbar\right]\Psi(0) = \exp\left[-i(\gamma B_z t)I_z/\hbar\right]\Psi(0) \tag{2.4}$$

Berechnet man damit die Erwartungswerte der Spinkomponenten $< S_x >$, $< S_y >$ und $< S_z >$ bei angelegtem äußeren Magnetfeld als Funktion der Zeit, erhält man als Ergebnis eine Präzession des Spins um das äußere Magnetfeld $\vec{B}$ mit der Larmor-Frequenz $\omega_L = \gamma B$ (eine detaillierte Herleitung findet sich beispielsweise in [Sch97]).
Zu demselben Ergebnis kommt man in der etwas anschaulicheren klassischen Betrachtung über die Lösung der Bewegungsgleichung

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} \overset{(a)}{=} \gamma\frac{d\vec{I}}{dt} \overset{(b)}{=} \gamma\vec{D} \overset{(c)}{=} \gamma\vec{\mu}\times\vec{B} \tag{2.5}$$

Der Zusammenhang (a) zwischen magnetischem Moment und Drehimpuls wurde bereits in Gleichung 2.2 hergestellt, die zeitliche Änderung eines Drehimpulses entspricht nach der klassischen Mechanik dem Drehmoment (b). Nach der klassischen Elektrodynamik erfährt ein magnetisches Moment in einem Magnetfeld ein Drehmoment, das genau dem Vektorprodukt beider entspricht (c). Die Lösung von 2.5 führt zu der gleichen Präzessionsbewegung mit der Frequenz ω_L, wie sie aus dem quantenmechanischen Zeitentwicklungsoperator 2.4 hergeleitet werden kann.

Niveauaufspaltung Die magnetische Wechselwirkung verursacht nicht nur eine zeitliche Veränderung des ursprünglichen Kernzustandes, sondern hat auch eine energetische Aufspaltung der Zustände zur Folge. Die Wechselwirkungsenergie zwischen einem magnetischen Moment $\vec{\mu}$ und einer magnetischen Flussdichte $\vec{B}$ ist gegeben durch:

$$E_{magn} = -\vec{\mu}\vec{B} \tag{2.6}$$

Quantenmechanisch gibt es wegen der Richtungsquantisierung keine kontinuierliche Verteilung der Winkel zwischen $\vec{\mu}$ und $\vec{B}$ und damit auch keine kontinuierliche Verteilung der Energie. Die Kernniveaus spalten in 2I+1 äquidistante Zustände auf mit dem Abstand:

$$\Delta E = \hbar\gamma B = \hbar\omega_L \tag{2.7}$$

mit der bereits eingeführten Lamorfrequenz ω_L. Für Protonen (I=1/2) ergeben sich zwei mögliche Unterzustände, die entsprechend ihrer Lage relativ zum Magnetfeld als Spin-Up (↑ Spin parallel zum Magnetfeld) und Spin-Down (↓ Spin anti-parallel zum Magnetfeld) bezeichnet werden.
Die Unterzustände sind im thermischen Gleichgewicht entsprechend der Boltzmann-Verteilung

$$\frac{N_\downarrow}{N_\uparrow} = \exp(-\frac{\Delta E}{k_b T}) = \exp(-\frac{\hbar\gamma B_0}{k_b T}) \tag{2.8}$$

besetzt. Für Protonen ist bei Raumtemperatur ($T = 300\text{K}$) der energetisch günstigere Zustand (Spin parallel zum Feld) 10^{-7} mal häufiger besetzt. Damit addieren sich die Spins in z-Richtung zu einer makroskopischen Magnetisierung M_z. Die einzelnen Spins präzedieren mit der Larmor-Frequenz ω_L, jedoch ohne Phasenbeziehung, d.h. ihre Lage relativ zueinander ist willkürlich. Anschaulich sind alle Spins auf dem Kegelmantel der Präzessionsbewegung gleichmäßig verteilt, wie in Abbildung 2.2 dargestellt. Daraus folgt, dass sich alle Komponenten senkrecht zu $\vec{B}$ herausmitteln und damit ist im Gleichgewichtszustand $M_x = M_y = 0$.

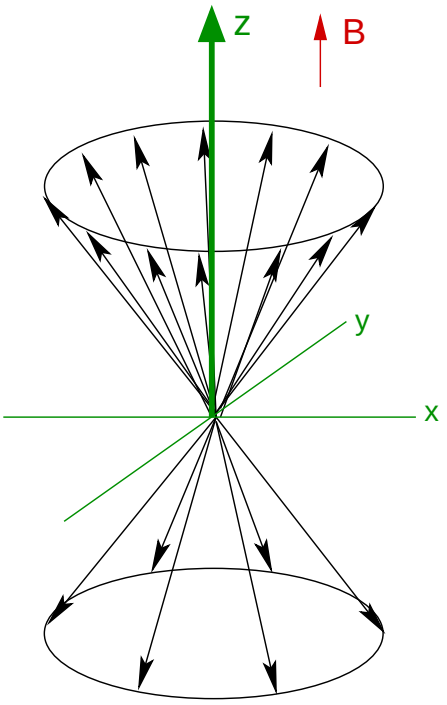


Abbildung 2.2.
Präzession einer Gruppe von identischen Kernen mit $I = 1/2$ im thermischen Gleichgewicht. Es befinden sich mehr Kerne im energetisch günstigeren Spin-Up Zustand (Spin parallel zum Magnetfeld, entsprechend dem oberen Kegelmantel). Daraus resultiert eine makroskopische Magnetisierung M_z in z-Richtung. Durch die statistische Verteilung in der xy-Ebene sind die Komponenten entlang der x- und der y-Achse Null.

2.2 Bloch-Gleichungen

Wird die makroskopische Magnetisierung $\vec{M}$ aus ihrer Gleichgewichtslage in Richtung des Magnetfeldes ausgelenkt, so beschreibt sie entsprechend dem einzelnen Spin eine

Präzessionsbewegung:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \left(\vec{M} \times \vec{B} \right) \tag{2.9}$$

In einer in der x-y-Ebene liegenden Empfängerspule wird durch den rotierenden Magnetisierungsvektor Spannung induziert, die als MR-Signal gemessen werden kann.
Die Auslenkung erfolgt durch Anlegen eines magnetischen Wechselfeldes $\vec{B}_1(t)$ in der x-y-Ebene senkrecht zu B_0. Der Anteil des Feldes, der in Umlaufrichtung und Frequenz mit der Spinpräzession übereinstimmt, zwingt den Spins einen phasengleichen Umlauf auf (Abbildung 2.3). Diese kohärente Präzession der Spins führt zu der von Gleichung 2.9 beschriebenen rotierenden Quermagnetisierung $\vec{M}_{xy}$. Gleichzeitig werden Übergänge zwischen den beiden Zuständen $<\uparrow>$ und $<\downarrow>$ induziert. In der Summe werden dabei mehr Spins aus der parallelen in die antiparallele Orientierung überführt wie umgekehrt (Abbildung 2.3). Dies entspricht einer Störung der Boltzmann-Verteilung durch Energieaufnahme aus dem magnetischen Wechselfeld.

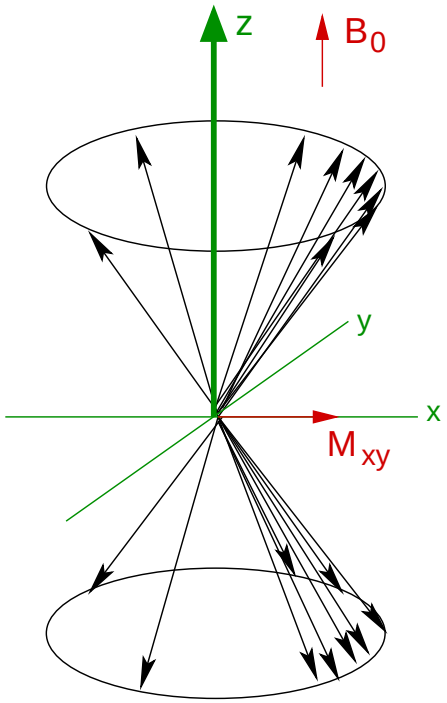


Abbildung 2.3.
Durch die Anregung mit einem magnetischen Wechselfeld B_1 werden Spinübergänge zwischen dem Up- und Down-Zustand induziert. Nach einem 90°-Puls sind beide Zustände gleich besetzt. Gleichzeitig wird den Spins ein phasengleicher Umlauf aufgezwungen, der zu einer makroskopischen Quermagnetisierung M_{xy} führt, die als MR-Signal gemessen werden kann. Durch Spin-Spin-Wechselwirkung geht diese Phasenkohärenz mit der charakteristischen Zeit T_2 verloren.

Gleichung 2.9 beschreibt nur die Präzession und nicht die Tendenz der Magnetisierung, nach Abschalten des Zusatz-Feldes in ihre Gleichgewichtslage (Boltzmannverteilung) zurückzukehren, was als Relaxation bezeichnet wird.
Phänomenologisch kann man Relaxation durch Ratengleichungen ansetzen, d.h. die Änderung der Magnetisierung ist proportional zur Abweichung vom Gleichgewichtswert $M_z = M_0$ und $M_x = M_y = 0$. Man macht folgenden Ansatz [Blo46]:

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1} \qquad \text{und} \tag{2.10}$$

$$\frac{dM_{xy}}{dt} = -\frac{M_{xy}}{T_2} \tag{2.11}$$

longitudinale Relaxation T_1 bezeichnet man als longitudinale oder Spin-Gitter-Relaxationszeit. M_z kehrt exponentiell zu dem Gleichgewichtswert M_0 zurück, die Überschussenergie wird über thermische Prozesse an die Umgebung, die als Gitter bezeichnet wird, abgegeben. Die Spins verteilen sich wieder entsprechend der Boltzmann-Verteilung auf die Spin-Up und Spin-Down Zustände.

transversale Relaxation In dem $\vec{B}_1$-Feld präzedieren die Spins in Phase mit resultierender Quermagnetisierung $\vec{M}_{xy}$. Ohne das $\vec{B}_1$-Feld geht diese Phasen-Kohärenz mit der Relaxationszeit T_2 verloren, und die Spins verteilen sich wieder gleichmäßig auf dem Präzessionskegel. Die transversale Magnetisierung fällt auf Null ab.

Die Blochgleichungen, die die zeitliche Änderung der Magnetisierung beschreiben, kombinieren die freie Bewegungsgleichung 2.9 mit den Relaxationstermen 2.10 und 2.11:

$$\begin{aligned} \frac{dM_x}{dt} &= \gamma M_y B_0 - \frac{M_x}{T_2} \\ \frac{dM_y}{dt} &= -\gamma M_x B_0 - \frac{M_y}{T_2} \\ \frac{dM_z}{dt} &= -\frac{(M_z - M_0)}{T_1} \end{aligned} \tag{2.12}$$

2.3 Ortsauflösung

Als MR-Signal wird die Summe aller Signalbeiträge aus dem ganzen Objekt detektiert. Wie am Anfang des Kapitels beschrieben, eignen sich optische Methoden nicht, um das Signal nach verschiedenen Herkunftsorten zu trennen. Stattdessen nutzt man aus, dass die Larmor-Frequenz von der Stärke des Magnetfeldes abhängt. Durch eine Variation der Magnetfeldstärke entlang der 3 Raumachsen wird die Resonanzfrequenz der Protonen abhängig von ihrer Lage im Raum. Diese Methode wurde 1973 von Lauterbur [Lau73] und Mansfield [Man73] unabhängig voneinander vorgeschlagen.

2.3.1 Schichtselektion

Durch das Hochfrequenz-Wechselfeld $\vec{B}_1$ werden nur Protonen angeregt, deren Spins in Resonanz mit der eingestrahlten Wellenlänge stehen. Um die Anregung auf eine einzelne Schicht zu begrenzen, wird dem Grundmagnetfeld $\vec{B}_0$ ein zusätzliches Magnetfeld überlagert, dessen Stärke entlang der z-Achse variiert. Dadurch variiert auch

die Resonanzfrequenz ω_L der Protonen entlang der z-Achse mit

$$\omega(z) = \gamma \left(B_0 + z \frac{\mathrm{d}G}{\mathrm{d}z} \right) \tag{2.13}$$

Wird das Frequenzspektrum des eingestrahlten HF-Pulses auf eine Bandbreite $\Delta\omega$ begrenzt, werden die Spins nur in der Schicht Δz angeregt, in der die Resonanzfrequenz $\omega(z)$ im Bereich dieser Bandbreite liegt:

$$\Delta z = \frac{\Delta\omega}{\gamma \, \mathrm{d}G/\mathrm{d}z} \tag{2.14}$$

Nur aus dieser Ebene stammt damit auch das anschließend detektierte MR-Signal.

2.3.2 Frequenzkodierung

Allerdings spiegelt das Signal immer noch die Summe aller Spins innerhalb der angeregten Ebene wieder. Die verbleibende Lokalisation in der x-y-Ebene wird über die Frequenz- und Phasenkodierung erreicht. Beide Methoden sind eng miteinander verknüpft (Abschnitt 2.3.3). Bei der Frequenzkodierung wird ein Magnetfeld-Gradient während der Signalauslese geschaltet. Der Gradient zeigt innerhalb der Schicht in eine Richtung, üblicherweise als x-Achse bezeichnet. Die Präzessionsfrequenz $\omega(x)$ variiert entlang der x-Achse:

$$\omega(x) = \gamma \left(B_0 + x \frac{\mathrm{d}G}{\mathrm{d}x} \right) \tag{2.15}$$

Wird das gemessene Signal $S(t)$ Fourier-transformiert nach $S(\omega)$, entspricht wegen $\omega = \omega(x)$ der Signalanteil einer Frequenz ω direkt einer bestimmten Position x auf der x-Achse.

2.3.3 Phasenkodierung

Um auch in y-Richtung eine Ortsinformation zu erhalten, wird vor der Auslese die Phase der Spins abhängig von der Position auf der y-Achse verschoben. Dazu wird vor dem Schalten des Frequenzkodier-Gradienten für kurze Zeit ein Gradient in y-Richtung angelegt. Mit diesem Gradienten präzedieren die Spins entlang der y-Achse mit unterschiedlichen Winkelgeschwindigkeiten, so dass sie beim Abschalten des Gradienten unterschiedliche Phasenwinkel zurückgelegt haben. Anschließend wird das Signal ausgelesen, die y-Position der Signalquelle ist als Phasenlage kodiert. Für eine eindeutige Rekonstruktion des Bildes muss das Experiment mit variierender Phasenkodierung wiederholt werden, für eine Auflösung von 256 Zeilen benötigt man 256 Wiederholungen. Betrachtet man beispielsweise eine punktförmige Signalquelle an der Position (x_1, y_1),

so wird das aufgenommene Signal nur eine einzelne Frequenzkomponente $\omega(x_1)$ besitzen. Verlängert man die Zeit, die der Phasenkodier-Gradienten eingeschaltet bleibt, bei jedem Aufnahme-Schritt um t_0, wird das Signal in Schritt n um

$$\Delta\phi(y_1) = \omega(y_1)t_0 n \tag{2.16}$$

phasenverschoben. Die Phase ändert sich also bei jedem Schritt um denselben Betrag $\omega(y_1)t_0$. Im oberen Teil von Abbildung 2.4 entspricht das der Verschiebung des aufgenommenen Sinus-Signals von Zeile zu Zeile.

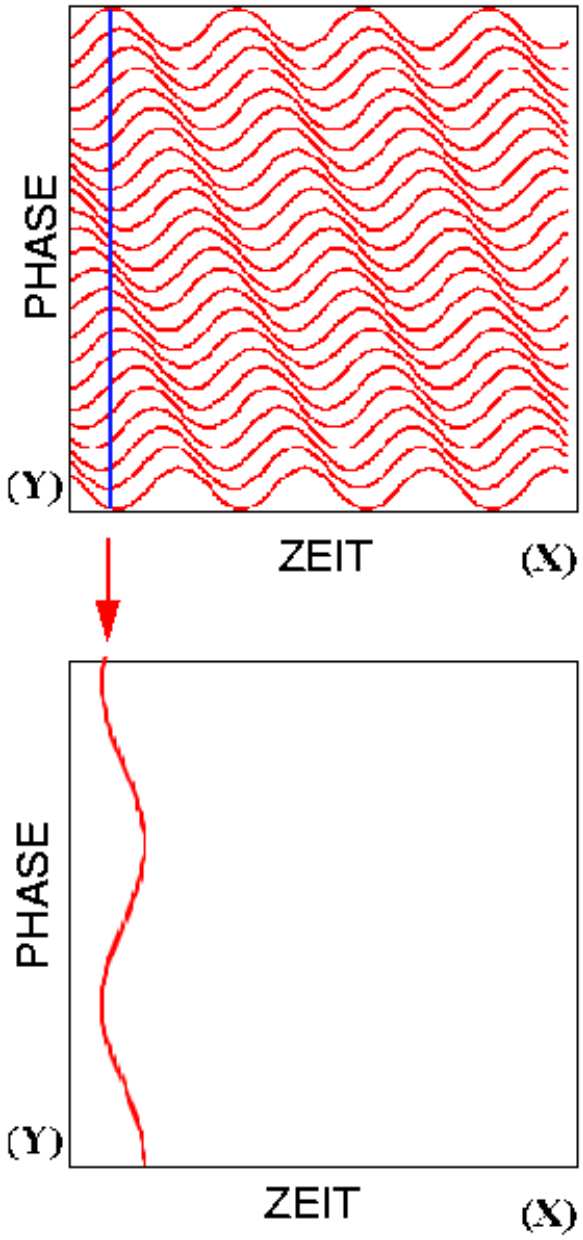


Abbildung 2.4.
Zur Erklärung der Phasenkodierung: Eine punktförmige Signalquelle an der Position (x_1, y_1) führt zu einem MR-Signal mit einer einzigen Frequenzkomponente $\omega(x_1)$, in der Abbildung als sinusförmiges Signal dargestellt. Dieses Signal wird phasenkodiert, d.h. durch einen Gradienten in y-Richtung wird dem Signal vor der Auslese eine Phase abhängig von der y-Position der Quelle aufgeprägt. Das Experiment wird mit zunehmender Stärke der Phasenkodierung wiederholt, entsprechend wird die Phasenlage des Signals immer weiter verschoben (oberer Teil).
Betrachtet man die Signalstärke der einzelnen Experimente zu einem bestimmten Zeitpunkt (blaue Linie), erhält man in Phasenkodierrichtung ein sinusförmiges Signal mit $\omega(y_1) = \gamma\left(B_0 + y_1 \frac{dG}{dy}\right)$ (unterer Teil). Auch in y-Richtung ist das Signal also über eine Frequenz kodiert und läßt sich mittels Fourier-Transformation entschlüsseln. (Erweiterung von Abbildung 11.6.2 aus [Hor03])

Vom Prinzip her funktioniert die Phasenkodierung nicht anders als die Frequenzkodierung. Auch in Frequenzkodierrichtung wird das Signal nicht kontinuierlich aufge-

nommen, sondern mit einer bestimmten Frequenz gesampelt. Zwischen diesen Sample-Punkten erfährt das Signal eine Phasenverschiebung, die vom Prinzip her der Phasenverschiebung durch das kurzzeitige Anschalten des Phasenkodiergradienten zwischen der Aufnahme zweier Zeilen entspricht. Anschaulich wird dies, wenn man die aufgenommene Signalintensität für jeden Phasenkodierschritt zu einem bestimmten Zeitpunkt betrachtet, also die aufgenommenen Signalkurven wie in Abbildung 2.4 in Phasenkodierrichtung "schneidet". Das Signal variiert mit einer Frequenz $\omega(y_1)$, die von der Phasenverschiebung $\Delta\phi(y_1)$ zwischen den einzelnen Kodierungsschritten abhängt. Auch in y-Richtung ist das Signal also über eine Frequenz kodiert und lässt sich mittels Fourier-Transformation entschlüsseln.
Betrachtet man einen anderen Punkt (x_1, y_2), der sich nur in seiner y-Position von dem ersten Punkt unterscheidet (Abbildung 2.5, links), ändert sich nichts an der Frequenz des aufgenommenen Signals, nur die Phasenverschiebung zwischen den einzelnen Schritten ist größer oder kleiner geworden (Abbildung 2.5, Mitte). "Schnitte" in Phasenkodierrichtung zeigen also eine andere Frequenz $\omega(y_2)$ (Abbildung 2.5, rechts).

2.3.4 Bildrekonstruktion

Wie erläutert unterscheidet sich die Signalkodierung in x- und in y-Richtung im Prinzip nicht. Information über die Verteilung der Signalquellen lässt sich durch eine zweidimensionale Fouriertransformation aus dem aufgenommenen Frequenz- und Phasenkodierten Signal gewinnen. Den Raum der Signalaufnahme bezeichnet man auch als k-Raum.
In der Praxis gibt es allerdings einen entscheidenden Unterschied zwischen Frequenz- und Phasenkodierung. In Frequenzkodierrichtung ist die Zeit zwischen zwei Sample-Punkten, also zwischen zwei Phasenverschiebungen innerhalb einer Zeile, sehr kurz. Dagegen vergeht zwischen der Aufnahme einzelner Zeilen eine gewisse Zeit bis zum nächsten Phasenkodierschritt. Daher machen sich beispielsweise Pulsationsartefakte immer nur in einer Richtung bemerkbar und lassen sich durch Vertauschen der Frequenz- und der Phasenkodierrichtung verkippen, so dass sie unter Umständen nicht mehr störend wirken.

2.4 EPI-Sequenz

Die meisten Sequenzen regen die Magnetisierung vor jedem Phasenkodierschritt neu an (siehe z.B. [Rei92]). Soll T_1 keinen Einfluss auf die gemessene Signalintensität haben, muss vor jeder neuen Anregung die Magnetisierung erst auf ihren Gleichgewichtswert $M_z = M_0$ relaxieren. Bei typischen T_1-Zeiten im Bereich von 1 s muss mindestens 5 Sekunden bis zum nächsten Phasenkodierschritt gewartet werden. Die Akquisition einer einzelnen Schicht dauert somit mehrere Minuten. Zur Darstellung zeitlicher Verände-

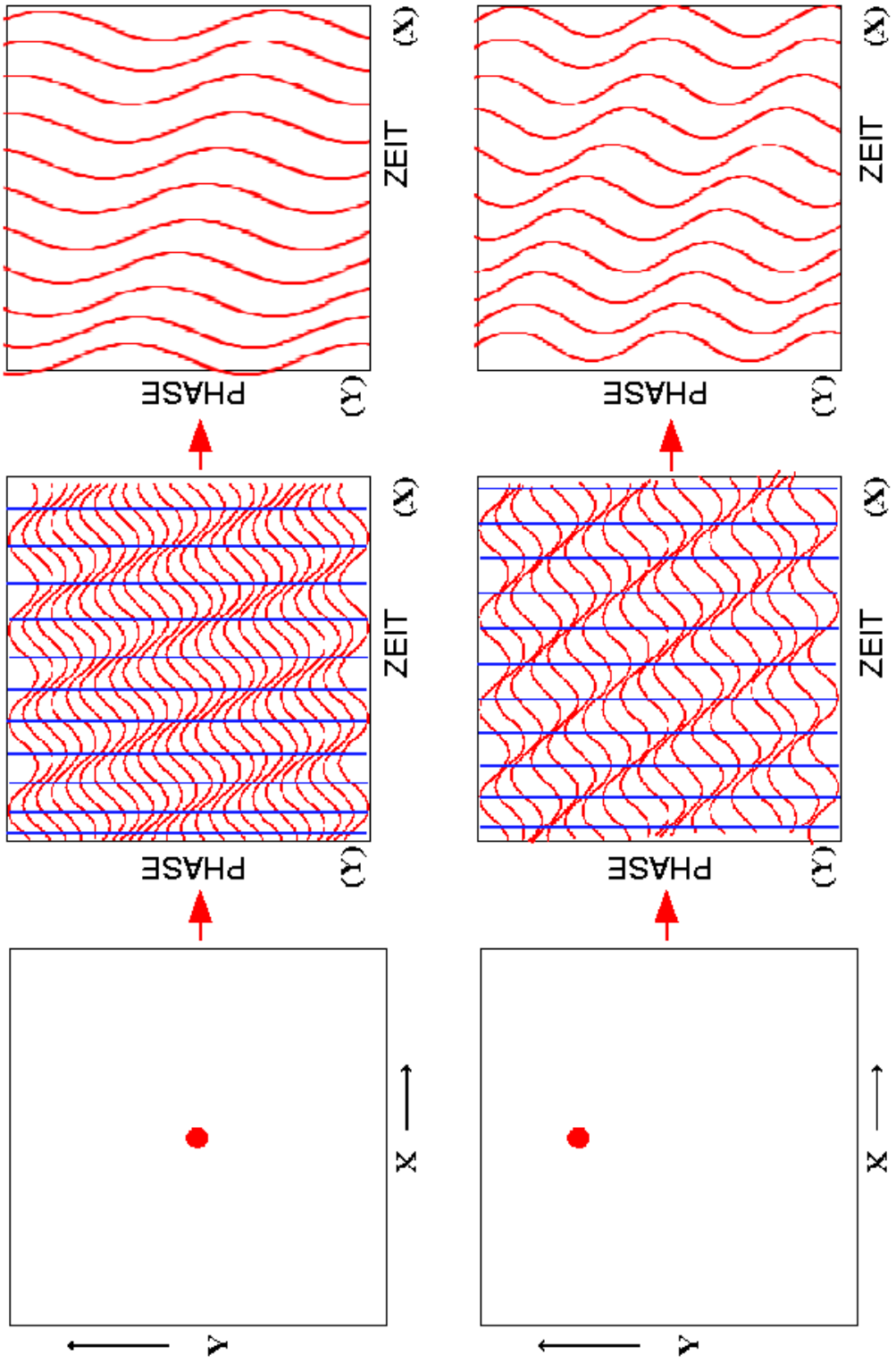


Abbildung 2.5.
MR-Signal zweier punktförmiger Quellen mit unterschiedlicher Position in Phasenkodier-Richtung (links). Die Frequenz des aufgenommenen MR-Signals ist gleich, nur die Phasenverschiebung zwischen den einzelnen Schritten ändert sich (Mitte). "Schnitte" in Phasenkodierrichtung zeigen für beide Punkte unterschiedliche Frequenzen (rechts), die Phasenverschiebung zwischen diesen Schnitten ist gleich. (Erweiterung von Abbildung 11.6.2 aus [Hor03])

rungen eignet sich so ein Vorgehen nur bedingt, für die Darstellung des Einflusses eines Atemgas-Wechsels in dieser Arbeit musste eine zeitliche Auflösung im Sekunden-Bereich gefordert werden.
In schnellen Bildgebungsverfahren werden nach jeder Anregung mehrere Phasenkodierschritte aufgenommen. Wird der gesamte k-Raum nach einer einzigen Anregung abgetastet, spricht man von einer Single-Shot Sequenz. Bei Gradienten-Echo Sequenzen wird das Signal nicht zwischen jedem Auslese-Schritt refokussiert (Spin-Echo-Sequenz), sondern nur die Phasenverschiebung durch die Gradienten selbst ausgeglichen. Dadurch werden Phasenverschiebungen, die durch lokale Magnetfeldinhomogenitäten ΔB bedingt sind, nicht ausgeglichen. Die Spins verlieren ihre Phasenkohärenz schneller mit der charakteristischen Zeit T_2^*:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma \Delta B \tag{2.17}$$

Den lokalen Magnetfeldinhomogenitäten liegen lokale Unterschiede in der Suszeptibilität zugrunde. Die Größe ΔB entspricht der Halbwertsbreite einer Lorenzkurve, die die Suszeptibilitätsvariationen innerhalb eines Voxels beschreibt [Wie98]. GE-Sequenzen wie EPI (Echo-Planar-Imaging [Man77]) sind daher für Anwendungen prädestiniert, in denen der Kontrastmechanismus auf lokalen Suszeptibilitätsvariationen und damit auf T_2^* beruht. Eine solche Anwendung ist der in Abschnitt 3 beschriebene BOLD-Effekt. T_2^* für weiße Substanz in der Nähe der Sinus liegt in der Größenordnung von 8ms. Die Zeit für die Auslese des Echozuges sollte damit so kurz wie möglich gehalten werden. Bei der EPI-Sequenz werden die Gradienten so schnell oszilliert, dass der gesamte k-Raum in etwa 30-200 ms durchlaufen wird [Wie98].
Das prinzipielle Sequenzschema zeigt Abbildung 2.6 (a): Nach der Auslenkung der Spins in einer Schicht mit dem Winkel α oszilliert der Auslese-Gradient zwischen $+G_x$ und $-G_x$. Bei jedem Übergang zwischen diesen beiden Werten wird G_y kurz geschaltet ("blipped EPI") und die Phasenverschiebung in y-Richtung damit schrittweise erhöht. Durch die Auslese des Signals bei abwechselnd positivem und negativem G_x wird der k-Raum abwechselnd in beiden Richtungen durchlaufen (Abbildung 2.6 b). Die hohen Anforderungen, die dieses Sequenz-Schema an die Gradienten-Hardware stellt, ließen eine Realisation nicht vor 1985 zu (von Advanced NMR Systems und der University of Nottingham). In Varianten der Technik wird ein konstanter Phasenkodier-Gradient während dem gesamten Auslese-Zyklus geschaltet oder der Auslese-Gradient sinusförmig oszilliert, was die Realisation schnellerer Gradienten-Schaltungen vereinfacht. Bei diesen Varianten wird der k-Raum nicht mehr gleichförmig durchlaufen, was bei der Bildrekonstruktion berücksichtigt werden muss.

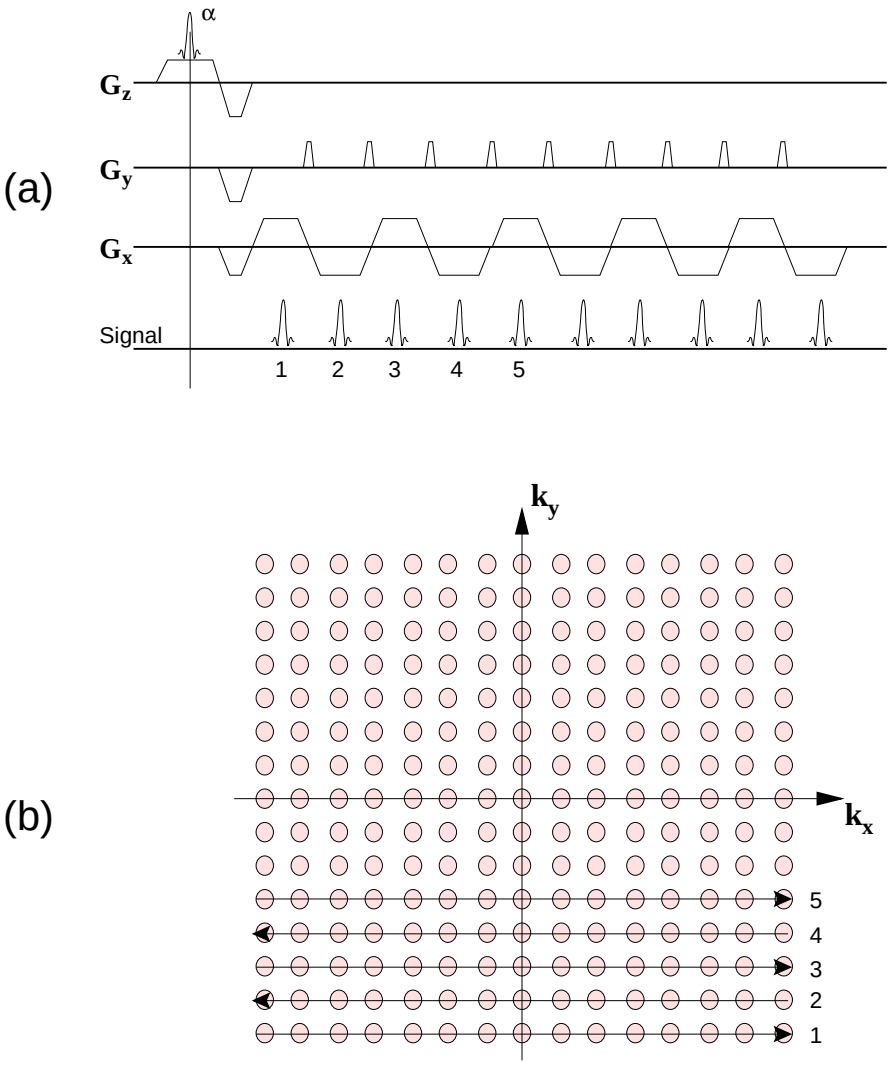


Abbildung 2.6.
Schema der EPI-Sequenz (a) und k-Raum (b). Durch die Auslese des Signals bei abwechselnd positivem und negativem G_x wird der k-Raum abwechselnd in beiden Richtungen durchlaufen. Da die Spins nach der Anregung α nicht refokussiert werden, hängt die gemessene Signalintensität auch von den statischen lokalen Magnetfeldinhomogenitäten ΔB ab, wie sie durch Suszeptibilitätsunterschiede hervorgerufen werden.

Kapitel 3

Der BOLD-Effekt

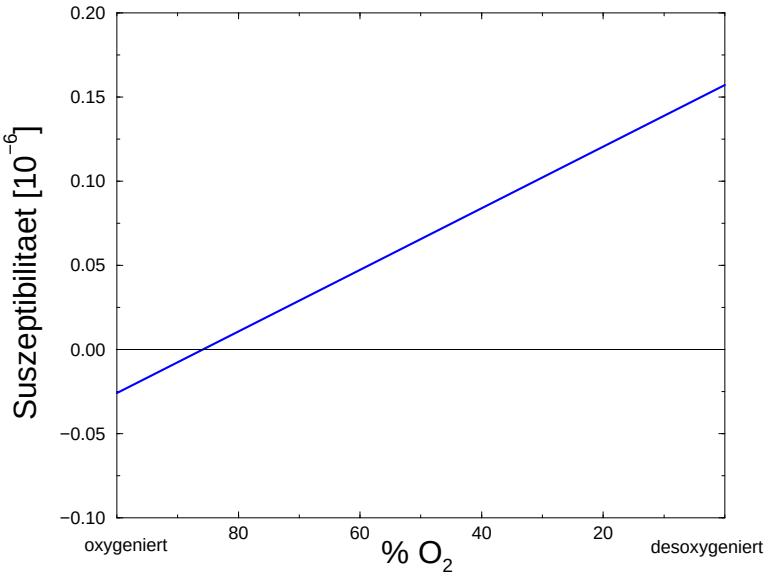


Abbildung 3.1.
Suszeptibilität von Hämoglobin in Abhängigkeit von dem Oxygenierungszustand. Während oxygeniertes Hämoglobin leicht diamagnetisch ist, ist desoxygeniertes Hämoglobin paramagnetisch und verstärkt damit ein lokales Magnetfeld [Wei92].

Wie in Abschnitt 2.4 beschrieben, sind Gradienten-Echo-Verfahren wie die EPI-Sequenz besonders empfindlich für lokale Inhomogenitäten des Magnetfeldes. Da die Suszeptibilität des Blutes von dem Oxygenierungszustand des Hämoglobins abhängt [Pau36], können Änderungen der Blutsättigung mit Gradienten-Echo Sequenzen dargestellt werden. In guter Näherung besteht zwischen der Sauerstoff-Sättigung des Hämoglobins und der Suszeptibilität ein linearer Zusammenhang (Abbildung 3.1). Während oxygeniertes Hämoglobin leicht diamagnetisch ist, ist desoxygeniertes Hämoglobin paramagnetisch und verstärkt damit ein lokales Magnetfeld.

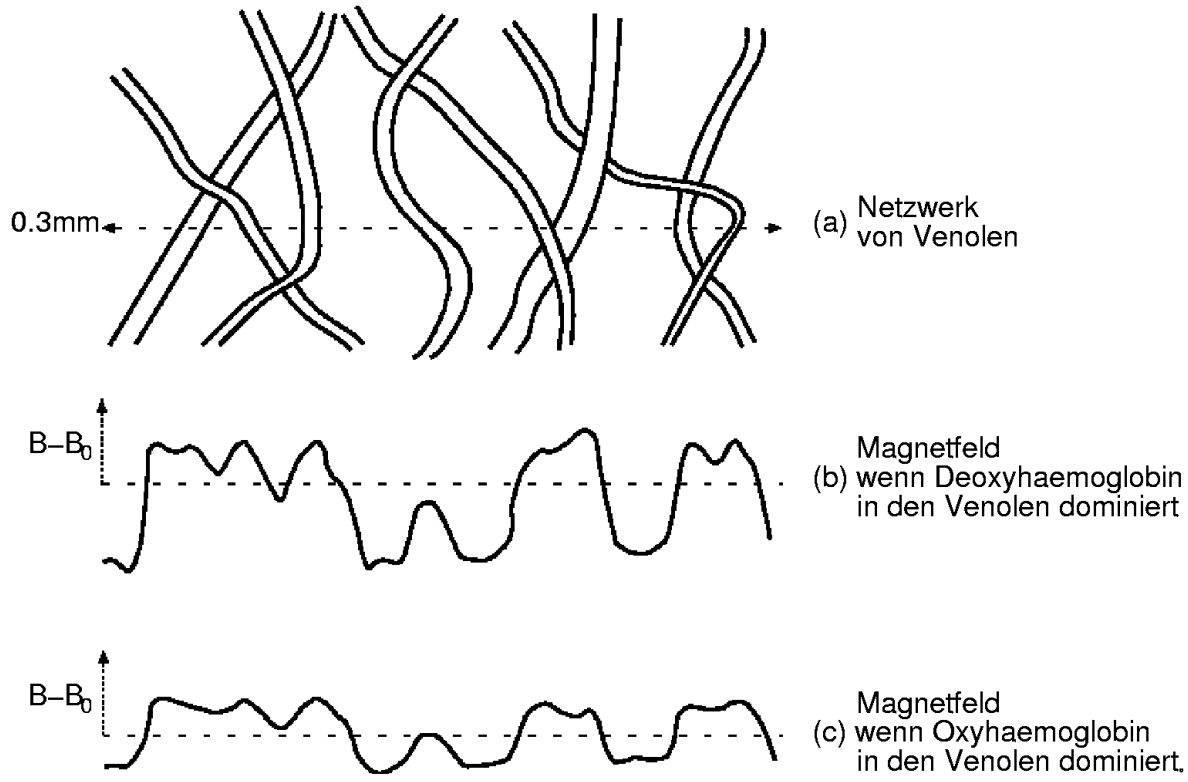


Abbildung 3.2. *Aus [Cox00].*
Der BOLD-Effekt lässt sich anschaulich darstellen, wenn man die Querverteilung des Magnetfeldes B in einem Voxel betrachtet, das ein Netzwerk von Venolen enthält (a). Herrscht Desoxyhämoglobin vor, wird das Magnetfeld in den Venolen zusätzlich verstärkt, B schwankt stark zwischen Gefäßen und Gewebe (b). Dagegen ist das lokale Magnetfeld wesentlich homogener, wenn Oxyhämoglobin in den Venolen dominiert (c). Die Spins verlieren ihre Phasenkohärenz nicht so schnell und das aufgenommene GE-Signal ist größer.

Anschaulich lässt sich die Auswirkung dieses Zusammenhanges auf die Bildgebung anhand eines Netzwerks von Venolen darstellen, das in einem Voxel mit etwa 0.3mm Kantenlänge liegt (Abbildung 3.2, a). Gewebe und Gefäße haben unterschiedliche Suszeptibilitäten, so dass das Magnetfeld bei einem Querschnitt durch den Voxel nicht konstant ist, sondern abhängig von den lokalen Verhältnissen variiert. Wenn desoxygeniertes Hämoglobin in den Venolen vorherrscht, wird das Magnetfeld an den Stellen, an denen sich die Gefäße befinden, zusätzlich verstärkt und die Schwankungen fallen besonders groß aus (Abbildung 3.2, b). Wenn das Blut dagegen vollständig mit Sauerstoff gesättigt ist, mindert das diamagnetische oxygenierte Hämoglobin die Suszeptibilitätsunterschiede zum benachbarten Gewebe und die Schwankungen fallen deutlich niedriger aus (Abbildung 3.2, c). Die Präzessionsgeschwindigkeiten der einzelnen Spins hängen von dem lokal vorherrschenden Magnetfeld ab (siehe Kapitel 2). Wenn innerhalb eines Aufnahme-Voxels die Suszeptibilität des darzustellenden Objektes stark schwankt, verlieren die Spins schnell ihre Phasenkohärenz. Die Signalintensität in solchen Voxeln ist wesentlich geringer als in Voxeln mit kleinen Suszeptibilitäts-Schwankungen. Änderungen im Oxygenierungszustand des Blutes lassen sich auf diese Weise darstellen.

3.1 Funktionelle Bildgebung

Der BOLD-Effekt lässt sich nutzen, um lokale neuronale Aktivitäten des Gehirns darzustellen. Die wesentlichen Abhängigkeiten sind in Abbildung 3.3 dargestellt [Spr99]. Wird durch einen äußeren Reiz Aktivität in einer bestimmten Hirnregion stimuliert, führt das lokal zu einem Anstieg des Sauerstoff-Metabolismus (a). Der erhöhte Verbrauch von Sauerstoff durch die aktivierten Zellen reduziert den relativen Anteil an oxygeniertem Hämoglobin (b). Allerdings resultiert daraus keine lokal gesenkte Sättigung des Blutes. Denn gleichzeitig erweitern sich in der stimulierten Region die Gefäße, wodurch der cerebrale Blutfluss (CBF) und das Blutvolumen (CBV) ansteigen (c,d). Durch den Anstieg des Blutflusses wird vermehrt oxygeniertes Hämoglobin angeliefert (e). Insgesamt wird der Mehrverbrauch an Sauerstoff durch den erhöhten Blutfluss überkompensiert, so dass die Blutsättigung insgesamt in aktivierten Regionen ansteigt. Wie am Anfang des Kapitels erläutert nehmen dadurch Magnetfeldinhomogentitäten innerhalb einzelner Voxel ab (f), die T_2^*-Zeit verlängert sich (g) und man misst eine höhere Signalintensität (h). Dieser Zusammenhang wird als BOLD-Kontrast bezeichnet. Oft wird beobachtet, dass die Signalintensität nach Einsetzen des Stimulus zunächst leicht abnimmt. Dies wird im Allgemeinen darauf zurückgeführt, dass die Zellen instantan mehr Sauerstoff verbrauchen, der Blutfluss sich aber erst mit leichter Verzögerung erhöht. Allerdings führt der erhöhte Blutfluss auch dazu, dass mehr ungesättigte Spins in die Abbildungsebene fließen (i), was einen gegenläufigen Effekt auf die Signalintensität hat (j,k). Dieser Inflow-Effekt kann gegenüber dem BOLD-Effekt

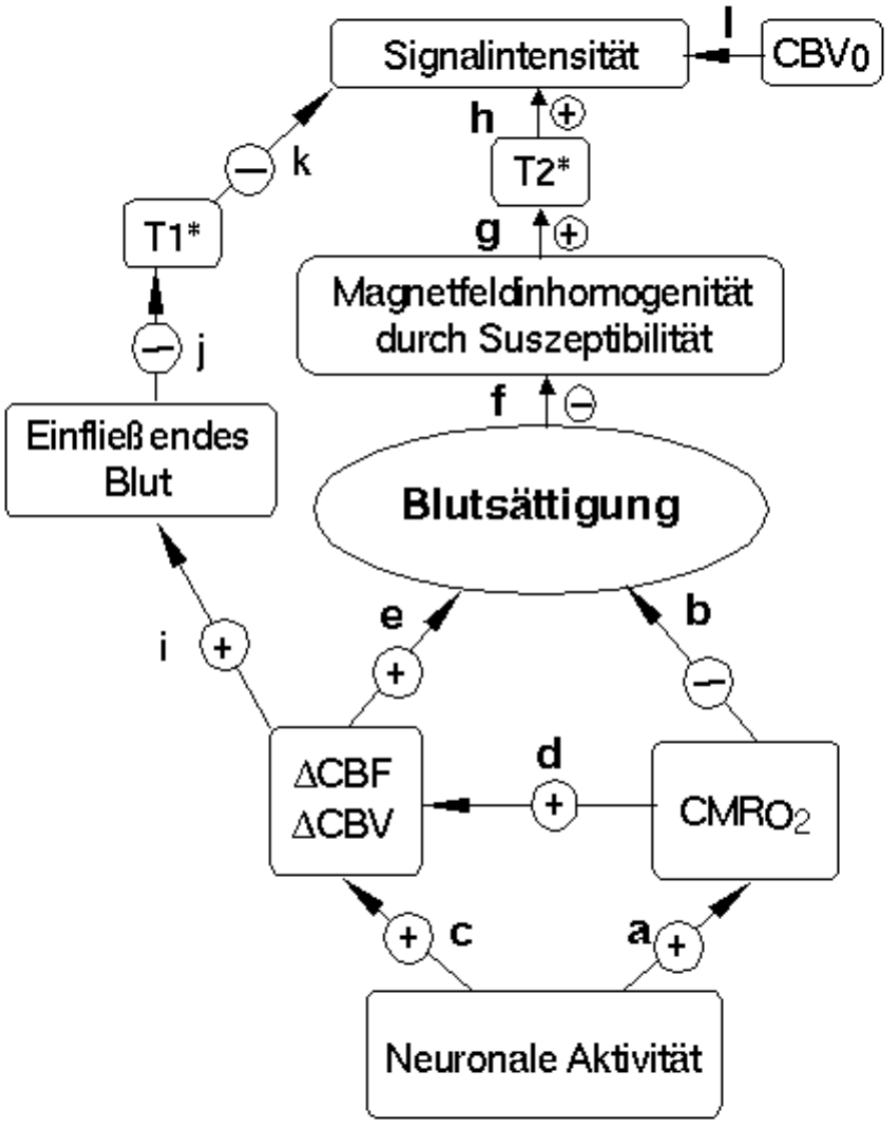


Abbildung 3.3. *Nach [Spr99].*
Modell der Zusammenhänge in der funktionellen Bildgebung. Die Abbildung zeigt, über welche Abhängigkeiten ein Stimulus der neuronalen Aktivität zu einer Änderung der Signalintensität in der Bildgebung führt.

aber vernachlässigt werden. Die Änderungen in Blutvolumen und Blutfluss sind über

$$\frac{\mathrm{CBV}}{\mathrm{CBV}_0} = \left(\frac{\mathrm{CBF}}{\mathrm{CBF}_0}\right)^{0.38} \tag{3.1}$$

miteinander gekoppelt [Gru74] und lassen sich damit als ein Faktor zusammenfassen. Zusätzlich hängt die Signalintensität von dem relativen Anteil an Blut in einem Voxel ab, das initiale Blutvolumen CBV_0 spielt also bei der Angabe von Signal-Änderungen eine entscheidende Rolle (l).
Mit Hilfe von biophysikalischen Modellen können die dargestellten Zusammenhänge zwischen BOLD-Effekt, CBV und Sauerstoff-Metabolismus (CMR_{O_2}) auch quantitativ beschrieben werden [Dav98, Hog99, Oga93]. Die Theorie beruht auf der flussabhängigen Verdünnung von metabolisch generiertem Desoxyhämoglobin. Damit lässt sich der mit dem BOLD-Effekt gemessene Signalunterschied als Funktion der Änderungen in Blutfluss und Sauerstoff-Metabolismus darstellen:

$$\frac{\Delta\mathrm{BOLD}}{\mathrm{BOLD}} = M\left(1 - \left(\frac{\mathrm{CMR}_{O_2}}{\mathrm{CMR}_{O_2,0}}\right)^{\beta}\left(\frac{\mathrm{CBF}}{\mathrm{CBF}_0}\right)^{\alpha-\beta}\right) \tag{3.2}$$

α beschreibt die in Gleichung 3.1 angegebene funktionelle Beziehung zwischen Blutfluss und Blutvolumen und besitzt einen konstanten Wert von etwa 0.38 [Gru74]. Für β kann ein mittlerer Wert von 1.5 angenommen werden [Hog99]. Die Variable M beschreibt den Grenzwert des maximal möglichen BOLD-Effekts [Dav98], sie ist abhängig von den Parametern der MR-Messung. Aus der Kenntnis von CBF und ΔBOLD kann damit eine ortsaufgelöste Darstellung des Sauerstoff-Metabolismus erreicht werden, die auf Gleichung 3.2 basiert [Dav98, Hog99, Kim97, Kim99].

3.2 Änderung des Atemgases

In dieser Arbeit wird die Blutsättigung nicht durch eine Stimulation des Nervensystems beeinflusst, sondern durch eine Änderung der Sauerstoffkonzentration im Atemgas. Gegenüber Abbildung 3.3 kommt als zusätzlicher Zusammenhang noch der direkte Einfluss der Atemgas-Änderung auf die Blutsättigung hinzu. Ansonsten bleiben die dargestellten Abhängigkeiten weiterhin gültig, jedoch mit anderen Gewichtungen der einzelnen Faktoren.
Neben der direkten Änderung der Blutsättigung beeinflusst eine Änderung der Zusammensetzung des Atemgases vor allem den Blutfluss. Reiner Sauerstoff wirkt vasokonstriktiv, wobei die Größe des Effektes in der Literatur umstritten ist [Wat00, Ros95, Ket48, Duo01]. Wesentlich größer ist jedoch der Einfluss von CO_2. CO_2 wirkt vasodilatatorisch und verstärkt damit den Blutfluss. Wenn der Kontrast über die Atmung von Carbogen (95% O_2, 5% CO_2) erzielt wird, dominieren solche Flusseffekte die beobachteten Signaländerungen [How99]. Gerade bei der Beobachtung der Hyperoxie in

Tumoren ist dies jedoch unerwünscht. Um in einer Therapie die Tumoroxygenierung zu verbessern, reicht ein erhöhter Blutfluss nicht aus, da sich viele Gefäße im Tumor nicht erweitern können [The01]. Der Anteil an CO_2 lässt sich gegenüber Carbogen stark reduzieren, ohne dass sich ein nachteiliger Effekt auf die Verbesserung der Oxygenierung bemerkbar macht [Rob01]. Der erzielte Effekt beruht also hauptsächlich auf der erhöhten Sauerstoffkonzentration in den Gasen.
Außer von den Änderungen in CBF und CBV hängt die gemessene Signalintensität in erster Linie davon ab, wieviel Blut initial in dem jeweiligen Voxel vorhanden ist. Wenn sich der Blutfluss nur wenig ändert, erhält man somit durch die Sauerstoff-Bildgebung ein Abbild der lokalen Blutvolumina. Darüber hinaus gibt es aber Gründe anzunehmen, dass in Tumoren weitere Faktoren eine Rolle spielen müssen:

- Durch Hyperoxie lässt sich die Oxygenierung von Tumorgewebe zumindest temporär verbessern [Par01], siehe Abschnitt 4.4.
- Eine in-vitro Studie an Zelllinien menschlicher Gliome [AT99] lässt es möglich erscheinen, dass eine Änderung des Sauerstoffangebots Änderungen im Sauerstoff-Metabolismus induziert.
- Die beobachteten Kontrastmuster in Studien an murinen Tumormodellen [Pel98a] weisen darauf hin, dass der dargestellte Effekt von weiteren Tumorparametern abhängt.

Aufgrund der Ergebnisse, die in dieser Arbeit bei den Messungen an Probanden und Patienten erzielt wurden, wird in Abschnitt 6.3.1 das Modell aus Abbildung 3.3 an die Verhältnisse bei Messungen mit Sauerstoff angepasst.

Kapitel 4

Bedeutung der Tumoroxygenierung

Um die Therapie für einen Tumor-Patienten zu planen und seine Prognose abschätzen zu können, stützt man sich in der Onkologie vorrangig auf zwei Schemata: der Differenzierungsgrad des Tumors wird in verschiedene G-Stufen eingeteilt (Grading), die makroskopische Ausbreitung und die Lokalisation wird in dem TNM-System erfasst (Staging). Das TNM-System beschreibt die lokale Ausbreitung (T-Wert) und die Anwesenheit von Metastasen in Lymphknoten (N-Wert) und weiter entfernt vom Primärtumor (M-Wert).
Die Planung des therapeutischen Vorgehens stützt sich auf diese Stadieneinteilung, aus umfangreichen Erfahrungswerten lässt sich eine Prognose für den Patienten abschätzen. Neben dem makroskopischen Status bestimmen aber noch eine Reihe weiterer Faktoren das Überleben des Patienten, wie z.B.: die Empfindlichkeit des Tumors für eine Strahlentherapie, die Proliferationsrate der Tumorzellen, die pharmakodynamischen Verhältnisse im Tumor, die Neubildung von Blutgefäßen. Diese Parameter können sowohl innerhalb des einzelnen Tumors wie auch von Tumor zu Tumor stark variieren. Deshalb kann der Erfolg nicht-chirurgischer Behandlungs-Modalitäten innerhalb einer definierten Entität und eines definierten Stadiums bei soliden Tumoren von Patient zu Patient sehr unterschiedlich ausfallen [Mol98b].
Wie in Abbildung 4.1 verdeutlicht, sind die genannten Parameter alle stark mit dem Tumor-Mikromilieu verknüpft, d.h. mit dem pH-Wert, mit der Oxygenierung, mit dem metabolischen und energetischen Status. Das Mikromilieu wird in erster Linie von der Versorgung des Tumors bestimmt. Die Tumor-Physiologie besitzt dabei einige Charakteristika, die sie von den Verhältnissen in normalem Gewebe unterscheidet: das Interstitium hat ein größeres Volumen, man findet vermehrt arterio-venöse Shunts, meist fehlen den Gefäßen glatte Muskelzellen zur Anpassung der Durchblutung, die Vaskularisierung ist irregulär [Ham85, Kon98]. Wegen der fehlenden Struktur der Tumorversorgung können die Verhältnisse des Mikromilieus im individuellen Tumor nicht vorhergesagt werden. Man findet inter- und intra-tumorell große Unterschiede. Neue Strategien in der Tumortherapie versuchen zunehmend, das individuelle Tumor-Mikromilieu des ein-

zelnen Patienten zu berücksichtigen. Ziel ist es, die Parameter des Mikromilieus so zu beeinflussen, wie es für die Wirksamkeit bestimmter Therapieformen am günstigsten erscheint. Konkrete Beispiele dazu sind in Abschnitt 4.4 ausgeführt.

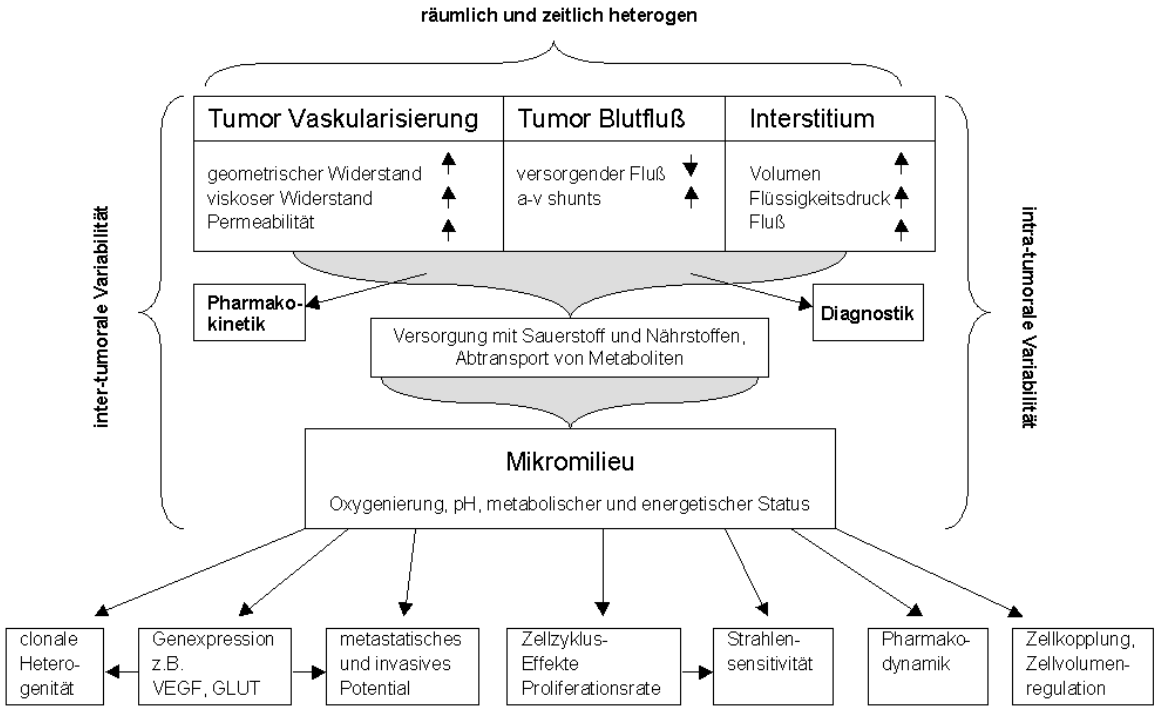


Abbildung 4.1. *Aus [Mol98b].*
Vereinfachtes Schema der kritischen Rolle des Tumor-Mikromilieus für Tumor-Wachstum und Ansprechen auf Therapien. (GLUT: glucose transporter, VEGF: vascular endothelial groth factor, a-v: arterio-venös)

4.1 Oxygenierungsstatus von Tumoren

Vergleicht man, wie in Abbildung 4.2 gezeigt, die Verteilung des Sauerstoffpartialdrucks menschlicher Tumore mit den Verhältnissen in entsprechendem gesunden Gewebe, findet man eine deutliche Linksverschiebung zu niedrigeren Druckwerten. Die Abbildung ist [Vau91] entnommen, die gezeigten Messungen wurden mit polarographischen Messsonden durchgeführt. [1] Eine scharfe Grenze zwischen hypoxischem, d.h. mit Sauerstoff unterversorgtem, und normoxischem Gewebe kann nicht definiert werden [Hoe01]. Unterhalb bestimmter kritischer Werte des Sauerstoffpartialdrucks ändert sich

[1] Sehr niedriger Sauerstoffpartialdruck bzw. Anoxie kann zu nekrotischem Zelltod führen [Hoe01]; die gezeigten Messungen beziehen aber mögliche zentrale Nekrosen nicht ein, sondern sind in als vital eingestuftem Gewebe durchgeführt.

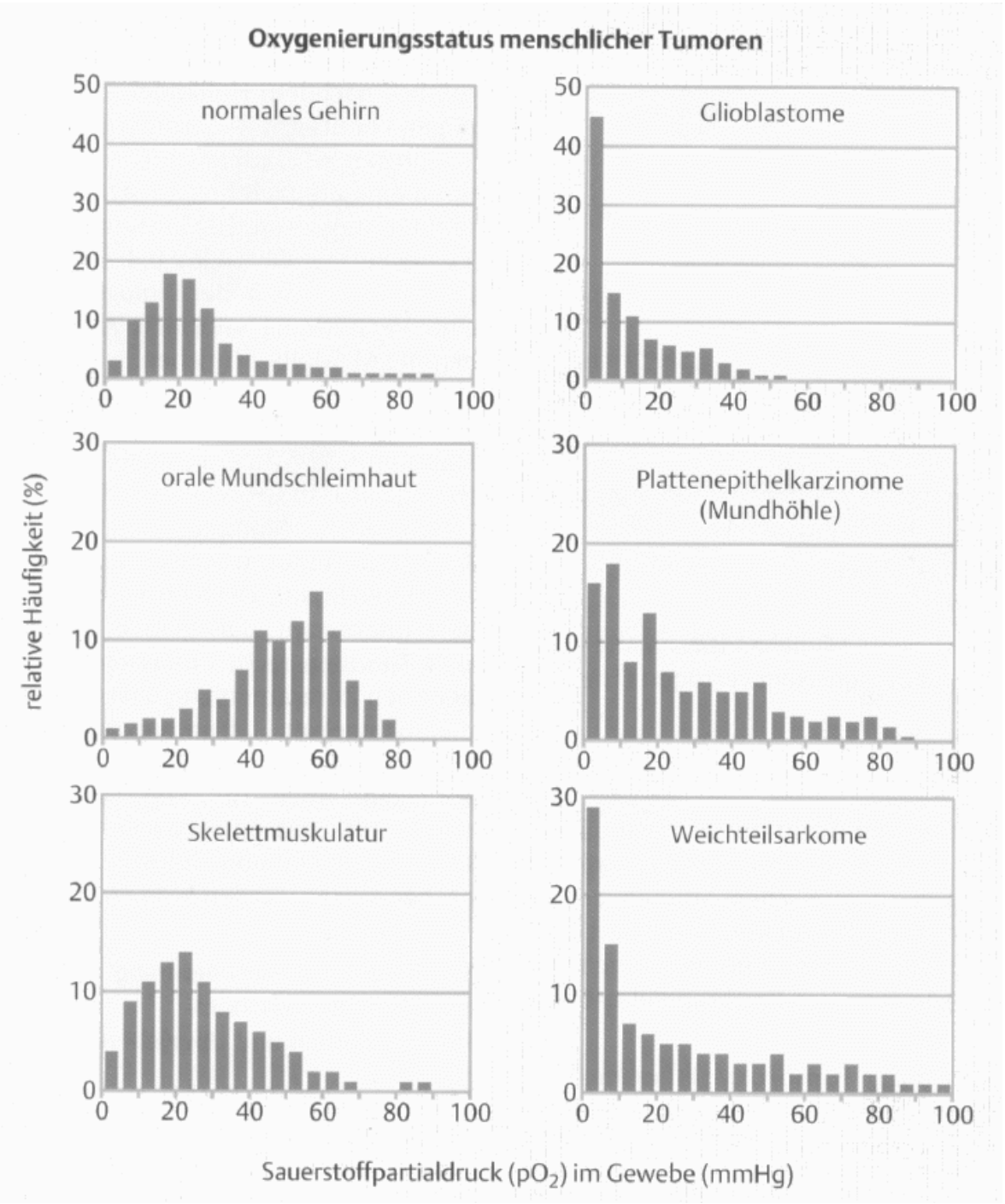


Abbildung 4.2. *Aus [Vau91].*
Oxygenierungsstatus menschlicher Tumoren: Linksverschiebung zu niedrigen Sauerstoffpartialdrücken als pathophysiologisches Charakteristikum des malignen Wachstums.

das Verhalten der Tumor-Zelle zunehmend (Abbildung 4.3). Unterhalb von 10-30 mmHg beginnt die Wirksamkeit nicht-chirurgischer Therapieformen stark nachzulassen, zwischen 8 und 10 mmHg beginnen sich die normalen zellulären Funktionen stark zu verändern. Auf subzellulärer und molekularer Ebene ändern sich die sauerstoff-abhängigen Vorgänge zum Teil erst bei noch niedrigeren Sauerstoffpartialdrücken. Als sinnvolle Grenze hat sich im Allgemeinen $pO_2 <$ 8-10 mmHg als kennzeichnend für Hypoxie etabliert.

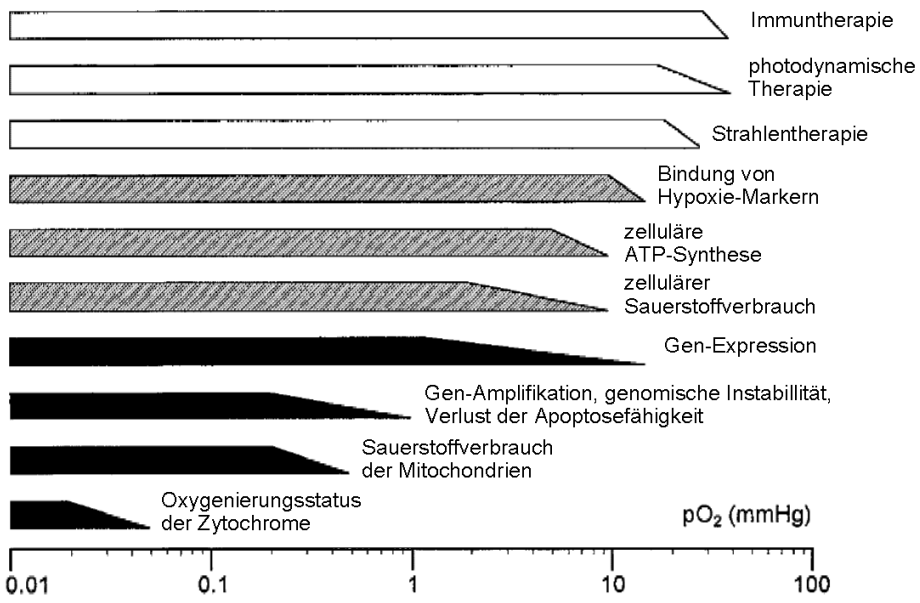


Abbildung 4.3. *Aus [Hoe01].*
Kritische pO_2-Werte, die die obere Grenze der Hypoxie kennzeichnen, unterhalb derer sich das Verhalten der Tumor-Zellen zunehmend ändert. Die Balken sind von oben nach unten eingeteilt in Therapieformen, zelluläre Funktionen und Mechanismen auf subzellulärer bzw. molekularer Ebene. Die Schräge am Ende der Balken soll dabei die Variationsbreite andeuten, die für die Grenzwerte in der Literatur zu finden ist.

In etwa 35% aller Tumore finden sich hypoxische Areale [Vau98], der Oxygenierungsstatus ist von Patient zu Patient sehr unterschiedlich. Für den einzelnen Tumor kann er nicht vorhergesagt werden, da er unabhängig ist von der Tumorgröße, vom Staging, vom Grading, sowie von anderen onkologischen Parametern wie Histologie, Rezeptorstatus, Karnofsky-Index, Lymphknotenstatus etc.
Auch wenn viele Punkte noch ungeklärt sind, konnten in den letzten Jahren einige wesentliche Erkenntnisse etabliert werden [Hoe01]:

1. Die meisten Tumore haben niedrigere mediane O_2-Partialdrücke verglichen mit ihrem Ursprungsgewebe.

2. Die Oxygenierung ist ein unabhängiger Tumorparameter, der nicht durch Größe, Lokalisation, Grad, Staging, oder Histologie vorhergesagt werden kann.

3. Die Variabilität der Oxygenierung von Patient zu Patient ist ausgeprägter als die intratumorale Heterogenität.

4. Primärtumore und Metastasen zeigen hinsichtlich der Oxygenierung keine großen Unterschiede (Kopf-/Halstumore).

5. Rezidive haben einen schlechteren Oxygenierungsstatus als ihre zugehörigen Primärtumore. Lokale Rezidive treten fast nur dort auf, wo die Primärtumoren vor der Therapie schon ausgeprägt hypoxisch waren.

4.2 Bedeutung des Oxygenierungsstatus für Therapie und Prognose

Schon sehr lange ist bekannt, dass die Wirksamkeit einer Radiotherapie entscheidend von dem Oxygenierungsstatus des Tumors abhängt. So beschrieben Schwarz [Sch09] und Holthusen [Hol21] bereits Anfang des letzten Jahrhunderts den Einfluss von Sauerstoff auf die Radiosensibilität von Zellen. In der Strahlentherapie hat das Konzept der „oxygen enhancement ratio“ (OER) Eingang gefunden. Der OER-Koeffizient beschreibt das Verhältnis der Dosiswerte, die unter anaeroben im Vergleich zu aeroben Bedingungen zum Erreichen eines bestimmten biologischen Effektes benötigt werden. Bei Gammastrahlen liegt dieses Verhältnis zwischen 2 und 3 [Her97]. Im allgemeinen geht man davon aus, dass der Sauerstoff freie Radikale fixiert, die bei der Bestrahlung von Zellen entstehen. Diese Radikale interagieren mit der DNS und anderen wichtigen Makromolekülen der Zelle, was letztlich zum Zelltod führt [Mol98a].
Das Auftreten von Rezidiven vor allem in hypoxischen Tumoren (Punkt 5 der Aufzählung im vorangegangenen Abschnitt) deutet bereits darauf hin, dass Tumorhypoxie auch Zeichen einer gesteigerten Malignität ist. Höckel et al. konnten nachweisen [Hoe96], dass ein verminderter Tumor-pO_2 auch bei unbestrahlten, allein chirurgisch behandelten Zervixkarzinomen Indikator eines ungünstigen Krankheitsverlaufs war. Gleichzeitig gelang es Graeber et al. 1996, experimentell zu zeigen, dass intratumorale Hypoxie die genetische Instabilität fördert und letztlich zu Zell-Klonen mit vermindertem Apoptosepotential führen kann [Gra96, Rey96]. Hypoxie ist ein Stimulus zur Expression des Tumor-Suppressorgens p53 [Pri99], das bei DNS-Schädigungen entweder die Reparatur des Defekts ermöglicht (G1-Arretierung des Zellzyklus) oder zur Eliminierung der betroffenen Zelle führt (Apoptose). p53-mutierte Zellen, die die Fähigkeit zu Apoptose verloren haben, haben bei Sauerstoffmangel im Tumor folglich einen Selektionsvorteil.
Um über eine bestimmte Größe hinauswachsen zu können, muss ein Tumor ein eigenes Gefäßsystem aufbauen [Fol95]. Hypoxie ist dabei der wichtigste Stimulus für die

Ausschüttung angiogenetischer Zytokine wie VEGF (vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor) [Chi99, Shw92, Dun01b]. Die Zytokine bewirken die Proliferation von Endothelzellen und ihre Migration zum Tumor, wo sie Lumina bilden und ein kapillares Netzwerk aufbauen. Dies ist Voraussetzung für das weitere Wachstum und die Fernmetastasierung des Tumors. Brizel et al. konnten zeigen, dass metastasierende Tumore eine signifikant schlechtere Oxygenierung aufweisen wie nicht metastasierende [Bri96]. All diese Faktoren tragen dazu bei, dass Patienten mit hypoxischen Tumoren eine deutlich schlechtere Prognose haben wie Patienten, deren Tumore relativ gut oxygeniert sind. Abbildung 4.4 zeigt Kaplan-Meier Kurven für die Überlebenswahrscheinlichkeit von Patientinnen mit Zervix-Karzinomen [Vau94]. Die Patientinnen wurden abhängig von dem medianen pO_2 im Tumor in zwei Gruppen ($pO_2 \leq$ 10 mmHg vs. $pO_2 >$ 10 mmHg) eingeteilt und hinsichtlich des rezidivfreien Überlebens nach einer Strahlentherapie verglichen. Die durchgeführten statistischen Tests zeigten eine signifikant schlechtere Prognose bei Tumoren mit niedrigen O_2-Partialdrücken. Auch Messungen an anderen Tumor-Entitäten kommen zu vergleichbaren Ergebnissen [Bri97b, Sta99, Nor00, Rud01, Nor01], unabhängig von der Art der Therapie, mit der die Patienten behandelt wurden [Hoe96].

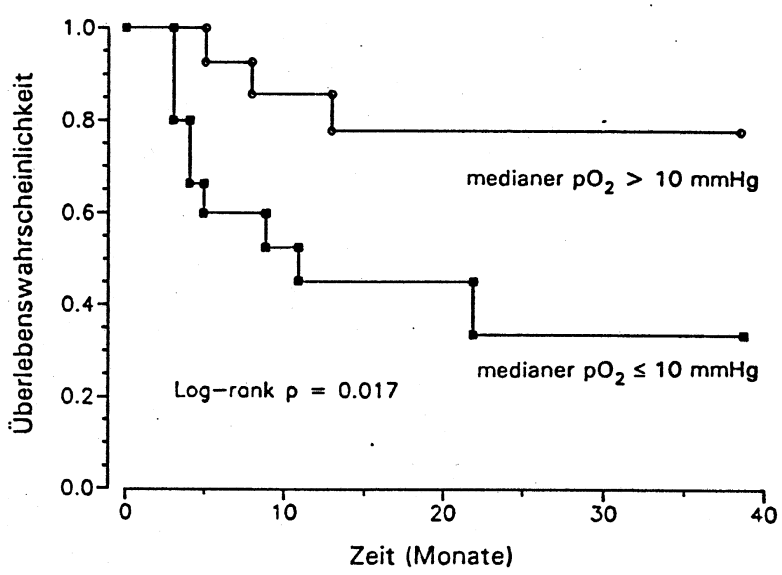


Abbildung 4.4. *Aus [Vau94].*
Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben bei Patientinnen mit lokal fortgeschrittenem Zervixkarzinom nach Maßgabe des medianen pO_2-Wertes im Tumorgewebe.

4.3 Ursachen von Tumor-Hypoxie

Die schlechte Oxygenierung eines Tumors ist Ausdruck dafür, dass dem Sauerstoff-Verbrauch der Tumorzellen keine adäquate Versorgung mit Sauerstoff gegenübersteht. Dazu können eine Reihe von Faktoren beitragen (nach [Hoe01]):

hypoxämische Hypoxie :
niedriger Sauerstoffpartialdruck in arteriellem Blut

anämische Hypoxie :
verminderte Fähigkeit des Blutes, O_2 zu transportieren (niedriger Hb-Wert)

diffusionsbedingte Hypoxie :
gestörte Diffusionsgeometrie, erhöhte Diffusionsstrecken

zirkulatorische oder ischämische Hypoxie :
verminderte Perfusion

gestörte Autoregulation :
Störung der Anpassung des Blutflusses an einen veränderten Sauerstoffverbrauch

Vergleicht man beispielsweise den Hämoglobin-Wert von Patienten mit dem Sauerstoffpartialdruck im Tumor (Abbildung 4.5), so zeigt sich eine Korrelation zwischen niedrigen Hb-Werten und niedrigem medianen Tumor-pO_2 [Vau91, Bec98]. Gut oxygenierte Tumore findet man nur bei Patienten, die auch einen relativ guten Hb-Wert haben. Gleichzeitig können Patienten aber trotz gutem Hb-Wert auch hypoxische Tumore haben, ein Zeichen dafür, dass bei der Sauerstoff-Versorgung – wie oben aufgezählt – viele Parameter eine Rolle spielen und eine schlechte Oxygenierung mit verursachen können.

4.4 Ansätze zur Verbesserung der Tumor-Oxygenierung

Das breite Spektrum an Faktoren, die zu einer Sauerstoff-Unterversorgung im Tumor beitragen können, kann die beobachtete Heterogenität in der Tumor-Oxygenierung erklären. Bei jedem Tumor ist von einer nicht vorherzusagenden, individuellen Gefäßstruktur auszugehen. Auch die übrigen in Abschnitt 4.3 aufgezählten Parameter sind bei jedem einzelnen Patienten verschieden. Zur Überwindung der Tumor-Hypoxie wird sich deshalb keine einfache Strategie finden lassen, die bei allen Patienten mit hypoxischen Tumoren Erfolg versprechen würde. Dies ergibt sich auch aus den Ergebnissen von Studien, die versuchen, einen oder mehrere der genannten Faktoren gezielt zu beeinflussen [Hen00]. Trotzdem konnten mit einzelnen Ansätzen beachtliche Erfolge erzielt werden:

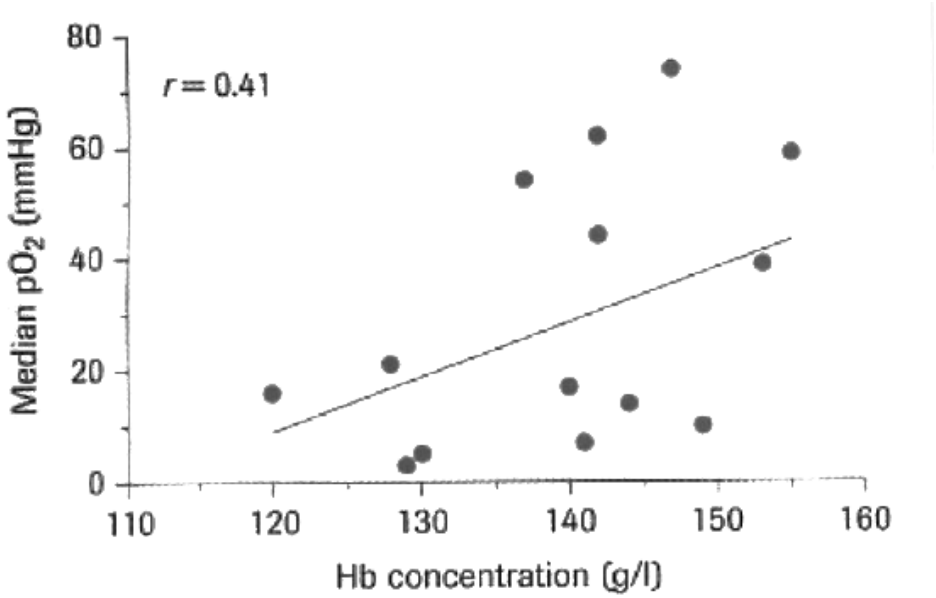


Abbildung 4.5. *Aus [Vau91].*
Zusammenhang zwischen dem Sauerstoffpartialdruck in Mamma-Karzinomen und der Hämoglobin-Konzentration im Blut der Patienten. Niedrige Hb-Werte führen zu einem niedrigen medianen Tumor-pO_2. Dagegen findet man gut oxygenierte Tumore nur bei Patienten, die auch einen relativ guten Hb-Wert haben. Tumor-Hypoxie kann aber viele verschiedene Ursachen haben, so dass Patienten trotz gutem Hb-Wert auch Tumore mit niedrigen pO_2-Werten haben können.

4.4.1 Behandlung mit Erythropoietin

Zur Behandlung anämischer Hypoxie hat sich der Einsatz von Erythropoietin (EPO) etabliert. Erythropoietin ist ein beim gesunden Erwachsenen vor allem in den Nieren gebildetes Hormon, das an Vorläuferzellen der Erythrozyten im Knochenmark angreift und so die Ausbildung reifer roter Blutkörperchen fördert. Abbildung 4.6 zeigt die Überlebensraten von Patienten mit bösartigen Krebsgeschwülsten im Mund-Rachenraum aus einer Studie von Glaser et al. [Gla01]. Die Patienten wurden anhand ihres Hb-Wertes in zwei Gruppen eingeteilt (durchgezogene Linie Hb $\geq$ 14.5mmHg, gepunktete Linie Hb $<$ 14.5mmHg). Bei gleichen Therapieschemata zeigte sich eine signifikant schlechtere Prognose für die Patienten mit niedrigen Hb-Werten. Wenn die anämischen Patienten (Hb $<$ 14.5mmHg) allerdings zusätzlich mit EPO behandelt wurden, so konnten die Überlebensraten auf Werte verbessert werden, die sich nicht mehr signifikant von der Vergleichsgruppe mit guten Hb-Ausgangswerten unterschied (gestrichelte Linie).

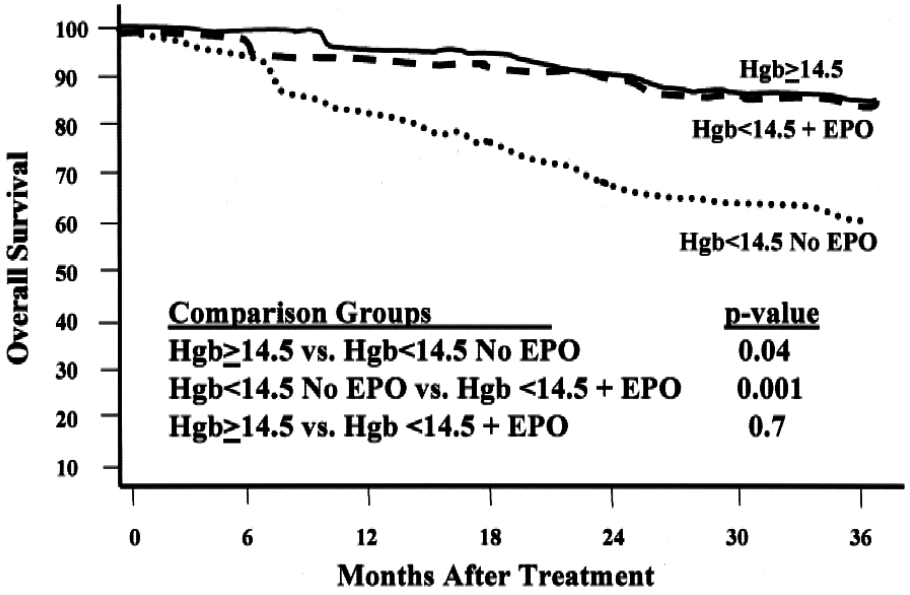


Abbildung 4.6. *Aus [Gla01].*
In der Studie von Glaser et al. hatten anämischer Patienten bei Behandlung mit EPO ähnliche Überlebensraten wie die Vergleichsgruppe mit guten Hämoglobin-Werten. Die Prognose für unbehandelte anämische Patienten war dagegen signifikant schlechter.

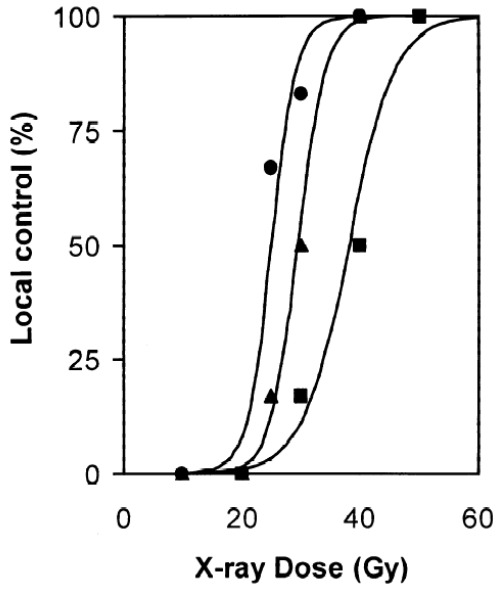


Abbildung 4.7. *Aus [Har01].*
Die Dosis, die für eine lokale Tumorkontrolle benötigt wird, ist unter hyperbarem Sauerstoff (Kreise) und unter Carbogen (Dreiecke) wesentlich geringer ist als unter Raumluft (Quadrate).

4.4.2 Inspiratorische Hyperoxie

Ein anderer Ansatz zur Verbesserung der Tumor-Oxygenierung ist das Atmen von Gasen mit hohen Sauerstoffkonzentrationen. Abbildung 4.7 aus [Har01] zeigt anhand von Messungen an einem experimentellen Tumor-Modell, dass die für eine lokale Tumorkontrolle benötigte Strahlen-Dosis unter hyperbarem Sauerstoff (HBO) und unter Carbogen (95% O_2, 5% CO_2) wesentlich geringer ist als unter Raumluft. Durch Atmen von Carbogen konnte bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren der Sauerstoffpartialdruck im Tumor erhöht werden und der Anteil an chronisch hypoxischen Tumorarealen reduziert werden [Mar93]. Entsprechend zeigen auch Studien vielversprechende Ergebnisse, bei denen die Patienten begleitend zu einer Strahlentherapie mit hohen Sauerstoff-Konzentrationen behandelt wurden [Hos99, Bus99, Mar01]. So konnten in der Studie von Martinez et al. [Mar01] die Ergebnisse einer Chemo-Radiotherapie durch Atmen von Carbogen signifikant verbessert werden. Auch Kombinationen von Carbogen mit der Gabe von Erythropoietin [Mar01] oder Nicotinamid [Ber00, Bus99, Kaa98, Hor94] werden bereits erprobt, um verschiedene mögliche Hypoxie-Ursachen gleichzeitig therapeutisch anzugehen.
Durch den gegenüber Raumluft erhöhten CO_2-Anteil wirkt Carbogen vasodilatatorisch, was zusätzlich zu der hohen Sauerstoffkonzentration die Oxygenierung beeinflusst. Da aber über die CO_2-Konzentration im Blut auch die Atmung reguliert wird, löst das Atmen von Carbogen bei Patienten oft ein beklemmendes Gefühl aus [Rob01]. Neuere Studien geben Hinweise darauf, dass sich der Anteil an CO_2 gegenüber Carbogen reduzieren lässt, ohne die Wirksamkeit der Behandlung bezüglich einer Oxygenierungsverbesserung zu verlieren [Hil98, Pow99, Rob01, The02]. Der Grund könnte darin liegen, dass Tumorgefäßen glatte Muskelzellen zur Flussanpassung fehlen. Daher können systemisch wirkende Vasodilatatoren die Tumorperfusion nur indirekt beeinflussen, indem sie den Blutfluss in der Umgebung des Tumors ändern [Son98]. Thews et al. beobachteten am murinen Tumormodell nach Gabe von Vasodilatatoren sogar eine verminderte Tumorperfusion bedingt durch den systemischen Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks [The01]. Bei Annahme einer parallel geschalteten Versorgung von gesundem Gewebe und Tumor, sinkt der Blutfluss bei unveränderten Gefäßwiderstand im Tumor infolge des verringerten Perfusionsdruckes. Der kardiale Output wird zugunsten des normalen Gewebes umverteilt, was als “steal phenomenon” beschrieben wird [Hir89, Vau93, The01].
Insgesamt scheint der positive therapeutische Effekt von Carbogen in erster Linie auf die Erhöhung des Sauerstoffgehalts im Blut zurückzuführen zu sein [Pow96, Dew96]. Einige Therapieansätze arbeiten daher mit geringeren Mengen CO_2 oder reinem Sauerstoff [Roj90]. Zum Teil wird der Sauerstoff auch hyperbar appliziert [Haf99, Koh99, Bec02].
Obwohl bei experimentellen Tumormodellen die Verbesserung der Tumoroxygenierung

durch inspiratorische Hyperoxie belegt werden konnte, fallen die Ergebnisse der klinischen Studien sehr unterschiedlich aus [Stu98, Raa97]. So konnte mit HBO eine signifikante Verbesserung der Response-Raten bei Kopf-Hals-Tumoren nachgewiesen werden [Ove96, Koh99, Haf99], während in einer retrospektiven Auswertung von Dische et al. [Dis99] bei Zervixkarzinomen kein Nutzen von HBO zu belegen war. In einer Studie von Sundfor et al. [Sun99] zeigte sich kein Einfluss einer normobaren Sauerstoffbehandlung bei Patienten mit Zervixkarzinomen im Stadium II. Bei einer Subgruppenanalyse von Stadium IIB-Patienten konnte in dieser Studie jedoch eine verbesserte lokoregionale Tumorkontrolle nachgewiesen werden. Bei einem Vergleich der Studien sind allerdings die genauen Behandlungsprotokolle zu beachten. So scheinen Parameter wie die Dauer der Hyperoxie und der zeitliche Abstand zu den Bestrahlungsfraktionen eine wichtige Rolle zu spielen [Cha93, Sie94]. Vor allem aber sind die individuellen Verhältnisse des Tumormikromilieus von Bedeutung, die auch in identischen Tumorstadien sehr unterschiedlich ausfallen können. So lässt sich die Reaktion des einzelnen Tumors auf die Hyperoxie nicht vorhersagen. Eine nicht-invasive Methode zum Monitoring des Behandlungsverlaufs wäre in diesem Zusammenhang äußerst hilfreich. Ebenso wichtig erscheint die Möglichkeit einer funktionellen Tumorcharakterisierung vor Therapiebeginn, um den einzelnen Patienten für eine geeignete Therapieoption auswählen zu können [Bus99].

4.5 Methoden zur Messung der Tumoroxygenierung

Es folgt eine Darstellung von Methoden, mit denen der Sauerstoffpartialdruck im Tumor direkt oder indirekt bestimmt werden kann. Für die Beobachtung des Effekts von Maßnahmen zur Oxygenierungsverbesserung im Menschen haben alle Methoden bestimmte Nachteile, sei es Invasivität oder fehlende räumliche Auflösung.
Die in dieser Arbeit beschriebene Messung des BOLD-Effekts liefert nur einen indirekten Nachweis von Oxygenierungsänderungen, dafür bietet sie eine räumliche Auflösung, ist nicht-invasiv, benötigt keinen zusätzlichen Tracer und erlaubt die Beobachtung der Änderung unter Hyperoxie in Echtzeit.

Polarographie Die Polarographie hat sich als "Goldstandard" der $p\mathrm{O}_2$-Messung etabliert [Sto93]. An der Spitze einer Nadelelektrode aus Edelmetall (Gold oder Platin) wird der Gewebesauerstoff reduziert:

$$O_2 + 2H_20 + 4e^- \quad \longrightarrow \quad 4OH^-$$

Der gemessene Reduktionsstrom ist abhängig von der lokalen Konzentration an reduzierbarem Sauerstoff. Mit der Methode können stichprobenartig mehrere hundert

Einzelwerte je Tumor erfasst werden. Prinzipiell ist die Technik auch für die Anwendung am Menschen geeignet, allerdings ist sie durch ihre Invasivität in der Anwendung beschränkt. Eine genaue Messung (± 1mmHg) erfordert einen hohen Aufwand, um den Einfluss von Arzneimitteln, von dem mechanischen Auflagedruck der Elektroden sowie von der Temperatur auszugleichen. Außerdem ist der Verbrauch von Sauerstoff durch die Messung selbst zu berücksichtigen [Kal90].
Anwendung: Mensch

Fluoreszenz Auch diese Methode läßt sich beim Menschen anwenden. Durch einen kurzen Lichtpuls wird ein Lumiphore angeregt. Die folgende Lichtemission hängt in Intensität und Dauer von der Konzentration des Sondenfarbstoffes und der Sauerstoffkonzentration ab. Die Abhängigkeit von pO_2 rührt daher, dass die Kollision eines Sauerstoffmoleküls mit einem Farbstoff-Molekül in angeregtem Zustand zu einem Energieübergang ohne Strahlenemission führt. Da die Kollisionsfrequenz von der O_2-Konzentration abhängt, ist die Fluoreszenz-Lebensdauer umgekehrt proportional zur Konzentration von gelöstem Sauerstoff. Diesen Prozess bezeichnet man als "dynamic flourescence quenching". Als Sonden dienen intravenös applizierte Metalloporphyrin-Albumin-Komplexe.
Ein Vergleich zwischen einem kommerziellen Polarographen und einem Fluoreszenz-Messsystem findet sich beispielsweise in [Col97, Gri99].
Anwendung: Mensch

Messung der strahlenbiologisch-hypoxischen Fraktion Eine Gewebeprobe wird unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen bestrahlt. Anhand des Anteils der überlebenden Zellen wird die Dosis-Wirkungs-Beziehung für beide Bedingungen ermittelt. Aus dem Unterschied wird der Anteil der Zellen mit herabgesetzter Strahlensensibilität bestimmt.
Anwendung: Gewebeprobe

Kryospektrophotometrie In einem Gefrierschnitt wird die intravaskuläre O_2-Sättigung photometrisch über das unterschiedliche Absorptionsverhalten von Oxy- und Desoxyhämoglobin gemessen.
Anwendung: Gewebeprobe

Near-Infrared-Spektroskopie Mit dieser Methode misst man die O_2-Sättigung ebenfalls photometrisch, dabei werden Lichtquelle und Photodetektor direkt auf die Organoberfläche angesetzt. Bei oberflächlichen Tumoren kann die Messung nicht-invasiv erfolgen, allerdings ist die Methode sehr ungenau.
Anwendung: Mensch

^{31}P-MRS Der bioenergetische Status von Tumorzellen, der mittels der Phosphor-Spektroskopie bestimmt werden kann, korreliert mit den Oxygenierungsparametern [Li95]. Allerdings erhält man nur eine indirekte Information über den Sauerstoffpartialdruck im Gewebe.
Anwendung: Mensch

^{19}F-NMR Bei der Bildgebung und Spektroskopie von Perfluorocarbon-Emulsionen gilt:

$$\frac{1}{T_1} \propto O_2\text{-Konzentration} \tag{4.1}$$

Damit lassen sich Sauerstoffkonzentrationen im Gewebe quantitativ bestimmen [Mas96, vdS99]. Allerdings bereiten bei der Messung die kurzen T_2 und die langen T_1-Zeiten und Artefakte durch die chemische Verschiebung Probleme.
Anwendung: Tiermodell

Overhauser Enhanced MR Imaging In der Elektronen-Spin-Resonanz (EPR) führen bestimmte Farbstoffe (Fusonite, India Ink) unter hypoxischen Bedingungen zu einer Linienverbreiterung. Als Overhauser-Effekt bezeichnet man die Verstärkung der Kernpolarisierung mittels Kernspin-Elektronenspin-Wechselwirkung. Damit lässt sich das EPR-Signal im MR indirekt nachweisen. Die Anwendung der Methode ist allerdings auf kleine Proben oder Tiere beschränkt [Gol00, Kri01].
Anwendung: Gewebeprobe, kleine Tiere

Hypoxie-Marker Heterozyklische Nitroverbindungen (Nitroimidazole, z.B. Misonidazol) werden durch intrazelluläre Nitroreduktasen zu Nitroradikal-Anionen reduziert [Beg83]. In der Folge binden sie an Makromoleküle der Zelle (in erster Linie RNA). Das reduzierte Anion ist aber nur in Abwesenheit von Sauerstoff ausreichend lang stabil für den Bindungsvorgang. Das führt dazu, dass die aromatischen Nitroverbindungen nur in hypoxischen bzw. anoxischen Zellen gebunden werden [Mil82]. Diese Eigenschaft, spezifisch in hypoxischen Zellen zu binden, führte zur Verwendung der Nitroimidazole als Indikator der Tumorhypoxie (Hypoxiemarker).
Der Nachweis der Bindung kann auf unterschiedliche Art erfolgen, dabei wird das Grundmolekül 2-Nitroimidazol mit der nachzuweisenden Substanz markiert:

- *Autoradiographie:* Radioaktive Markierung mit ^{3}H oder ^{14}C
- *MRS:* ^{19}F
- *PET:* ^{18}F
- *Szintigraphie:* ^{99m}Tc

- *Single-Photonen-Emissions-Computertomographie (SPECT):* ^{123}J
- *immunologische Nachweismethoden (für Biopsiematerial):* Antikörper gegen spezifische Derivate des 2-Nitroimidazols

Die Bindung in der Zelle erfolgt, wenn der lokale Sauerstoffpartialdruck kleiner als 5-10mmHg ist [Sto93, Gro95]. Somit wird mit dem Einsatz von Hypoxiemarkern derjenige Anteil an Tumorzellen erfasst, der einer strahlenbiologisch relevanten Hypoxie ausgesetzt ist.
Anwendung: Mensch

Kapitel 5

Methodenentwicklung

5.1 Atemsystem

Die nachzuweisenden Signaländerungen durch das Atmen von hohen Sauerstoffkonzentrationen sind relativ gering. Daher war wichtig, mit dem Atemsystem eine effiziente und sichere Zufuhr von 100% O_2 unter reproduzierbaren Bedingungen zu gewährleisten. Außerdem mussten – neben der MR-Kompatibilität – für die Anwendung am Menschen der Patientenkomfort und die Vermeidung der Rückatmung ausgeatmeter Luft beachtet werden.
Der verwendete Aufbau fand auch Einsatz in der ortsaufgelösten MR-Messung der Diffusionskapazität der Lunge und wurde in [Loe00] beschrieben. Der Patient atmet dabei über ein Mundstück. Eine Atmung durch die Nase wird über eine Nasenklemme verhindert. Diese Kombination entstammt der klinischen Routine in der Lungenfunktionsdiagnostik und wird im allgemeinen von den Patienten gut toleriert. Direkt an dem Mundstück sind zwei Filter angebracht, die die Rückatmung der ausgeatmeten Luft verhindern. Ein Ballon dient als Reservoir, um den Luftstrom zwischen Ein- und Ausatmen auszugleichen. Das Gas wird leicht erwärmt und angefeuchtet. Sowohl der reine Sauerstoff wie auch die Raumluft werden bei gleichem Gasfluss über dieses System geatmet.

5.2 Nachweis von Sauerstoff-induzierten Signaländerungen an verschiedenen Lokalisationen

Zunächst stand der Nachweis der Sauerstoff-induzierten Signaländerungen bei unterschiedlichen Tumorlokalisationen im Vordergrund, da die Ergebnisse der Experimente an murinen Tumormodellen [Kup95, Kar94, Rob98, Dun97, Rob95, Pel98a] nicht direkt auf den Menschen übertragen werden können. Zum Beispiel liegt der P_{50}-Wert (die Sauerstoff-Konzentration, bei der 50% des Hämoglobins mit Sauerstoff gesättigt

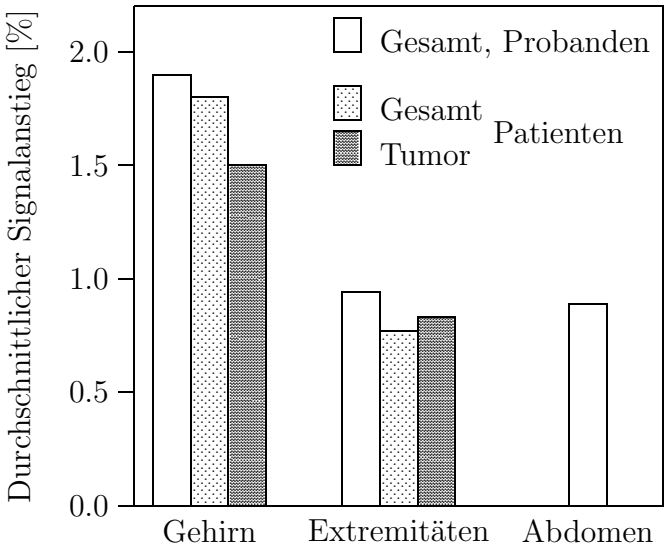


Abbildung 5.1. *Durchschnittlicher O_2-induzierter Signalanstieg an verschiedenen Lokalisationen. ☐ stellt die Mittelung über den gesamten Messbereich bei den Probandenmessungen dar, ▨ die entsprechende Mittelung bei den Tumorpatienten. Bezogen auf das Gesamtvolumen ist der Einfluss des Tumors vernachlässigbar. Die gemittelten Änderungen im Tumorareal sind durch ▩ dargestellt.*

ist) im menschlichen Blut wesentlich niedriger als in dem von Nagetieren [Gra64].
Sauerstoff findet sich in Blut entweder an Hämoglobin gebunden oder in gelöster Form als O_2. In beiden Formen beeinflusst Sauerstoff die lokalen Relaxationszeiten (T_1 und T_2^*) und kann damit für die Bildgebung genutzt werden. Aufgrund der engen Verknüpfung mit physiologischen Parametern galt das Hauptinteresse der Untersuchung des Sauerstoffkontrastes mit dem BOLD-Effekt (Kapitel 3).
Zur Untersuchung des Sauerstoffkontrastes mit dem BOLD-Effekt wurden suszeptibilitätsempfindliche T_2^*-gewichtete Gradienten-Echo Sequenzen verwendet (GE-EPI in Abdomen und Gehirn, Flash2D für Schulter und Extremitäten). Für die Wahl der Echo-Zeit war die Maximierung des Kontrastes im Tumorgewebe entscheidend, der zwischen den Sauerstoff- und den Raumluft-Phasen besteht. Da für die Relaxationszeiten im Tumorgewebe aufgrund der Heterogenität der Tumoren keine einheitlichen Werte erwartet werden können, orientierte sich der gewählte Wert von 64 ms an gut perfundiertem Gewebe und an den Erfahrungen aus der funktionellen Bildgebung. Zu Optimierung und Test der Sequenzparameter wurden für jede Lokalisation 3 Probanden untersucht.
Die deutlichsten Effekte zeigten sich bei den Messungen im Gehirn [Los99]. An den anderen Lokalisationen waren die Signaländerungen (ΔSI) nur etwa halb so groß (Abbildung 5.1). Messungen an Tumorpatienten ergaben das gleiche Bild. Die über das gesamte Messvolumen gemittelten Änderungen lagen im Bereich der gesunden Pro-

banden und waren im Gehirn weitaus deutlicher als in den anderen Regionen. Die gemittelten Signaländerungen schliessen die relativ großen Effekte in venösen Gefäßen ein. Der Einfluss auf die Mittelung über den gesamten Messbereich ist aber gering, so dass sich die unterschiedlichen Lokalisationen gut vergleichen lassen.
Die ΔSI im Tumorareal lagen in der Größenordnung der gesamten Mittelung. Auch für den Tumor allein gilt, dass der gemessene Sauerstoffeffekt im Gehirn wesentlich deutlicher ausfällt als in den übrigen Regionen. Interessant sind im Tumorbereich jedoch nicht nur die gemittelten Effekte, gerade die heterogene Verteilung über das Tumorvolumen könnte den individuellen Tumor charakterisieren. Um bei den gegebenen geringen Signaländerungen Sauerstoff-bezogene Änderungen sicher von Bewegungseinflüssen und anderen Artefakten trennen zu können, ist eine sorgfältige Nachverarbeitung der gemessenen Daten notwendig. Im Gehirn wird die Auswertung nicht nur durch das größere ΔSI erleichtert. Besonders vorteilhaft erweisen sich auch die zahlreichen größeren Gefäße, die sich als Referenz für die zu erwartende Signal-Antwort nutzen lassen. Da für eine neue Messtechnik noch keine standardisierten Nachverarbeitungstechniken existieren, ist es von Vorteil, wenn sich die Auswertung auf etablierte statistische Methoden stützen kann, wie sie für die funktionelle Bildgebung im Gehirn existieren. Auf dieser Grundlage kann die Auswertung den Besonderheiten der Untersuchung angepasst werden (Dies wird in Abschnitt 5.3 näher erläutert).
Untersuchungen im Gehirn weisen weitere klinische und technische Vorzüge auf:

- **Minimierung von Bewegungsartefakten.** Im Gegensatz zum Abdomen stören keine physiologischen Bewegungen wie Peristaltik oder Respiration. Die Kopfspule bietet die Möglichkeit, den Kopf seitlich mit zwei Kissen zu stabilisieren. Das Atemsystem wurde von uns so konzipiert, dass es zusätzlich den Patienten fixiert, ohne ihm ein Gefühl des "Eingeschlossen-Seins" zu vermitteln. Für eine nachträgliche Korrektur kleiner Bewegungen kann das Gehirn wie ein starrer Körper behandelt werden. In Abschnitt 5.3.1 wird näher auf die Bewegungskorrektur eingegangen.

- **Verwendung von Spezialspulen.** Die Verwendung einer speziellen Kopfspule erlaubt eine große Signalausbeute bei deutlich reduzierten Artefakten. Relativ kleine Änderungen, wie sie durch das Sauerstoffatmen induziert werden, lassen sich nur bei ausreichendem Signal-Rausch-Verhältnis sicher nachweisen. Gerade für die Etablierung einer neue Methodik ist dies wichtig.

- **Korrelation mit Kontrastmitteldynamik.** Im Gehirn bietet es sich zur Untersuchung des zu Grunde liegenden Kontrastmechanismus an, mit Hilfe dynamischer Kontrastmitteluntersuchungen weitere physiologische Parameter aufzunehmen. Gegenüber der Korrelation mit einem histologischen Schnittpräparat ergeben sich dabei folgende Vorteile: die Kontrastmitteluntersuchung kann di-

rekt im Anschluss an die Sauerstoffuntersuchung erfolgen. Die Anfertigung eines histologischen Schnittes erfolgt unter Umständen erst mit einem gewissen zeitlichen Abstand, der bei schnell wachsenden Tumoren die Aussagekraft einer Korrelation in Frage stellen könnte. Eine gewisse Unsicherheit müsste auch bei der genauen Schnittführung der Präparation in Kauf genommen werden. Dagegen kann eine Kontrastmitteldynamik in der exakt gleichen Schichtung und mit der gleichen Sequenz wie die Sauerstoffuntersuchung durchgeführt werden. Man erhält eine exakte Gegenüberstellung der Sauerstoffmessung mit physiologischen Parametern wie Blutfluss oder Blutvolumen, die für das Kontrastverhalten des BOLD-Effekts eine entscheidende Rolle spielen.

Die deutlichen Effekte, die Möglichkeit zum direkten Vergleich mit physiologischen Parametern und die Möglichkeit zur Entwicklung einer Nachverarbeitung ausgehend von Methoden, die sich in der funktionellen Bildgebung bewährt haben, gaben den Ausschlag, Untersuchungen am Gehirn zu favorisieren.

5.3 Messprotokoll und Entwicklung der Nachverarbeitung

Da die nachzuweisenden Signaländerungen im Menschen relativ gering ausfallen, kommt der Optimierung des Messprotokolls und der sorgsamen Ausarbeitung der Nachverarbeitungsprozeduren eine zentrale Bedeutung zu. Vor der Messung von Tumorpatienten wurden daher Untersuchungen an 14 Probanden durchgeführt. Diese dienten zum einen der Etablierung von Referenzwerten, auf die sich die späteren Patientenuntersuchungen stützen konnten. Zum anderen sollte ein geeignetes Untersuchungsprotokoll entwickelt werden. Neben der Optimierung der Sequenzparameter betraf dies vor allem den Ablauf der Sauerstoffadministration. Dabei galt es abzuwägen zwischen langen Hyperoxie-Phasen (Gleichgewichtszustand) und mehreren Wiederholungen (Nachweissicherheit). In vielen Studien an murinen Tumormodellen wurden Hyperoxie-Phasen von 10min und länger verwendet, wobei die ersten Minuten der Sauerstoffadministration als Übergangsphasen gewertet und nicht in die Auswertung einbezogen wurden. Solch lange Perioden sind bei Messungen am Menschen nicht praktikabel. Die Arbeiten von Peller et. al. [Pel98a] deuten an, dass auch eine kürzere Zeit des Sauerstoffatmens ausreicht, um einen Gleichgewichtszustand in der Signalintensität zu erreichen. Kürzere Perioden erlauben zudem eine Wiederholung der Hyperoxie und damit eine Untersuchung der Reproduzierbarkeit der beobachteten Effekte. Wichtig ist das vor allem zum Ausschluss von Bewegungsartefakten, ein Problem, das bei anästhesierten Nagetieren nicht in dieser Form auftritt. Es wurden zwei Paradigmen verglichen: 5 Perioden mit jeweils 2min Hyperoxie und 2 Perioden mit jeweils 6min Hyperoxie.

Die Messungen wurden an einem klinischen Ganzkörpertomographen (1.5T Magnetom Vision, Siemens) mit einer speziellen Kopfspule durchgeführt. Der Ablauf der Untersuchung stellte sich wie folgt dar:

Sauerstoffuntersuchung: Gradienten-Echo EPI-Sequenz (TE=64ms, Auflösung 2.2 x 2.2 x 5.0 mm^3, 16 Schichten). Es wurden 256 T_2^*-gewichtete Bilder im Abstand von TR=5s akquiriert. Die Sauerstoffuntersuchung wurde als Erstes durchgeführt, da der Patient sich am Ende der etwa dreiviertelstündigen Untersuchung erfahrungsgemäß eher mehr bewegt.

Kontrastmitteldynamik: Durchgeführt mit der gleichen Sequenz wie die Sauerstoffuntersuchung. 60 Bilder im Abstand von TR=3s wurden akquiriert. Als Kontrastmittel (KM) wurde Gd-DTPA in einer zweifachen Dosis verwendet. Nach der Akquisition von 10 Baseline-Bilder wurde das Gd-DTPA mit einer Rate von 5ml/s verabreicht.

anatomische Aufnahme: hochaufgelöste T_1-gewichtete Spin-Echo Sequenz (MPRAGE): TI=300ms, TE=4.4ms, TR=11.4ms, Auflösung $1.25^3 mm^3$. Rekonstruktion in Schichten, die der Orientierung der EPI-Sequenz entsprachen.

Die Nachverarbeitung der Sauerstoffuntersuchung erfolgte in mehreren Schritten: Die Daten wurden zunächst auf eine externe Workstation transferiert und in ein zur Weiterverarbeitung geeignetes Format gebracht. Dabei wurden die Informationen über das genaue abgebildete Volumen der Sauerstoff- und KM-Untersuchung mit der höher aufgelösten Matrix der anatomischen MPRAGE-Messung abgestimmt. Vor der Auswertung erfolgte eine Korrektur kleiner Kopf-Bewegungen zwischen den einzelnen Aufnahmen (Abschnitt 5.3.1). Anschließend wurden Korrelationsmaps zur Identifizierung von auf den Sauerstoff reagierenden Regionen berechnet (Abschnitt 5.3.2). Für den Vergleich unterschiedlicher Applikationsparadigmen war entscheidend, eine Methode zur objektiven Bestimmung einer Signifikanzschwelle zu entwickeln (Abschnitt 5.3.3). Der Charakteristik der Sauerstoffmethode wurde vor allem durch die Wahl einer speziellen Referenzfunktion Rechnung getragen. Für die besonderen Eigenheiten der Tumorantwort auf die Hyperoxie hat sich auch die Auswertung mit Hilfe einer Fourier-Analyse als wertvoll erwiesen (Abschnitt 5.3.4). Als letzter Schritt wurde aus der Kontrastmitteldynamik das relative cerebrale Blutvolumen (rCBV) berechnet und mit den Ergebnissen der Sauerstoffmessung korreliert (Abschnitt 5.3.5).

5.3.1 Bewegungskorrektur

Die Minimierung von Patientenbewegungen spielt eine entscheidende Rolle für die Aussagekraft der gemessenen Signalintensitätsverläufe. Kritisch sind Bewegungen, die

mit dem Paradigma der Sauerstoffadministration gekoppelt sind. In vielen fMRI-Experimenten nimmt der Proband die Stimulation wahr und reagiert möglicherweise mit unbewussten Bewegungen. Das kann dazu führen, dass manche Voxel fälschlicherweise als "aktiviert" gewertet werden [Haj94]. Aus diesem Grund wurde der Wechsel des Atemgases so durchgeführt, dass der Proband oder Patient keine Änderungen wahrnehmen konnte. Temperatur, Flussrate (22L/min) und Feuchtigkeit beider Gase waren gleich.
Zusätzlich waren die Probanden bzw. Patienten durch die bereits beschriebenen Maßnahmen (seitliche Stabilisierung und Befestigung des Mundstücks an der Kopfspule) in ihren Kopfbewegungen eingeschränkt. Verbleibende kleinere Bewegungen wurden vor der Nachverarbeitung mittels einer Software-Analyse korrigiert. Die Software versucht, für jeden aufgenommenen 3D-Datensatz einer Zeit-Serie geeignete Translations- und Rotationsparameter zu finden, die die Bilder aufeinander anpassen. In 2 Dimensionen lässt sich diese Transformation wie folgt beschreiben:

$$\mathbf{T}[\mathbf{x}] = \begin{bmatrix} \cos\Delta\Phi & \sin\Delta\Phi \\ -\sin\Delta\Phi & \cos\Delta\Phi \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \Delta x \\ \Delta y \end{bmatrix} \tag{5.1}$$

In 3 Dimensionen enthält die Transformationsmatrix zusätzlich noch die Verschiebung senkrecht zur Bildebene und die Rotationen um die zwei anderen Raumachsen. Der Algorithmus versucht, diese Transformationsmatrix so anzupassen, dass die Signalintensität an jedem Voxel des zu korrigierenden Bildes $I(\mathbf{x})$ nach Transformation möglichst genau der Intensität des Basisbildes $J(\mathbf{x})$ entspricht.

$$I(\mathbf{T}[\mathbf{x}]) \approx J(\mathbf{x}) \tag{5.2}$$

Für die Optimierung der Transformationsmatrix gibt es verschiedene Verfahren. Bei den Muster-basierten Verfahren werden zunächst charakteristische Strukturen in beiden Bildern segmentiert und anschließend versucht, diese Strukturen durch passende Transformationsparameter auf beiden Bildern zum Überlapp zu bringen. Die meisten Verfahren basieren aber rein auf der Signalintensität in beiden Bildern. Die Idee hinter dem verwendeten Algorithmus von Woods et al. [Woo92] ist, dass zwei Bilder als praktisch identisch anzusehen sind, wenn ihr Voxel-zu-Voxel-Verhältnis konstant ist:

$$r(\mathbf{x}) = \frac{I(\mathbf{T}[\mathbf{x}])}{J(\mathbf{x})} \tag{5.3}$$

Als Maß für die Fehlanpassung E wird dabei das Verhältnis aus Standardabweichung und Mittelwert von r über alle Voxel verwendet:

$$E = \frac{\sigma_r}{\bar{r}} \tag{5.4}$$

In mehreren Rekursionsschritten werden die Parameter so angepasst, dass E minimal wird. Bewegungsinformationen lassen sich in erster Linie aus Kanten-Strukturen

gewinnen, in denen sich die Signalintensität benachbarter Voxel stark unterscheidet (Abbildung 5.2). Wenn diese Strukturen bei der Berechnung der Bewegungsparameter besonders gewichtet werden, können die Ergebnisse weiter verbessert werden (Abbildung 5.3). Die Software wurde getestet, indem Probanden Bewegungsartefakte durch

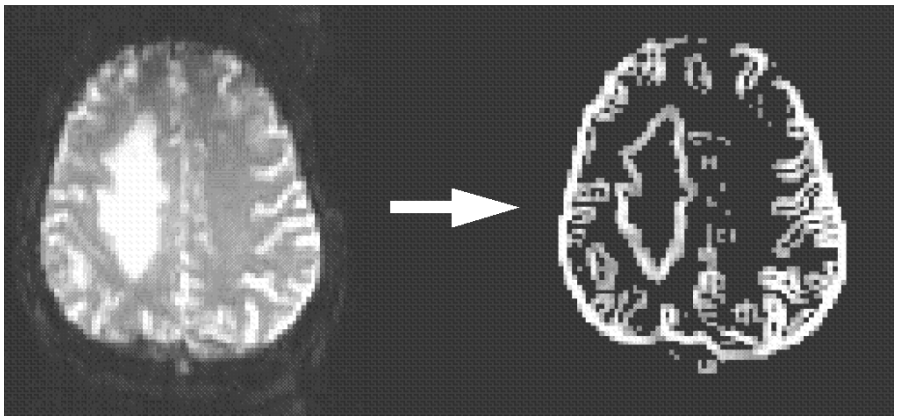


Abbildung 5.2.
Kantenwichtung: Zur Bewegungskorrektur wird das Ausgangsbild (links) mit einer Wichtungsfunktion (rechts) multipliziert, die die Kantenstrukturen des Bildes besonders hervorhebt.

gezielte Kopfbewegungen simulierten. Abbildung 5.4 zeigt, wie die Software das Nicken und seitliche Verdrehen des Kopfes korrekt als Rotation um die rechts-links (R-L) bzw. inferior-superior (I-S) Achse erkannt hat. Für die Korrektur größerer Rotation ($> 10°$) oder von Translationen über mehrere Voxel hinweg ist der Algorithmus nicht geeignet, solche Bewegungen wurden jedoch durch die beschriebene Fixation des Kopfes minimiert.
Ein Beispiel für das Ergebnis einer solchen Bewegungsanalyse zeigt Abbildung 5.5. Im unteren Teil sind die gefundenen Werte für die Rotation in den 3 Raumachsen (inferior-superior (I-S), rechts-links (R-L), anterior-posterior (A-S)) und die Translation in den 3 Raumrichtungen (superior (dS), links (dL), posterior (dP)) aufgetragen. Im oberen Teil der Abbildung erkennt man, dass die Unterschiede zur ersten Aufnahme bei allen Bildern auf ein vergleichbares Maß reduziert wurden, trotz größerer Variationen im Verlauf der Bewegungsparameter. Solche Plots dienen nicht nur der reinen Information über den Ablauf der Bewegungskorrektur, sondern sind eine wichtige Ergänzung bei der Bewertung der anschließend berechneten Ergebnisse. In der qualitativen Auswertung wurden nur Patienten zusammengefasst, deren Bewegungsparameter gewisse Toleranzgrenzen nicht überstiegen. Insbesondere lassen sich anhand der berechneten Korrekturparameter Probanden bzw. Patienten ausschließen, die eine unerwünschte Korrelation der Bewegungen mit dem Paradigma aufweisen.

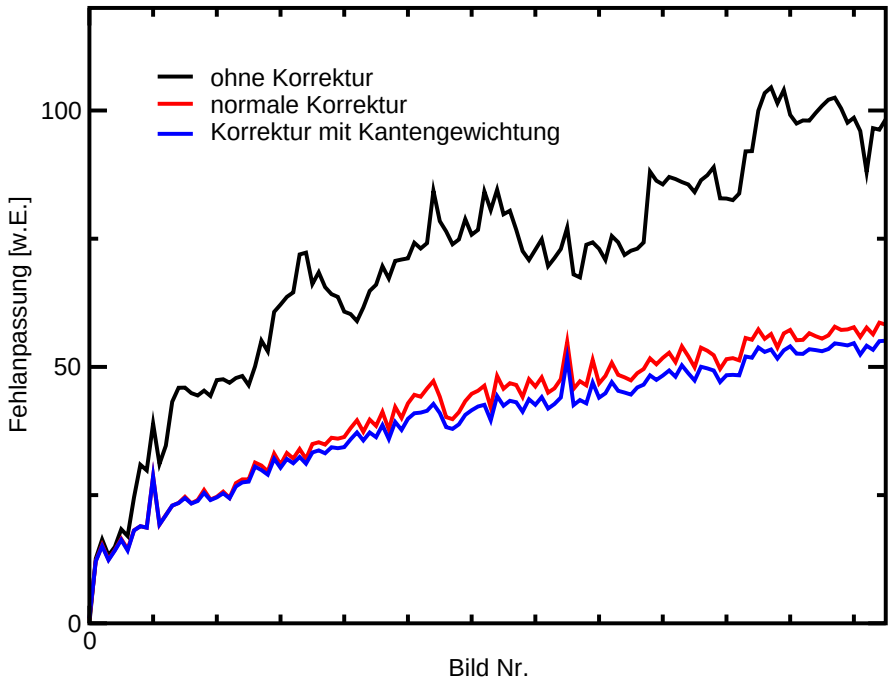


Abbildung 5.3.
Die Anpassung lässt sich durch die Kantenwichtung bei der Bewegungskorrektur geringfügig weiter verbessern.

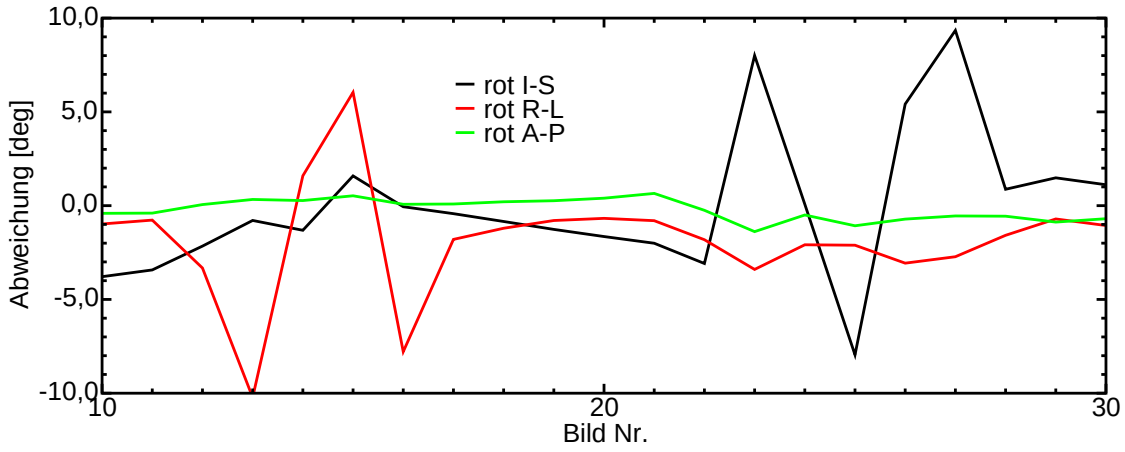


Abbildung 5.4.
Test des Korrekturalgorithmus durch definierte Kopfbewegungen. Nicken und seitliche Verdrehen des Kopfes wird korrekt als Rotation um die rechts-links (R-L) bzw. inferior-superior (I-S) Achse erkannt.

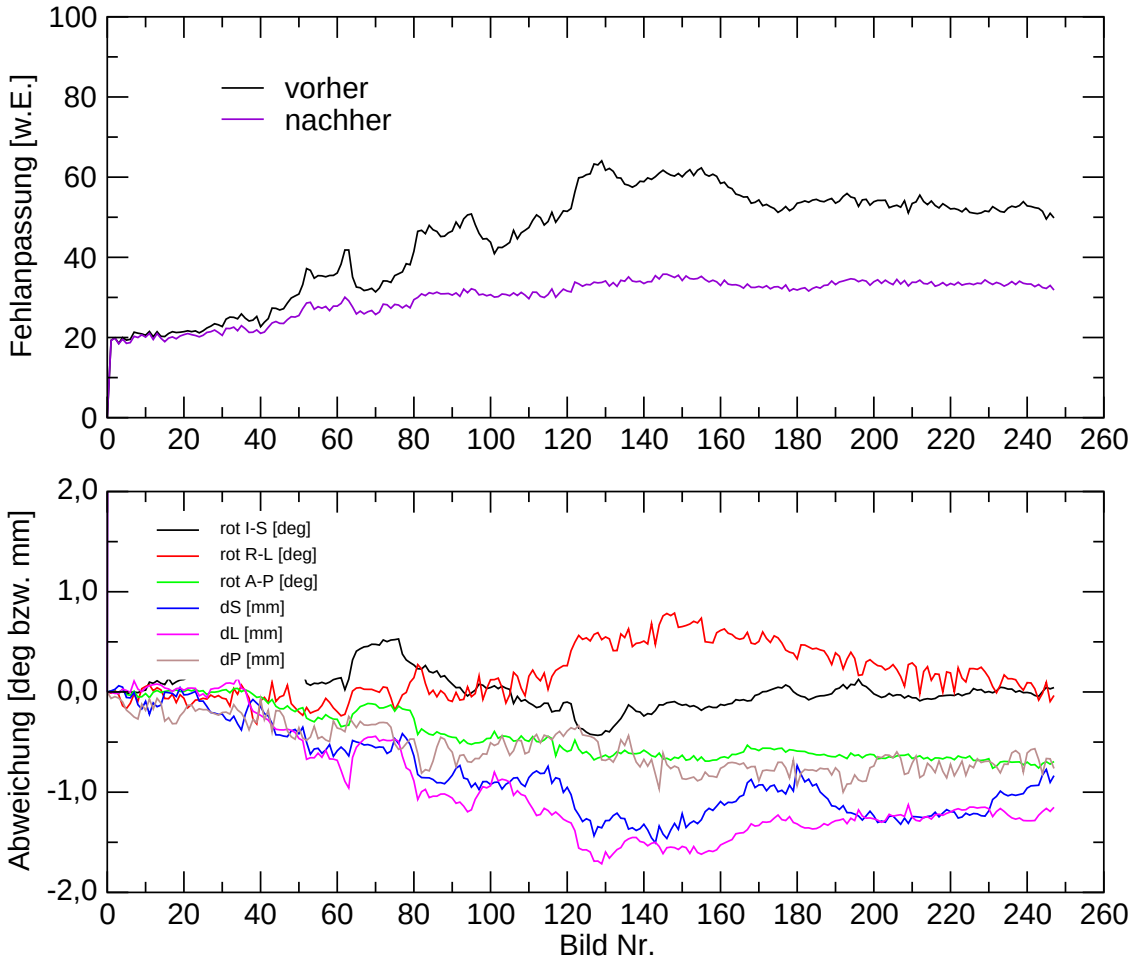


Abbildung 5.5.
Beispiel für Analyse und Korrektur kleiner Kopfbewegungen (Rotationen und Translationen) bei einer Probandenmessung (siehe Text).

5.3.2 Berechnung von Korrelationsmaps

Ziel der Datenanalyse ist es, Bereiche darzustellen, in denen durch das Mehrangebot an Sauerstoff Signalintensitätsänderungen induziert wurden. Die einfachste Vorgehensweise ist die Bildung von Differenzbildern, in denen die gemittelten Bilder aus Raumluftphasen von denen aus Hyperoxiephasen subtrahiert werden. Gerade bei kleinen ΔSI ist diese Methode allerdings sehr anfällig für Artefakte, es werden auch Änderungen dargestellt, die keinen Bezug zu der Sauerstoffadministration aufweisen und beispielsweise auf verbleibende kleinere Bewegungen zurückzuführen sind. Ein großer Teil der akquirierten Information – der zeitliche Verlauf der Signalintensität – wird bei der Berechnung solcher Differenzkarten nicht berücksichtigt.
Wesentlich robuster und auch sensitiver ist der Einsatz statistischer Analyseverfahren. Für jedes Voxel wird dabei die Null-Hypothese getestet, dass die Hyperoxie keinen Einfluss auf die Signalintensität in dem jeweiligen Voxel hatte. In der aktuellen Literatur zur Analyse funktioneller Datensätze kommen dabei meistens parametrische Verfahren zum Einsatz: sie setzten bestimmte Wahrscheinlichkeitsverteilungen der Daten voraus, die Hypothese wird anhand von Modellen für die unbekannten Parameter dieser Verteilungen formuliert und eine Statistik berechnet, die angibt, ob die Null-Hypothese (kein Effekt ist aufgetreten) verworfen werden kann [Hol97].
In der vorliegenden Arbeit wurde als parametrisches Verfahren eine Korrelationsanalyse verwendet. Aus den Signalintensitäts-Verläufen der Ausgangsdaten wurden mit Hilfe des Software-Paketes AFNI [Cox96] voxelweise Korrelationsmaps berechnet. Der Kreuzkorrelationskoeffizient cc beschreibt die Ähnlichkeit eines gemessenen Signalverlaufs f mit einer Referenzfunktion r [Ban93]. cc ist definiert als

$$cc = \frac{\sum_{i=1}^{N} (f_i - \mu_f)(r_i - \mu_r)}{\left[\sum_{i=1}^{N} (f_i - \mu_f)^2\right]^{1/2} \left[\sum_{i=1}^{N} (r_i - \mu_r)^2\right]^{1/2}} \tag{5.5}$$

f_i beschreibt die Signalintensität in einem gegebenen Voxel zu den Zeitpunkten $i = 1 \cdots N$. μ_f und μ_r sind die zeitlichen Mittelungwerte von f und r [Ban93].
In dem gegebenen Fall mit Hyperoxie als Stimulus repräsentiert r den Ablauf der Sauerstoffadministration. Korrelationsmaps wurden mit zwei verschiedenen Referenzfunktionen berechnet:

- eine Rechteckfunktion für die beiden Zustände EIN und AUS der Hyperoxie ("Boxcar"). Für das Füllen des gesamten Schlauchsystems sind etwas 15 s erforderlich. Um Einflüsse aus dem Gaswechsel zu vermeiden, wurden die ersten 30 s nach jedem Wechsel bei der Berechnung ausgeschlossen.

- eine Referenzfunktion, die die physiologische Reaktion darstellen soll. Dazu wurde

der geglättete Signal-Zeit-Verlauf aus einem großen Gefäß verwendet, gemittelt über Voxel, die gut mit der Rechteckfunktion korrelierten.

Unter der Annahme von weißem, unkorreliertem Rauschen in den Daten der Zeitserie kann der Korrelationskoeffizient in eine äquivalente t-Statistik umgewandelt werden:

$$t = cc \quad \sqrt{\frac{N-2}{1-cc^2}} \tag{5.6}$$

mit der Anzahl N von analysierten Bildern in der Zeitserie. $N-2$ ist die Zahl der Freiheitsgrade, da der Mittelwert und ein linearer Trend aus den Daten zuvor herausgerechnet wurden. Aus der t-Statistik kann ein Signifikanzniveau (P-Wert) berechnet werden. Damit kann für Sauerstoff-korrelierte Voxel ein Schwellenwert festgelegt werden, der die Wahrscheinlichkeit dafür angibt, dass nicht-aktivierte Voxel fälschlich akzeptiert werden (Fehler 1. Art: Null-Hypothese fälschlicherweise abgelehnt). Da sich die Analyse an der Auswertung von fMRI-Experimenten anlehnt, wird im Folgenden der Ausdruck "aktiviert" für Voxel verwendet, die auf Änderungen in der Sauerstoffkonzentration des Atemgases signifikant reagieren.

5.3.3 Festlegung einer Signifikanzschwelle

Aus Gleichung 5.6 ergibt sich, dass die t-Statistik und damit der P-Wert nur von der Länge der Zeitreihe abhängt, nicht aber von der Form und damit von der Komplexität der Referenzfunktion. Da aber in einer komplexeren Kurvenform (5 Wiederholungen der Hyperoxie) mehr Information steckt als in einer einfachen (2 Hyperoxie-Phasen), haben P-Wert-Berechnungen bei den beiden benutzen Paradigmen unterschiedliche Wertigkeit. Dies ist bei der Definition der Signifikanzschwellen zu berücksichtigen. Es musste eine Methode entwickelt werden, um objektiv unabhängige, aber gleichwertige Schwellenwerte festzulegen. Nur so konnten die Aktivierungs-Karten verglichen werden, die mit den zwei verwendeten unterschiedlichen Paradigmen aufgenommen wurden.
Dabei wurde von der Annahme ausgegangen, dass Signaländerungen in einer Zeit-Serie grundsätzlich einem thermischen und "physiologischen" Rauschen unterliegen und damit ohne Stimulation räumlich statistisch verteilt sind. Voxel, die signifikant mit der Sauerstoffgabe korreliert sind, sollten von so einer statistischen Verteilung abweichen. Darauf beruht die Festlegung des Schwellenwertes. Voraussetzung ist eine ausreichende Anzahl von aktivierten Voxeln. Daher eignet sich die Methode auch nicht für eine Anwendung in der fMRI, da dort meist nur kleinere aktivierte Areale existieren. Bei den Sauerstoffmessungen dagegen lassen sich in der Gesamtverteilung nicht-statistische Effekte deutlich abgrenzen. Die Signifikanzschwelle wurde solange erhöht, bis die Verteilung der verbleibenden, nicht-aktivierten Voxel mit einer Gauß-Kurve gefittet werden konnten. Der so gefundene Schwellenwert grenzt die Hyperoxie-Effekte ab von dem gaußverteilten Rauschen der ΔSI-Werte in nicht-aktivierten Arealen.

5.3.4 Fourier-Analyse

Zur Identifizierung der durch die Hyperoxie beeinflussten Voxel wurde als alternative Auswertungsmethode eine Fourier-Analyse verwendet. Dazu wurde die Frequenz der Sauerstoffadministration aus dem Zeitverlauf der Daten herausgefiltert. Diese Methode hat den Vorteil, dass durch die Sauerstoff-Gabe beeinflusste Voxel unabhängig von der genauen Signalantwort identifiziert werden können. Die Einbeziehung einer solchen Technik in die Datenanalyse war wichtig, da pathologisches Gewebe möglicherweise anders reagiert als gesundes. Um einen Vergleich mit der Korrelationsanalyse zu gewährleisten, wurde der Schwellenwert für die Intensität der Frequenz der Sauerstoffgabe so festgelegt, dass sich die Anzahl der aktivierten Voxel im gesamten Messvolumen bei beiden Auswertemethoden entsprachen.

5.3.5 Berechnung des relativen cerebralen Blutvolumens

Im direkten Anschluss an die O_2-gestützte Untersuchung wurde mit der gleichen Sequenz eine Kontrastmitteldynamik aufgenommen. Die Repetitionszeit wurde von 5s auf 3s verkürzt, um eine genaue Abtastung der Kurvenverläufe zu erzielen. Um aus den Anflutungskurven des Kontrastmittels relevante Informationen zu gewinnen, geht man davon aus, dass zwischen der Relaxationsrate $R_2^* = 1/T_2^*$ und der lokalen Relaxationsrate C_{KM} im Intravasalraum ein linearer Zusammenhang besteht [Fis91, Ros89]:

$$R_2^* = R_{2_0}^* + kC_{KM} \tag{5.7}$$

Bei Gradientenecho-Sequenzen lässt sich die Kontrastmittel-bedingte Änderung der Relaxationsrate ΔR_2^* und damit die Kontrastmittelkonzentration voxelweise zu jedem Zeitpunkt aus der gemessenen Signalintensität S berechnen:

$$\Delta R_2^*(t) = \frac{-\ln(S(t)/S_0)}{TE} \qquad \Longrightarrow \qquad C_{KM}(t) = \frac{-\ln(S(t)/S_0)}{kTE} \tag{5.8}$$

Nach der Indikatorverdünnungstheorie kann aus dem Konzentrations-Zeitverlauf $C_{KM}(t)$ das regionale cerebrale Blutvolumen (CBV) bestimmt werden [Zie62, Axe80]. CBV ist definiert als das vom Blut durchströmte Gefäßvolumen in einem Voxel dividiert durch die Gewebemasse in diesem Voxel [Bri97a]:

$$CBV = \frac{k_H}{\rho} \frac{\int_0^\infty C_{KM}(t)dt}{\int_0^\infty AIF(t)dt} \tag{5.9}$$

k_H ist ein fester Korrekturparameter, $\rho = 1.04\text{g/mm}^3$ die Dichte des Hirngewebes. AIF bezeichnet die arterielle Inputfunktion, also die Anflutungskurve in einem größeren versorgenden Gefäß. Die Bestimmung der AIF ist für die Berechnung absoluter Werte und

weitergehender physiologischer Parameter wie dem regionalen Blutfluss notwendig, bei der Angabe relativer Werte in unterschiedlichen Hirnregionen desselben Patienten ist eine Kenntnis der AIF nicht erforderlich. Quantitative Aussagen sind im Bereich des Tumors prinzipiell schwierig, da von Störungen der Blut-Hirn-Schranke (BHS) auszugehen ist. Die Indikatorverdünnungstheorie setzt jedoch intravasales Verhalten voraus, eine Forderung, die nur bei intakter BHS erfüllt ist.
Für die Berechnung relativer Blutvolumina (rCBV) reicht es nach Gleichung 5.9 aus, die Flächen unter den Konzentrations-Zeit-Kurven (Abbildung 5.6) zu berechnen.

$$\frac{CBV_{Region1}}{CBV_{Region2}} = \frac{\int_0^\infty -\ln(S(t)/S_0)_{Region1} dt}{\int_0^\infty -\ln(S(t)/S_0)_{Region2} dt} \tag{5.10}$$

Darüber hinaus wurde das relative cerebrale Blutvolumen (rCBV) als interessantester Parameter für einen Vergleich mit den Sauerstoffmessungen angesehen:

- *klinisch:* Über einen großen Bereich von Flussraten kann das cerebrale Blutvolumen als Maß für die Perfusion im Gleichgewichtszustand gesehen werden [Gru74]. Die klinische Relevanz von rCBV-Maps zur hämodynamischen Charakterisierung eines Tumors wurde insbesondere in Zusammenhang mit dem Ansprechen auf eine Radiotherapie gezeigt [Wen96, Sie97]. Der zugrunde liegende physiologische Mechanismus ist möglicherweise mit dem Oxygenierungszustand des Tumors in Verbindung zu bringen.

- *Relation zu dem BOLD-Effekt:* Die Menge des vorhandenen Blutes in einem Voxels ist mitbestimmend für die Größe des gemessenen BOLD-Kontrastes. Grundsätzlich gilt [Hog99]:

  $$\frac{\Delta\mathrm{BOLD}}{\mathrm{BOLD}} \propto \mathrm{CBV}_0 \left(1 - \left(\frac{\mathrm{CBV}}{\mathrm{CBV}_0}\right)\left(\frac{[\mathrm{dHb}]_V}{[\mathrm{dHb}]_{V_0}}\right)^{\beta}\right) \tag{5.11}$$

  Dabei beschreibt $[\mathrm{dHb}]_V$ die Konzentration des desoxygenierten Hämoglobins im venösen Blut. Unter Annahme eines unveränderten Blutvolumens während der Hyperoxie [Duo01] ist also der gemessene BOLD-Effekt dem Blutvolumen proportional. Unterschiedliche physiologische Reaktionen auf die Hyperoxie können im Vergleich verschiedener Hirn- und Tumorregionen nachgewiesen werden, wenn die Relationen der Blutvolumina bekannt sind.

Die Korrelation der Sauerstoffmessungen mit den relativen Blutvolumina sollte nachweisen, dass mittels des BOLD-Kontrastes physiologische Änderungen erfasst werden, die über eine reine Abbildung der Blutversorgung hinausgehen und die Reaktion des Tumors auf das vermehrte Sauerstoffangebot charakterisieren. Die Auswertung erfolgte sowohl qualitativ wie auch quantitativ:

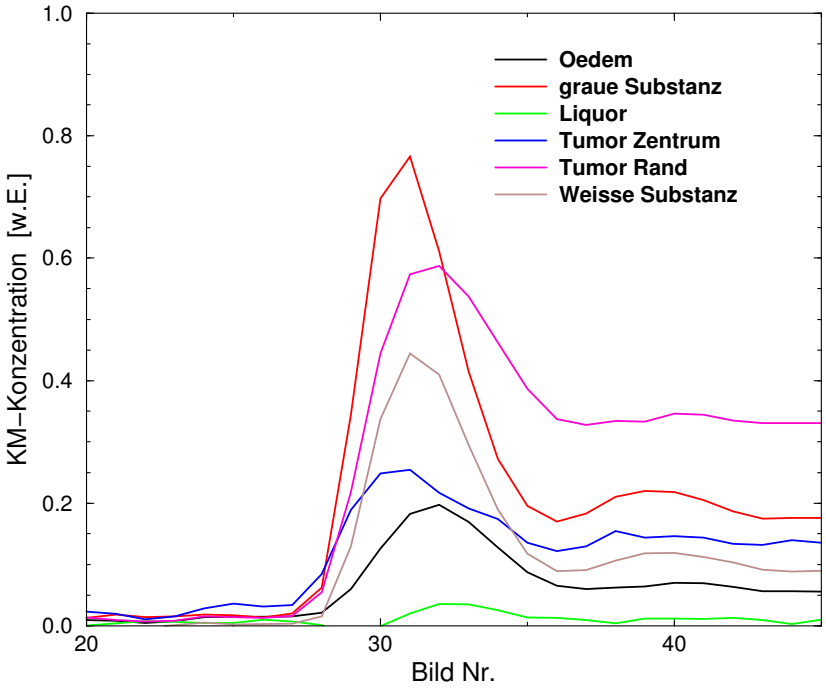


Abbildung 5.6.
Anflutungskurven $C_{KM}(t)$ des Kontrastmittels in verschiedenen Hirnregionen bei einem Patienten mit Glioblastom IV. Die Fläche unter dem ersten Peak beim First Pass des KM ist ein Maß für das relative regionale Blutvolumen in der jeweiligen Region.

1. *Vergleich von rCBV- und Sauerstoff-Maps.* Die Kontrastmuster der berechneten Korrelations-Maps aus der Sauerstoff-Untersuchung wurden qualitativ mit der Verteilung der Blutvolumina verglichen. Dabei wurden die abgebildeten Strukturen sowohl in nicht-betroffenen wie auch in Tumor-Regionen gegenübergestellt.

2. *Vergleich der Relationen verschiedener ROIs aus repräsentativen Gewebsregionen.* Falls rCBV den dominierenden Beitrag zum BOLD-Kontrast liefert, sollten sich gemessene mittlere Blutvolumina in verschiedenen ROIs genauso zueinander verhalten wie die mittleren durch den Sauerstoff induzierten Signaländerungen in den entsprechenden ROIs. Unterschiede könnten auf unterschiedliche physiologische Reaktionen bei der Sauerstoffgabe schließen lassen. Normiert wurde auf die in den Basalganglien gemessenen Werte.

5.3.6 Repräsentative anatomische Lokalisationen

Für eine quantitative Analyse wurden verschiedene repräsentative anatomische Lokalisationen (ROIs, regions of interest) im Gehirn untersucht:

- weiße Hirnsubstanz
- Basalganglien
- graue Hirnsubstanz (Kortex)
- Ventrikel
- Sinus Sagittalis Superior

Seitenabhängige Effekte wurden ausgeschlossen, indem die verschiedenen ROIs mit ihren kontralateralen Äquivalenten verglichen wurden. Außerdem wurden ROIs der gesamten beiden Gehirnhälften miteinander verglichen.
Für jede ROI wurden die folgenden Werte ermittelt:

- die mittlere ΔSI
- die Halbwertsbreite (FWHM) der ΔSI-Verteilung bei individuellen Probanden
- der Korrelationskoeffizient des über die ROI gemittelten Signalverlaufs

5.4 Ergebnisse der Probandenmessungen

Um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten, sind im Folgenden nur Probanden berücksichtigt, die unter identischen Bedingungen mit der Kombination aus Mundstück und Nasenklemme gemessen wurden. Variationen der Sauerstoffadministration sind unter 5.4.7 beschrieben. Es wurden 14 Probanden untersucht, 7 für jedes Paradigma (2 bzw. 5 Wiederholungen der Hyperoxie). In allen konnten signifikante, durch den Sauerstoff induzierte Signaländerungen nachgewiesen werden. Unerwünschte Nebenwirkungen durch die Hyperoxie wurden von den Probanden nicht berichtet und konnten auch nicht beobachtet werden.

5.4.1 Zeitverlauf

Nach dem Einsetzen der Hyperoxie stieg die mittels Pulsoxymetrie gemessene Sauerstoffsättigung innerhalb von etwa 70 s auf einen Wert von 100% an. Beim Wechsel zurück auf Raumluft dauerte es ca. 150 s, bis der Ausgangswert der Sättigung wieder erreicht war. Änderungen der Pulsfrequenz wurden dabei nicht beobachtet. Der Signal-Intensitäts-Verlauf in den Venen folgte der Entwicklung der Sauerstoffsättigung (siehe Abbildung 5.7). Die Übergangsphasen folgten einem exponentiellen Verlauf mit charakteristischen Zeiten von (63±9) s für den Anstieg bzw. (119±12) s für den Abfall. Um Einflüsse aus dem Übergang zu vermeiden, beziehen sich prozentuale Angaben zu Signaländerungen immer auf Mittelungen über die zweite Hälfte der jeweiligen Periode. Die größten ΔSI zeigten sich in den großen Venen, wie dem Sinus Sagittalis Superior ($> 30\%$) und dem Sinus Sagittalis Inferior ($> 20\%$). Im Gewebe dagegen lagen die ΔSI nur im Prozent-Bereich.

5.4.2 Rechteck-Korrelation mit dem Signalverlauf im Sinus Sagittalis Superior

Die Korrelationsanalyse wurde zunächst mit dem Signalverlauf im Sinus Sagittalis Superior (SSS) getestet, da dort der Effekt durch die Sauerstoffadministration am größten war. Als Referenz wurde zunächst die einfache Boxcar-Funktion mit EIN- und AUS-Status verwendet. Bei den Messungen mit langen Sauerstoffperioden (2 Wiederholungen) betrug der Korrelationskoeffizient $cc = 0.71$. cc nimmt leicht zu, wenn die Referenzfunktion gegenüber den Gaswechseln leicht verzögert angesetzt wird. Bei 40 s Verzögerung wird ein Maximum erreicht, bei dem der Korrelationskoeffizient knapp 20% über dem Wert bei unverschobener Referenz liegt (Abbildung 5.8). Wie beschrieben, wurde für das Rechteckparadigma eine Zeit von 30s für den Gaswechsel von der Analyse ausgeschlossen. Die Übergangsphase der Signalintensität ist aber nur zum Teil durch die Dauer des Gasaustausches in dem Atemsystem bedingt. Ein Großteil

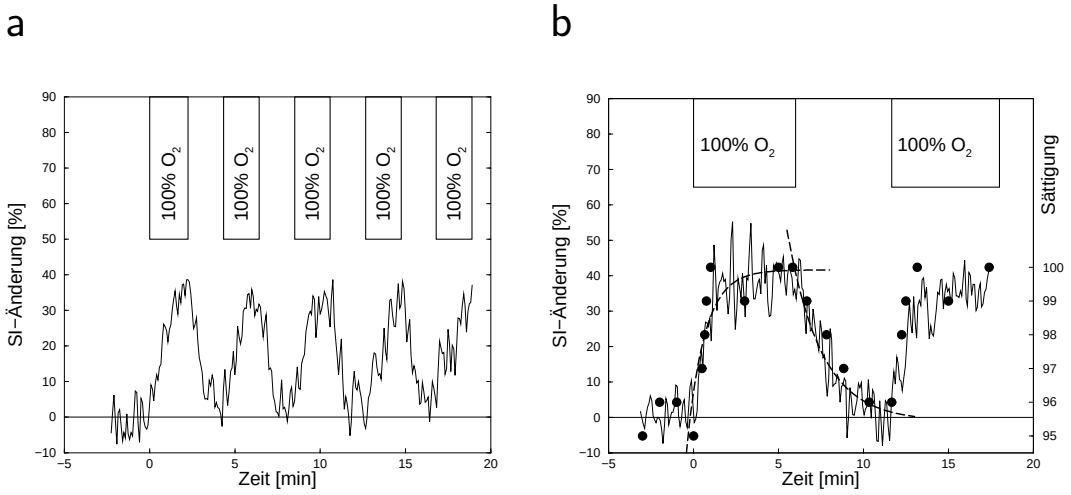


Abbildung 5.7.
*Signal-Intensitäts-Zeitverlauf aus einem Voxel des Sinus Sagittalis Superior, gemessen mit 5 Wiederholungen (***a***) bzw. 2 Wiederholungen (***b***) der Sauerstoffadministration. Ein exponentieller Fit, wie im Beispiel* **b** *(gestrichelte Linien) gezeigt, führt zu charakteristischen Zeitkonstanten von (63±9) s für den Anstieg bzw. (119±12) s für den Abfall. Der Verlauf korreliert mit der Sauerstoffsättigung (Kreissymbole), die während der Experimente mittels Pulsoxymetrie gemessen wurde.*

der Verzögerung des Signalanstiegs ist physiologischer Natur: es dauert eine gewisse Zeit, bis der erhöhte Sauerstoffpartialdruck in den Alveolen im Gleichgewicht mit einer erhöhten Sauerstoffkonzentration im Blut steht. Das Gleiche gilt für das Abatmen des Sauerstoffs nach Rückkehr zu normaler Raumluft. Allerdings spielten die Übergangsphasen bei den Messungen mit langen Sauerstoffperioden nur eine untergeordnete Rolle.
Bei den Messungen mit kurzen Sauerstoffperioden (5 Wiederholungen) nehmen die Übergangsperioden dagegen einen großen Teil der Messzeit ein. In der Korrelationsanalyse schlägt sich das in einem deutlich steileren Maximum bei der Verschiebung der Referenz um 40 s nieder (Abbildung 5.8). Gleichzeitig ist das Maximum auch etwas niedriger, da dem Signalverlauf im Übergang durch die einfache EIN-AUS-Referenz nicht Rechnung getragen wird. Allerdings ist die Wertigkeit einer Korrelation mit einem komplizierteren Paradigma höher, was bei der Festlegung einer Signifikanzschwelle berücksichtigt werden muss. Darauf wird in Abschnitt 5.4.5 genauer eingegangen.

5.4.3 Ableitung einer physiologischen Referenzfunktion aus dem Signalverlauf im Sinus Sagittalis Superior.

Eine einfache Boxcar-Referenzfunktion, die nur die Zustände EIN und AUS kennt, kann das Sauerstoff-Experiment nur ungenügend beschreiben. Ein Teil der Messung muss von der Analyse ausgeschlossen werden, um Einflüsse des Gaswechsels zu vermeiden. Wie im vorhergehenden Abschnitt gezeigt, kann eine physiologische Verzögerung bis zum

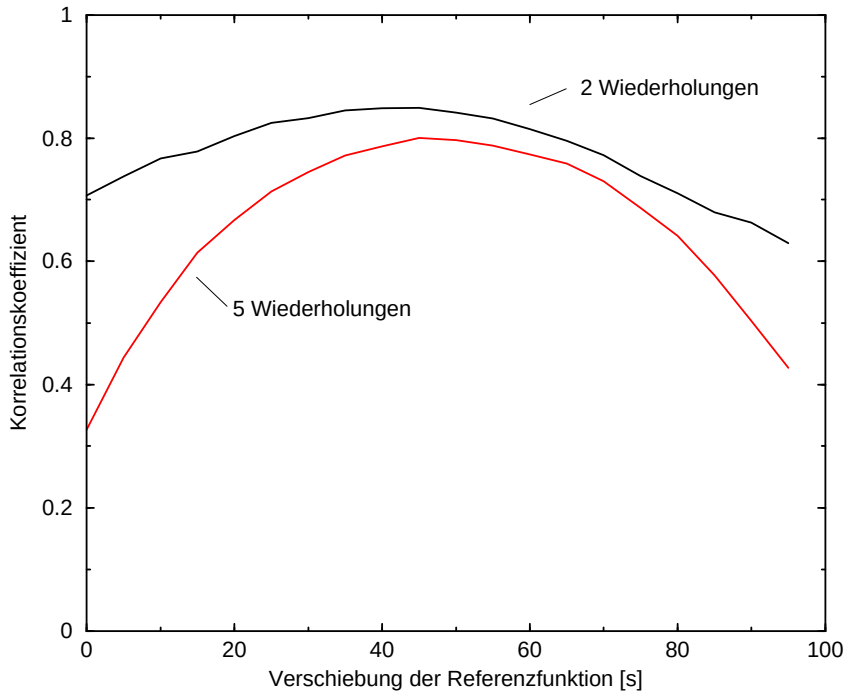


Abbildung 5.8.
Rechteck-Korrelation im Sinus Sagittalis Superior. Eine erhöhte Sauerstoffkonzentration im Sinus Sagittalis Superior stellt sich erst mit einer gewissen Verzögerung gegenüber dem Gaswechsel ein. Der Korrelationskoeffizient wird maximal, wenn die Referenzfunktion etwa 40s gegenüber dem Wechsel verschoben wird. Da in den Messungen mit 5 Wiederholungen die Übergangsphasen einen größeren Raum einnehmen, ist das Maximum bei diesen Experimenten wesentlich steiler.

Einstellen eines Blutgas-Gleichgewichts nur durch Verschieben der Referenzfunktion berücksichtigt werden.
Eine bessere Referenzfunktion sollte das Experiment daher nicht als einfaches Ein- und Ausschalten der Gaszufuhr beschreiben, sondern angeben, wie sich die Sauerstoffverhältnisse direkt im Gehirn ändern. Um das Signalverhalten während des ganzen Experiments zu beschreiben, wurde daher das Verhalten im venösen Abflussgebiet als Referenz angesehen. Zur Ableitung einer Referenzfunktion wurde der Signalverlauf im Sinus Sagittalis Superior gewählt, da die Voxel in diesem Bereich die deutlichste Sauerstoff-Verstärkung zeigten und die Signalintensitätsänderungen bei allen Probanden sehr gut reproduziert werden konnten. Eine halbautomatische Routine wurde verwendet, bei der der Sinus Sagittalis Superior per Hand in den Bildern identifiziert werden musste. Die Routine suchte anschließend nach den drei Voxeln, die den größten relativen Signalanstieg zeigten. Dabei wurden nur Voxel berücksichtigt, die signifikant mit der Boxcar-Referenz korrelierten. Auf diese Weise konnten Voxel mit geringen Ausgangsintensitäten vermieden werden, bei denen Rauschen zu hohen relativen Änderungen führen könnte. Voxel, bei denen der Anstieg nur auf einen linearen Drift während des Experiments zurückzuführen war, wurden ausgeschlossen. Der Signalverlauf in den drei ausgewählten Voxeln wurde gemittelt, tiefpassgefiltert und dann als Referenzfunktion zur Berechnung der Korrelations-Koeffizienten verwendet.
Korrelations-Koeffizienten in den verschiedenen ROIs sind in Abbildung 5.9 aufgetragen. Beim direkten Vergleich mit der Boxcar-Referenz erkennt man, dass die Korrelationskoeffizienten mit der so berechneten venösen Referenzfunktion in allen Regionen deutlich höher liegen. Die Unterschiede sind allerdings nur bei den Messungen mit 5 Wiederholungen für alle ROIs signifikant.

Vergleich von Aktivierungs-Karten Diese Resultate bestätigen sich auch beim Vergleich von Korrelations-Karten, bei denen die Koeffizienten voxelweise berechnet werden und nicht mit den gemittelten Signalverläufen in den ROIs. Die Abbildungen 5.10(b,c) und 5.10(f,g) stellen Boxcar- und venöse Referenz für 5 Wiederholungen (b,c) und für 2 Wiederholungen (f,g) der Sauerstoffadministration gegenüber. Die Karten der Korrelationskoeffizienten wurden dabei mit ΔSI gewichtet, da ΔSI unabhängig von dem Rauschanteil als Maß für den BOLD-Effekt betrachtet werden kann. Die venöse Referenzfunktion verbessert die Bildqualität und das Signal-zu-Rausch Verhältnis bei den Messungen mit 5 Wiederholungen deutlich. Dagegen erkennt man bei den Messungen mit 2 Wiederholungen kaum einen Unterschied. Wenn im Folgenden Korrelationskoeffizienten angegeben werden, beziehen sie sich immer – sofern nichts anderes vermerkt – auf eine venöse Referenzfunktion.

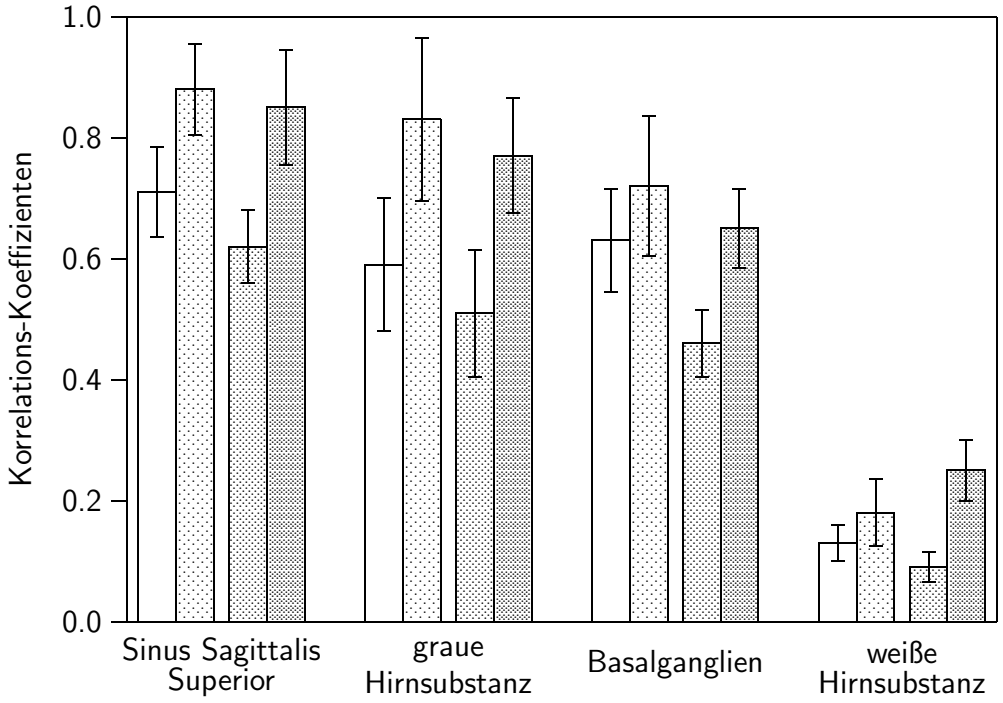


Abbildung 5.9. *Vergleich der Korrelation des gemittelten Signalverlaufs mit zwei verschiedenen Referenz-Funktionen. 2 Wiederholungen, Boxcar-Referenz, 2 Wiederholungen, venöse Referenz, 5 Wiederholungen, Boxcar-Referenz, 5 Wiederholungen, venöse Referenz. Die Boxcar-Referenz beschreibt die Sauerstoff-Administration durch ein einfaches EIN-AUS Schema. Die venöse Referenz leitet sich aus dem Signalverhalten im Sinus Sagittalis Superior ab.*

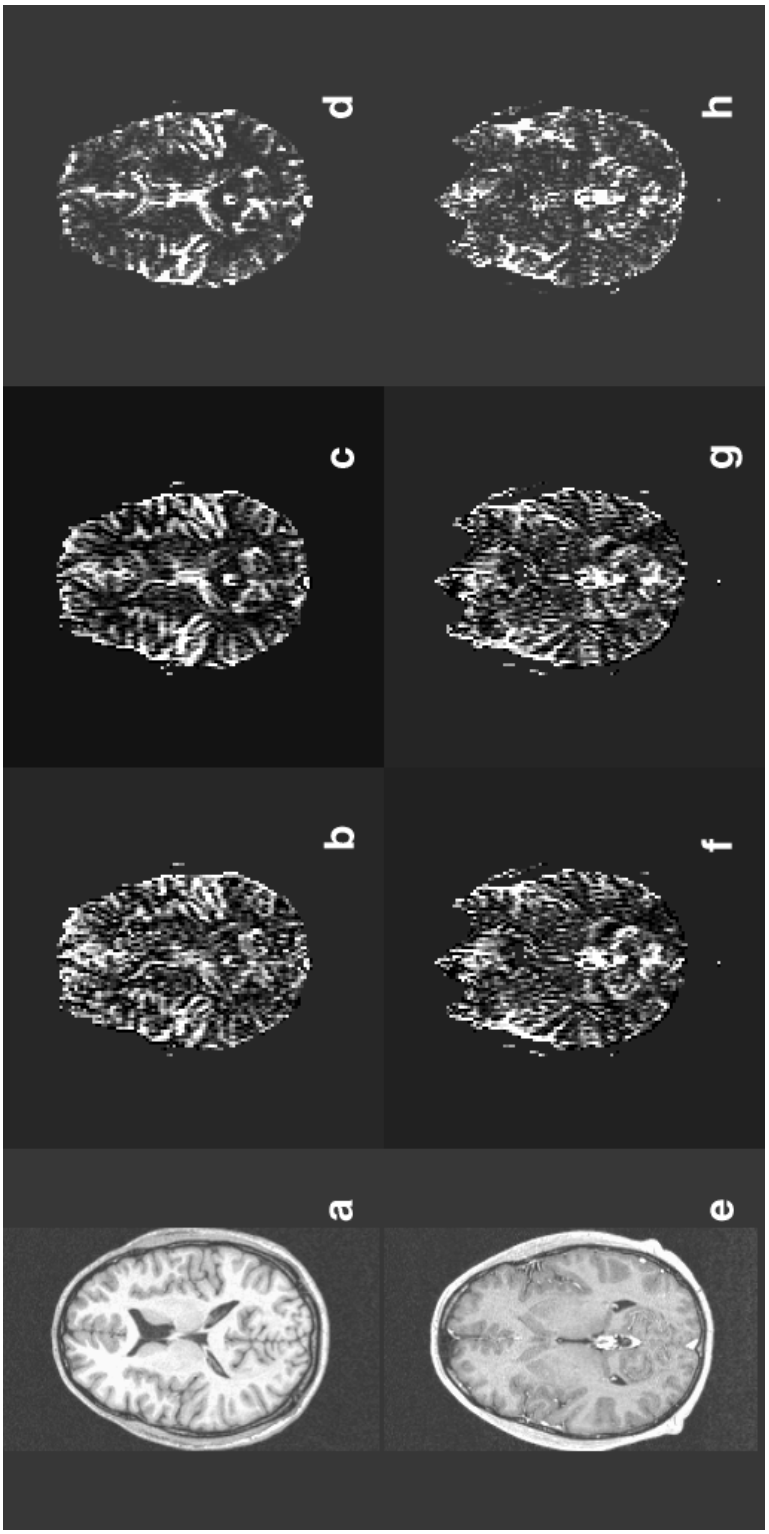


Abbildung 5.10.
*Vergleich verschiedener Auswerte-Techniken für die Hyperoxie-Antwort bei Probanden, Messungen mit 5 Wiederholungen (oben) und 2 Wiederholungen (unten). Von links nach rechts: T_1-gewichtete Bilder (**a**,**e**), Korrelations-Analyse mit verschobener Boxcar-Referenz (**b**,**f**), Korrelations-Analyse mit venöser Referenz (**c**,**g**) und FFT-Analyse (**d**,**h**). Die Korrelationskoeffizienten sind mit ΔSI gewichtet.*

5.4.4 Fourier-Analyse

Die gemessenen Intensitäts-Zeitreihen wurden voxelweise mit einer Fast-Fourier-Transformation in Frequenzspektren umgerechnet. Betrachtet man die Fourier-Transformierte in Voxeln mit hohen Korrelations-Koeffizienten, lässt sich deutlich die Frequenz der Sauerstoff-Administration in den Daten abgrenzen (Abbildung 5.11). In dem Beispiel mit 5 Wiederholungen der Messung wurde das Gas alle 2 min gewechselt. Die Messung hatte eine Periodenlänge von 240 s entsprechend einer Frequenz von $4\,10^{-3}Hz$.

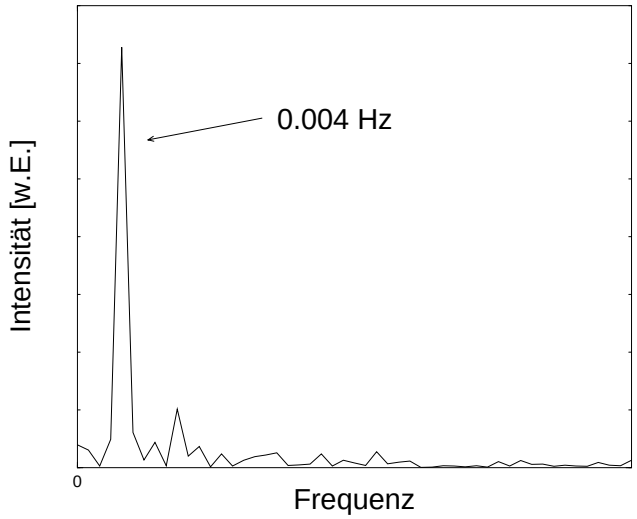


Abbildung 5.11.
Analyse des Frequenzspektrums eines Voxels im Sinus Sagittalis Superior. Der Wechsel des Atemgases mit einer Frequenz von $4\,10^{-3}Hz$ hebt sich in den Daten deutlich ab.

Die Intensität dieser Frequenz in dem Spektrum kann als Indikator dienen, wie stark das entsprechende Voxel auf den Sauerstoff reagiert hat. Daher wurden die Frequenz-Spektren als Grundlage benutzt, um für jede Schicht Parameter-Karten zu berechnen, in denen die Bildhelligkeit die Stärke der Frequenz der Sauerstoffadministration wiederspiegelt. Solche Karten sind in Abbildung 5.10(d und h) gezeigt und den Korrelations-Karten gegenübergestellt.
Aus der Abbildung ist ersichtlich, dass die Identifikation der Periodik der Sauerstoffgabe mittels Fourier-Analyse mit den Ergebnissen der Korrelationsanalyse vergleichbar ist. Bei den Messungen mit 5 Wiederholungen (Abbildung 5.10 d) ist qualitativ kaum ein Unterschied zu der Auswertung mit der venösen Referenzfunktion (Abbildung 5.10 c)

erkennbar. Grundsätzlich ist die Fourier-Methode auch bei Messungen mit 2 Wiederholungen (Abbildung 5.10 h) anwendbar. Es werden die gleichen Bereiche hervorgehoben wie in den Korrelationsmaps (Abbildung 5.10 g), allerdings unterscheiden sich die Bilder deutlich in den Details.
Für einen quantitativen Vergleich wurde ein Schwellwert bei der Fourieranalyse so festgelegt, dass beide Verfahren die gleiche Anzahl von aktivierten Voxeln im gesamten Messvolumen zeigen. Zwischen Korrelations- und Fourieranalyse unterschieden sich 11% der aktivierten Voxel bei der Auswertung der Messungen mit 5 Wiederholungen, 20% der Voxel bei 2 Wiederholungen.
Ein Vorteil der Datenanalyse mittels Fourier-Transformation ist, dass eine Kenntnis der genauen Form der Antwortfunktion nicht vorausgesetzt wird. Annahmen über die Reaktion des Gewebes fließen nicht in die Analyse ein. Gerade bei pathologischem Gewebe kann man nicht von der gleichen Signalantwort wie in gesundem Gewebe ausgehen. Bei den Patientenmessungen zeigte ein Teil der Tumore Areale, in denen die Signalintensität nur einen langsamen Anstieg beschrieb (Abschnitt 6). Bei der Korrelationsanalyse, die von dem venösen Verhalten ausgeht, waren solche Bereiche mit veränderter Antwortfunktion unterrepräsentiert.
Allerdings ist die Fourier-Analyse gegenüber der Korrelationsauswertung artefaktanfälliger. Informationen über die Form der Signalantwort sind dem Ergebnis nicht zu entnehmen, so werden beispielsweise Signalabnahmen genauso dargestellt wie Signalzunahmen.

5.4.5 Festlegung einer Signifikanz-Schwelle

Abbildung 5.12 zeigt die typische Verteilung von Signaländerungen im gesamten Gehirn eines Probanden (durchgezogene Linie). In dem Beispiel wurde mit 5 Wiederholungen der Sauerstoffadministration gemessen. Verglichen mit einer rein zufälligen Verteilung der Werte überwiegen deutlich die Signal-Erhöhungen. Das Histogramm wurde in aktivierte (Quadrate) und nicht-aktivierte (Rauten) Voxel abhängig von ihrem jeweiligen Korrelations-Koeffizienten cc eingeteilt. Der Schwellenwert, der aktivierte und nicht-aktivierte Voxel trennt, wurde so gewählt, dass sich die nicht-aktivierten Voxel durch eine Gaußkurve beschreiben ließen (gestrichelte Linie). Wie in Abschnitt 5.3.3 beschrieben wurde angenommen, dass die Signaländerung in Voxeln, die nicht mit der Sauerstoff-Administration korreliert sind, statistischer Natur sind.
Die Signifikanzschwelle, die auf diese Weise ermittelt wurde, stimmte für alle Messungen mit der gleichen Anzahl an Wiederholungen gut überein. Dagegen liefert die Methode signifikant unterschiedliche Schwellenwerte für die beiden unterschiedlichen Paradigmen. Für Messungen mit 5 Wiederholungen wurde ein Schwellenwert von $cc = 0.32 \pm 0.05$ ermittelt, was einem P-Wert von 10^{-7} entspricht. Für 2 Sauerstoff-Phasen ergab sich ein Schwellenwert von $cc = 0.47 \pm 0.04$, entsprechend $P < 10^{-15}$.

Wenn man diese Schwellenwerte zugrunde legt, zeigten alle Experimente einen übereinstimmenden Anteil an aktivierten Voxeln, unabhängig von dem verwendeten Paradigma: $20\% \pm 4\%$ für fünf Hyperoxie-Perioden und $21\% \pm 2\%$ für zwei Hyperoxie-Perioden. Korrelations-Karten in vergleichbaren Schicht-Positionen zeichneten aktivierte Regionen aus, die in Lokalisation und Größe vergleichbar waren. Signifikante Signalabnahmen wurden nicht beobachtet. Signifikante Aktivierung gab es nur in Voxeln mit positiver Signaländerung [Los02].

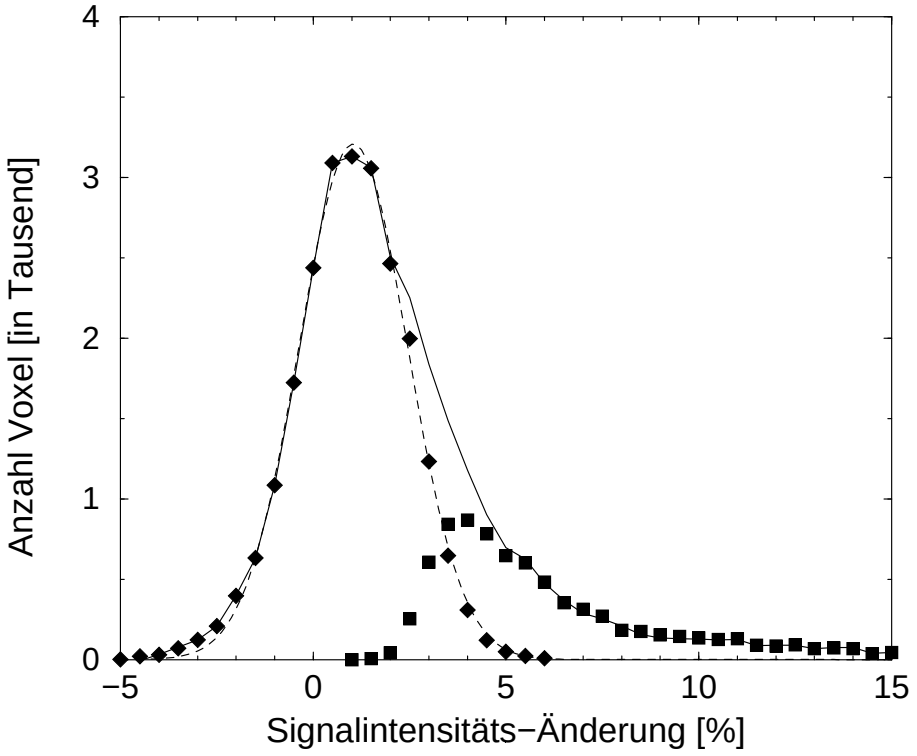


Abbildung 5.12.
Verteilung der relativen Signalintensitäts-Änderungen im gesamten Messvolumen (37786 Voxel) eines Probanden, der mit 5 Wiederholungen der Hyperoxie gemessen wurde (durchgezogene Linie). Die Verteilung kann in signifikant aktivierte (Rechtecke) und nicht-signifikant aktivierte (Rauten) Voxel aufgeteilt werden. Bei der Signifikanz der gezeigten Aufteilung ($\sigma < 10^{-15}$) lassen sich die nicht-signifikant korrelierenden Voxel mit einer Gauß-Kurve fitten (gestrichelte Linie).

5.4.6 Charakteristika im Gewebe

Das ΔSI in Voxeln, die mit der beschriebenen Methode nicht als aktiviert klassifiziert wurden, war um eine mittlere Signalanhebung herum verteilt. Die durchschnittliche prozentuale Signaländerung betrug $1.29\% \pm 0.15\%$ für eine Dauer der Sauerstoffgabe von 6 Minuten (zwei Perioden) und $0.94\% \pm 0.05\%$ für die 2-Minuten Administration (fünf Perioden). Zur Charakterisierung des Effektes in verschiedenen Gehirnregionen

wurden ROIs in die Basalganglien, in die kortikale graue Substanz, in die weiße Substanz und in den Liquor gelegt.

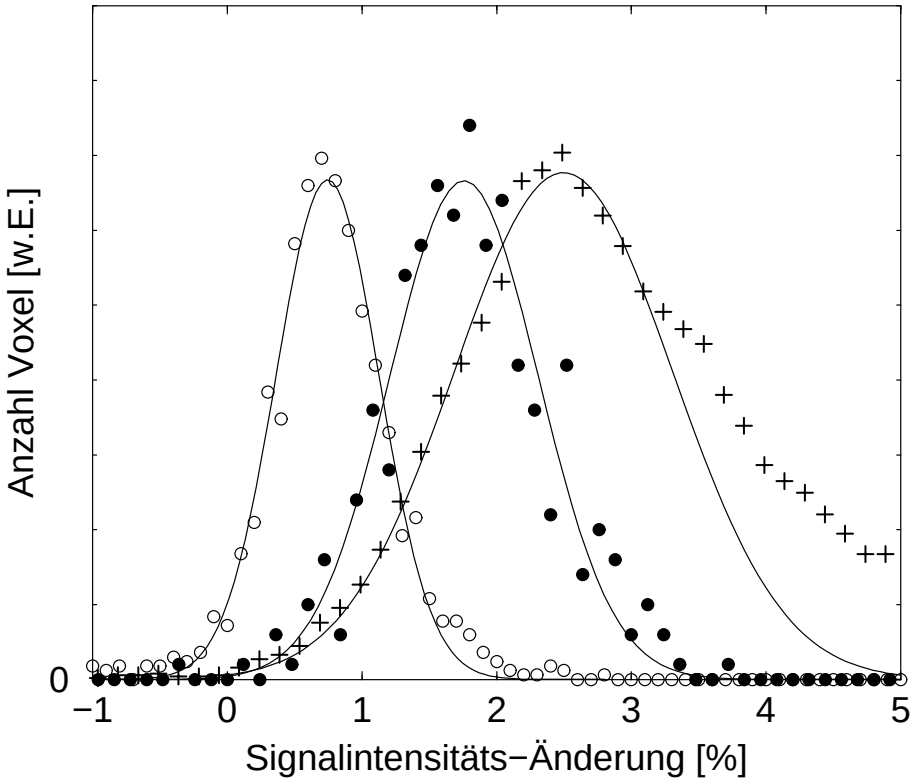


Abbildung 5.13.
Verteilung der Signalintensitäts-Änderungen während der Sauerstoff-Administration in weißer Substanz (offene Kreise, die ROI umfasste 1124 Voxel), in den Basalganglien (geschlossene Kreise, die ROI umfasste 395 Voxel) und in kortikaler grauer Substanz (Kreuze, die ROI umfasste 2270 Voxel) bei einem Probanden gemessen mit zwei Wiederholungen. Die durchgezogenen Kurven stellen Gauß-Fits der Verteilungen dar. Die Verteilung in kortikaler grauer Substanz kann interpretiert werden als Kombination einer Gaußverteilung in grauem Hirngewebe und größeren Signaländerungen in Gefäßen aus dazwischenliegenden Sulci, die bei der verwendeten Auflösung nicht getrennt werden konnten.

Wenn der Signalintensitäts-Zeit-Verlauf über alle Voxel in den Basalganglien gemittelt wurde, korrelierte die Kurve signifikant mit der Sauerstoff Administration ($cc = 0.72$). Die Signalintensität stieg um 1.7% während der Sauerstoff-Perioden. Wie man in Abbildung 5.13 erkennt, ähnelt die Verteilung der Signaländerungen einer Gaußkurve mit einer Halbwertsbreite von $1.43\% \pm 0.26\%$. Die Verteilung ist verschoben zu einer durchschnittlichen Signalanhebung von $1.71\% \pm 0.14\%$. Der Korrelationskoeffizient und die durchschnittliche Signalerhöhung waren etwas niedriger bei den Probanden, die mit den kurzen Sauerstoff Perioden gemessen wurden. Details können der Tabelle 5.2 entnommen werden.
Eine ähnliche Verteilung zeigte sich in Regionen weißer Substanz, die auch durch eine Gauß-Verteilung beschrieben werden konnte. Die Signalerhöhung war näherungsweise

5 Wiederholungen	2 Wiederholungen	
10^{-7}	10^{-15}	Signifikanzschwelle
$20\% \pm 4\%$	$21\% \pm 2\%$	Anteil an aktivierten Voxeln
$0.94\% \pm 0.05\%$	$1.29\% \pm 0.15\%$	durchschnittliches ΔSI der nicht-aktivierten Voxel

Tabelle 5.1.
Festlegung einer Signifikanzschwelle für zwei verschiedene Paradigmen der Sauerstoff-Administration. Nicht-aktivierte Voxel wurden über die statistische Verteilung ihrer Signaländerungen definiert. Dieses Vorgehen führt zu einem äquivalenten Anteil an aktivierten Voxeln bei beiden Paradigmen.

Paradigma	2 Perioden			
Region	weiße Substanz	Basalganglien	CSF	graue Substanz
mittleres ΔSI [%]	0.82 ± 0.08	1.71 ± 0.14	0.15 ± 0.09	3.41 ± 0.49
FWHM der Verteilung [%]	0.92 ± 0.18	1.34 ± 0.26	0.24 ± 0.09	1.57 ± 0.36
cc des gemittelten Signals	0.18 ± 0.11	0.72 ± 0.23	0.09 ± 0.04	0.83 ± 0.27
Paradigma	5 Perioden			
Region	weiße Substanz	Basalganglien	CSF	graue Substanz
mittleres ΔSI [%]	0.57 ± 0.12	1.48 ± 0.17	0.16 ± 0.11	3.09 ± 0.24
FWHM der Verteilung [%]	0.73 ± 0.22	1.11 ± 0.31	0.29 ± 0.11	1.71 ± 0.29
cc des gemittelten Signals	0.25 ± 0.10	0.65 ± 0.13	0.11 ± 0.08	0.77 ± 0.19

Tabelle 5.2.
Analyse repräsentativer anatomischer Regionen (ROIs). Angegeben sind die Mittelwerte aus Messungen bei jeweils sieben gesunden Probanden.

halb so groß wie die Erhöhung in den Basalganglien ($0.82\% \pm 0.08\%$).
Bei der räumlichen Auflösung, die in den GE-EPI Sequenzen verwendet wurde, konnte kortikale graue Substanz nicht klar von Gefäßen in dazwischenliegenden Sulci getrennt werden. Daher schließt die in Abbildung 5.13 dargestellte Verteilung auch hohe Signaländerungen ein, die als Gefäßsignal gedeutet werden können. Die hohen ΔSI ergänzen den Hauptteil der Signaländerungen, die um eine durchschnittliche Verteilung von $2 - 3\%$ herum verteilt sind. Signalerhöhungen bis ungefähr 3% sind in Abbildung 5.13 durch eine Gaußkurve angedeutet. Diese Kurve wurde als Grundlage verwendet für die Angabe von Halbwertsbreiten in Tabelle 5.2. Im Durchschnitt erhöhte sich die Signalintensität in grauer Substanz um $3.41\% \pm 0.49\%$.
Im Liquorraum konnten keine Signaländerungen nachgewiesen werden. Bei der Wahl der ROI war darauf zu achten, keine Voxel aus dem Plexus Choroideus einzuschließen. Im Plexus Choroideus korrelierte der Signalverlauf signifikant mit der Sauerstoff-Gabe. In keiner Region wurde ein negatives mittleres ΔSI beobachtet. Signalminderungen in einzelnen Voxeln wurden nur als Teil von statistischen Verteilungen beobachtet, wenn in einer Region das mittlere ΔSI klein oder Null war.
Die gesamte ΔSI-Verteilung war in beiden Hemisphären äquivalent. Zusätzlich zu Gewebe-spezifischen ROIs wurden Areale aus dem Temporal-, Okzipital-, Frontal- und Parietal-Lappen untersucht. In keiner dieser Regionen gab es signifikante Unterschiede zwischen den beiden Hemisphären.

5.4.7 Alternative Methoden zur Sauerstoffadministration

Die bei den Untersuchungen zur Administration der Atemgase verwendete Kombination von Nasenklemme und Mundstück wurde im Allgemeinen gut toleriert. Allerdings wurde der Druck durch die Nasenklemme bei längeren Messungen als unangenehm empfunden. Bei MR-Messungen mindert zusätzlich die räumliche Enge des MR-Tomographen den Komfort. Um die klinisch oft stark reduzierten Tumorpatienten möglichst wenig zu belasten wurden daher alternative Verfahren zur Administration des Sauerstoffs untersucht. Je zwei Probanden wurden mit Nasenbrille oder Gesichtsmaske (siehe Abbildung 5.14) gemessen. Für einen qualitativen Vergleich reicht es aus, anhand von bestimmten Merkmalen zu überprüfen, ob mit den verschiedenen Methoden der gleiche Effekt erzielt werden kann. Es wurde der Verlauf der pulsoxymetrisch gemessenen Sauerstoffsättigung und das MR-Signalverhalten in den großen Gefäßen verglichen.
Bei den Messungen mit einer Maske, wie sie in der Anästhesietechnik üblich ist, wurde der Gasfluss entsprechend den Mundstück-Messungen auf etwa $20l/min$ eingestellt. Die Gesichtsmaske wurde gut toleriert, durch die relative große Abdeckung des Gesichtsfeldes könnten sich aber Patienten, die zu Klaustrophobie neigen, zusätzlich eingeengt fühlen. In der Pulsoxymetrie konnte eine Anzeige von 100% Sauerstoffsättigung nicht

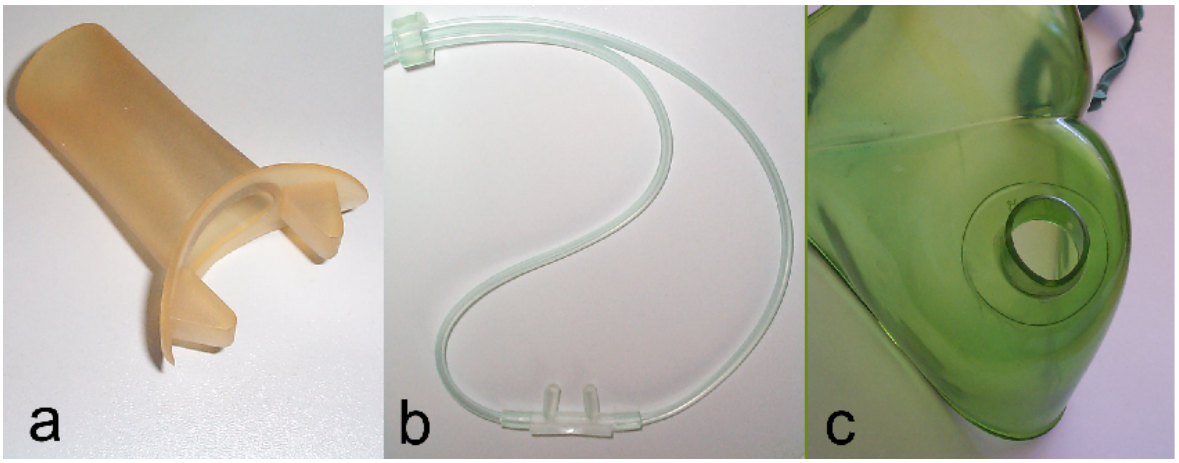


Abbildung 5.14.
Verschiedene Verfahren zur Administration des Sauerstoffs. (a) Mundstück. Das Atmen durch die Nase wurde durch eine Nasenklemme verhindert. (b) Nasenbrille. (c) Atemmaske.

erreicht werden, auch die erreichten ΔSI fielen im Vergleich zu den Messungen mit Mundstück deutlich geringer aus. Insgesamt scheint die Verwendung einer Atemmaske für eine definierte Sauerstoffadministration weniger geeignet.
In der klinischen Routine wird Patienten mit niedrigen Sauerstoff-Sättigungen häufig über eine Nasenbrille reiner Sauerstoff über einen längeren Zeitraum zugeführt. Diese Methode eignet sich auch für klinisch stark reduzierte Patienten. Der Patient atmet aber zum Teil an dem Naseneinsatz vorbei. Nur durch einen relativ hoch eingestellten Gasfluss wird der Naseninnenraum so weit durchflutet, dass in guter Näherung nur das durch das Schlauchsystem zugeführte Gas geatmet wird. Der Gasfluss wurde bei unseren Messungen so eingestellt, dass das anfänglich wahrgenommen Kitzeln in der Nase schon nach kurzer Zeit nicht mehr als störend empfunden wurde. Die Nasenbrille wurde von den Probanden insgesamt als am angenehmsten empfunden. Bei der pulsoxymetrischen Überwachung wurden mit der Nasenbrille eine gemessene Blutsauerstoffsättigung von 100% innerhalb der gleichen Anstiegszeiten erreicht wie bei den Messungen mit Mundstück. Auch die im Sinus Sagittalis Superior gemessenen Signalintensitätsänderungen unterschieden sich nicht signifikant. Insgesamt erscheint die Verwendung einer Nasenbrille für die O_2-gestützte Bildgebung gut geeignet, zum Ausschluss der Atmung durch den Mund ist man aber auf die Kooperation der Probanden und Patienten angewiesen.
Von der technischen Ausführung her kann nur das Mundstück mit anschließenden Filtern garantieren, dass der Patient das zugeführte Gas atmet. Bei einer Verwendung der Nasenbrille oder der Gesichtsmaske lässt sich eine Rückatmung der ausgeatmeten Luft oder das Einatmen von Umgebungsluft nicht ausschließen. In die quantitativen Auswertungen der Probandenmessungen wurden daher ausschließlich die Messungen mit Mundstück einbezogen, alle im Folgenden beschriebenen Patienten wurden mit

Mundstück gemessen. Wegen ihrer guten Akzeptanz kann aber die Verwendung der Nasenbrille als Alternative in Betracht gezogen werden, wenn Messungen bei einer größeren Anzahl von Patienten geplant sind.

5.5 Diskussion der Probandenmessungen

Mit den Probandenmessungen konnte gezeigt werden, dass reiner Sauerstoff prinzipiell geeignet ist, die Signalintensität von T_2^*-gewichteten Bildern im menschlichen Gehirn zu beeinflussen. Der größte Effekt zeigte sich in den Venen, eine Signalanhebung durch den Sauerstoff wurde aber in allen durchbluteten Geweben nachgewiesen.
Die Abwesenheit von negativen Signalintensitäts-Änderungen lässt darauf schließen, dass Vasokonstriktion als Folge des reinen Sauerstoffs bei den Messungen nur eine untergeordnete Rolle spielt. Eine Erniedrigung des Blutflusses durch Vasokonstriktion hätte auch eine Absenkung der gemessenen Signalintensität zur Folge. In den Messungen werden diese Effekte durch die Signalerhöhung aufgrund der erhöhten Sauerstoffkonzentration überkompensiert. Die beobachteten Signaländerungen sind demnach möglicherweise durch Flussänderungen vermindert. Flussänderungen können aber nicht der dominierende Faktor der beobachteten Signaländerungen sein. Die Unterschiede, die in Messungen mit variierendem CO_2-Gehalt der Atemgase beobachtet werden, spiegeln hauptsächlich Unterschiede im Blutfluss wieder [Tay00]. Der verwendete CO_2-Gehalt reicht dabei von 5% (Carbogen) bis zu reinem Sauerstoff, wie er in dieser Arbeit verwendet wurde. Aus dieser Bandbreite von Gasen können von reinem Sauerstoff die geringsten Effekte auf die Signalintensität erwartet werden, da das Signal nicht noch zusätzlich durch die Erhöhung des Blutflusses verstärkt wird. Die Verwendung von 100% Sauerstoff hat damit zum einen den Vorteil, dass die Signaländerungen nicht von Flusseffekten dominiert werden und somit leichter zu interpretieren sind. Zum anderen lässt sich eine Nachverarbeitungsmethode, die sehr geringe Effekte nachweisen kann, auch leicht auf Messungen mit größeren Effekten übertragen. Somit lassen sich die entwickelten Nachverarbeitungsmethoden auf alle Messungen anwenden, die auf der Signaländerung durch Gase mit hohen Sauerstoff-Konzentrationen basieren. Dies ermöglicht eine einheitliche Nachverarbeitung und damit einen objektiven Vergleich der Methoden.
Der Evaluation wurden Methoden zugrunde gelegt, die der funktionellen Bildgebung (fMRI) entstammen. Im Unterschied zur fMRI kann aber die Übergangsphase zwischen EIN- und AUS-Status nicht vernachlässigt werden. Das muss in der Wahl der Referenzfunktion und der Festlegung der Signifikanzschwelle berücksichtigt werden.
Referenzfunktionen, die aus dem Signalverlauf im Sinus Sagittalis Superior abgeleitet wurden, integrieren die Übergangsphasen am besten. Damit sind sie auch die beste Wahl für die Analyse der 2-minütigen Sauerstoff-Perioden. Wird hier nur eine Boxcar-Referenz benutzt, wird ein Teil des Effektes nicht erfaßt. Bei den Experimenten mit

6-minütigen Sauerstoff-Phasen spielen die Übergangszeiten nur eine geringere Rolle. Der generelle Vorteil einer venösen Referenzfunktion ist ihr Ursprung in der physiologischen Reaktion des Gesamtsystems. Dadurch werden Übergangsphasen und Unterschiede zwischen individuellen Probanden korrekt in die Analyse integriert. Obwohl die Referenzfunktion aus den gemessenen Daten abgeleitet wird, kann sie als objektive Methode betrachtet werden, wenn die dreistufige Vorgehensweise eingehalten wird, wie sie im Text beschrieben wurde:

1. Ableitung der Referenzfunktion aus der gleichen anatomischen Region in jeder Messung. Der Sinus Sagittalis Superior mit hohen, reproduzierbaren Signaländerungen ist zu diesem Zweck besonders geeignet.

2. Wahl von Voxeln mit hoher Korrelation zu der Boxcar-Referenz aus dieser Region.

3. Mittelung dieser Voxel und zeitliche Glättung des Signalverlaufs.

Allerdings können unterschiedliche anatomische Regionen und vor allem pathologisches Gewebe mit anderen Verzögerungszeiten und Charakteristika reagieren. Voxel mit so einem anderen Signalverhalten werden nicht adäquat von einer venösen Referenzfunktion repräsentiert. Hier ist eine zusätzliche Auswertung mit Hilfe der Fourier-Transformation von Vorteil. Die genaue Form der Antwortfunktion wird bei der FFT für die Analyse nicht benötigt; nur die Bandbreite der Antwort muss bekannt sein. Allerding ist diese Methode anfälliger für Artefakte, wenn nur zwei Wiederholungen der Sauerstoff-Administration angewendet werden. Die Artefakte können aus niederfrequenten Rauschkomponenten stammen, die ihre Ursache in langfristigeren physiologischen Verschiebungen oder in Instabilitäten der Messapparatur haben [Tur98]. Im Gegensatz zur Korrelationsanalyse berücksichtigt die Fourier-Analyse keine Details der Antwortfunktion.
In den meisten fMRI Experimenten wird der Schwellenwert für aktivierte Voxel auf der Basis eines frei gewählten P-Wertes festgelegt. Im Gegensatz dazu sollte in der vorliegenden Arbeit ein Verfahren entwickelt werden, das unabhängig von dem genauen Ablauf des Experiments (Anzahl der Wiederholungen, Länge der einzelnen Phasen, etc.) vergleichbare Ergebnisse liefert, die sich nur in ihrer statistischen Signifikanz unterscheiden. Mit der vorgestellten Methode konnten unterschiedliche Schwellenwerte für die beiden unterschiedlichen Paradigmen etabliert werden. Das ist wichtig, da bei der t-Statistik die Komplexität des Paradigmas nicht in die Berechnung eingeht. Das vorgestellte Verfahren liefert einen kleineren Schwellenwert für das weniger komplexe Paradigma (zwei Wiederholungen). Dieser Schwellenwert zeichnete eine vergleichbare Anzahl an aktivierten Voxeln in den gleichen Strukturen aus wie der höhere Schwellenwert des Paradigmas mit fünf Wiederholungen. Mit der beschriebenen Methode können passende P-Werte für jedes Experiment mit der gleichen Art der Aktivierung

gefunden werden. Auf diese Weise bestimmt die Wahl des Paradigmas nicht das Ausmaß der Aktivierung, sie legt nur die Signifikanz der Analyse fest. Die Messung mit 5 Wiederholungen liefert statistisch signifikantere Ergebnisse, dafür werden möglicherweise Effekte, die nicht instantan mit der erhöhten Sauerstoffkonzentration im Gleichgewicht sind, verdeckt. Die Methode verlangt eine ausreichend große Anzahl aktivierter Voxel relativ zu den nicht aktivierten. Im Gegensatz zu den meisten funktionellen Bildgebungs-Experimenten ist diese Voraussetzung hier erfüllt. Dass übereinstimmende Werte für alle Probanden innerhalb einer Paradigmen-Gruppe gefunden wurden, kann als Bestätigung für das Vorgehen dienen. Der Erfolg des Konzeptes liegt vor allem darin, dass aus den berechneten Signifikanzniveaus für beide Paradigmen eine vergleichbare Anzahl aktivierter Voxel resultierten. Korrelationsmaps in vergleichbaren Schichtpositionen entsprachen sich damit unabhängig vom gewählten Versuchsablauf. Die Signalanhebung durch den Sauerstoff in gesundem Gewebe ist signifikant, wenn über mehrere Voxel gemittelt wird. Für einzelne Voxel wird die Antwort von Rauschen dominiert; der gemessene Signalanstieg lässt sich nur statistisch nachweisen. Man kann annehmen, dass Sauerstoff-Aktivierungs Karten hauptsächlich das regionale Blutvolumen widerspiegeln [Ber95]. Diese Annahme wird durch das Verhältnis des Signalanstiegs in grauer zu dem in weißer Substanz von ungefähr zwei unterstützt, das auch für das Verhältnis der Blutvolumina in diesen Regionen gilt [Ber99]. Man muss allerdings davon ausgehen, dass dieser einfache Zusammenhang in pathologischem Gewebe nicht aufrecht erhalten werden kann.
In der Auswertung zeigten sich die Messungen mit 5 Wiederholungen v.a. bezüglich des Signal-Rausch Verhältnisses überlegen, aktivierte Areale ließen sich deutlicher abgrenzen. Die Vorteile waren allerdings nicht so erheblich, dass sie die Nachteile der kürzeren Hyperoxie-Phasen aufwiegen würden: die Messungen waren vom Übergang zwischen den beiden Atemgasen geprägt, in das Ergebnis ging weniger der erreichte Gleichgewichtszustand ein. Dabei werden möglicherweise langsamere physiologische Effekte übersehen. Daher wurde für die Patientenmessungen das Paradigma mit 2 Wiederholungen und 6min Sauerstoffphasen gewählt. Um die Artefaktanfälligkeit auf ein ähnliches Maß wie bei 5 Wiederholungen zu reduzieren, wurden aus den Probandenmessungen Referenzen abgeleitet, die in jeder Messung gut reproduzierbar sein sollten. Eine qualitativ hochwertige Patienten-Messung musste daher folgende Kriterien erfüllen:

- Charakteristischer Signal-Zeit-Verlauf in großen Gefäßen wie zuvor beschrieben.
- Gaußförmige ΔSI-Verteilung in ROIs von gleichartigem Gewebe. Die Halbwertsbreite dieser Verteilungen kann als Maß für physiologisches Rauschen verwendet werden.
- Verhältnis des durchschnittlichen Signalanstiegs in gesunder weißer und grauer Substanz.

Die beschriebenen Ergebnisse sind in [Los02] veröffentlicht. Da die Patientenmessungen mit den gleichen Sequenzparametern am selben Gerät durchgeführt wurden, konnten auch die in gesundem Gewebe beobachteten Absolutwerte als Kriterium gewertet werden, in dessen Rahmen sich die Patientenmessungen bewegen sollten.

Kapitel 6

Patientenstudie

6.1 Messungen

Es wurden 30 Patienten mit histologisch gesicherten Hirntumoren (primäre Hirntumore und Metastasen von Bronchialkarzinomen) untersucht. Bei keinem der Patienten konnten negative Auswirkungen des Atmens von reinem Sauerstoff beobachtet werden. Die begleitende Pulsoxymetrie zeigte im Vergleich zu den Probanden keine wesentlichen Unterschiede.
In die Auswertung wurden 17 Patienten aufgenommen (6 Glioblastome Grad IV, 2 Astrozytome Grad II-III, 9 Patienten mit Metastasen von Bronchialkarzinomen). Ausgeschlossen wurden Datensätze nach folgenden Kriterien:

- Überschreiten der Grenzen für die Bewegungsparameter (siehe Abschnitt 5.3.1)
- eine abgebrochene Messung, bei der nur eine Hyperoxieperiode aufgenommen wurde
- Tumorgröße unter einem Durchmesser von 1.5cm
- Suszeptibilitätsartefakte durch Metallrückstände nach Trepanation
- ein Fall mit EPI-Artefakten durch Tumorlokalisation nahe am paranasalen Sinus
- Verwendung der Nasenbrille zur Sauerstoff-Administration

In diesen Untersuchungen sind eine etwas andere Verteilung der Signaländerungen und möglicherweise auch einzelne Ausreißer nicht auszuschließen, die das Gesamtergebnis verfälschen könnten.

Gesundes Gewebe - Sauerstoff. In gesundem Gewebe fand sich kein signifikanter Unterschied zu den Probandenmessungen [Los00b]. Man kann davon ausgehen, dass die Anwesenheit eines Tumors das Signalverhalten außerhalb der betroffenen Region selbst nicht beeinflusst. Die Anwendung der am Ende von Abschnitt 5.5 aufgestellten "Qualitätskriterien" war somit berechtigt und wurde von allen ausgewerteten Patienten erfüllt.

> **Aussage 1** *Die Sauerstoffmethode zeigt in gesundem Gewebe ein reproduzierbares Signalverhalten. Dieses Verhalten kann als Referenz für Abweichungen in pathologischem Gewebe dienen.*

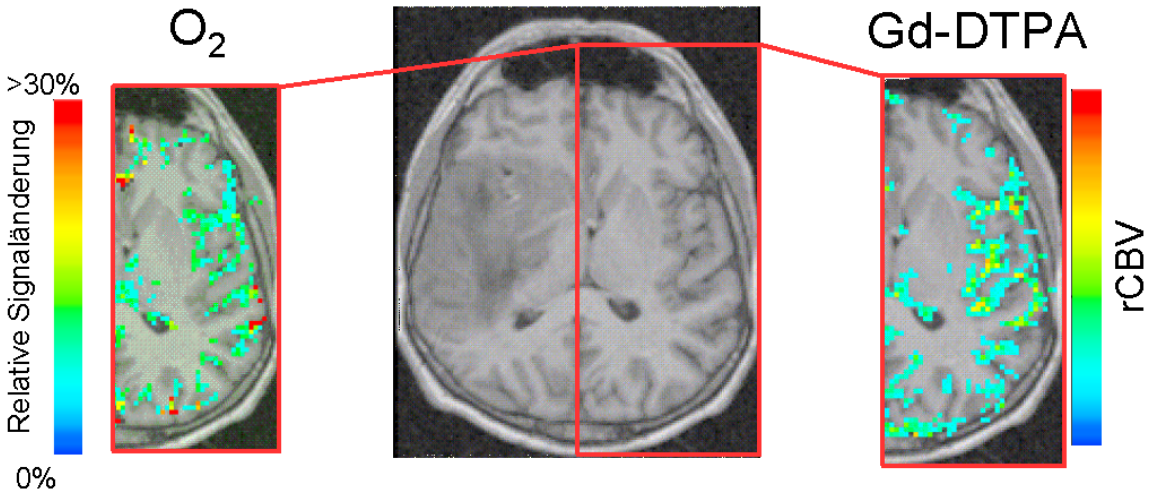


Abbildung 6.1.
Vergleich der in rCBV und Sauerstoffmessung hervorgehobenen Strukturen in gesundem Gewebe bei einem Patienten mit einem Astrozytom Grad III.

Gesundes Gewebe - Korrelation mit Blutvolumina.

1. *Vergleich der Parameterkarten.* Als Beispiel zeigt Abbildung 6.1 einen Vergleich von O_2- und rCBV-Maps der gesunden Hemisphäre eines Patienten mit high-grade Astrozytom. Links ist die hochaufgelöste T_1-gewichtete Aufnahme mit den Signaländerungen überlagert, die durch die Hyperoxie induziert wurden. Dargestellt sind Voxel ab einem Signifikanzniveau, das nach dem Schema aus Abschnitt 5.3.3 festgelegt wurde. Auf der rechten Seite sind dem T_1-gewichteten Bild die relativen Blutvolumina überlagert. Dabei wurde der Schwellenwert so angepasst, dass in Sauerstoff- und Blutvolumendarstellung eine entsprechende

Anzahl von Voxeln gezeigt sind. In beiden Bildern stellen sich vor allem die drainierenden Venen dar. Beide Messtechniken heben vergleichbare Strukturen hervor [Los01a]. Diese Beobachtung ließ sich bei allen Patienten reproduzieren.

2. Wie die ΔSI_{O_2}, waren die berechneten Blutvolumina im Liquor vernachlässigbar. Im Durchschnitt war das Verhältnis der rCBV in Basalganglien und weißer Substanz 1.8 (± 0.4). Es lag damit in derselben Größenordnung wie das Verhältnis der ΔSI_{O_2}, war aber bei 14 von 17 Patienten etwas kleiner. Der Unterschied ließe sich mit dem eher vasokonstriktiven Effekt von 100% Sauerstoff erklären. Die Differenzen waren jedoch insgesamt gering.

Aussage 2 *Der durch Hyperoxie induzierte BOLD-Kontrast wird in nicht-pathologischem Gewebe von den lokalen Blutvolumina bestimmt.*

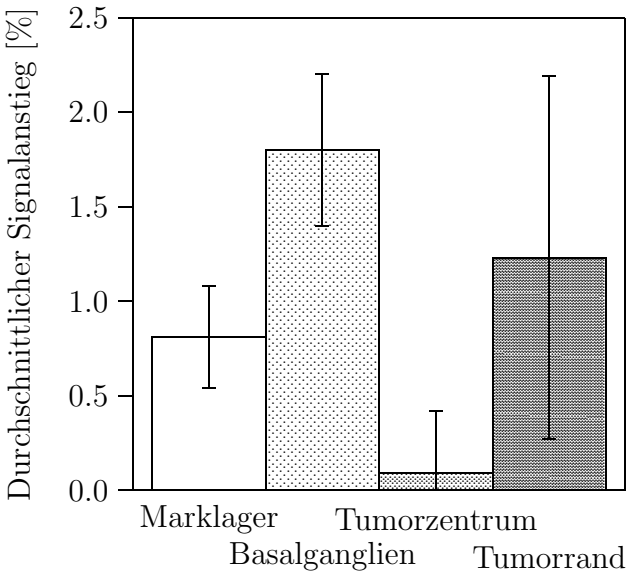


Abbildung 6.2.
Durchschnittlicher O_2-induzierter Signalanstieg in verschiedenen Regionen. Die Änderungen in gesundem Gewebe sind bei Probanden und Patienten sehr gut reproduzierbar, das Verhältnis zwischen Basalganglien und weißer Substanz lag konstant bei 2. Dagegen zeigten die Tumore ein individuell sehr unterschiedliches Verhalten.

Tumorgewebe - Sauerstoff. Gewebe von Metastasen und primären Hirntumoren mit einer von Wasser abweichenden Signalintensität in T_2-gewichteten Bildern und Signalanreicherung in T_1-gewichteten Sequenzen nach intravenöser Gd-DTPA Gabe wurde als vitales Tumor-Gewebe definiert. Regionen mit Flüssigkeits-intensem Signal in T_2-gewichteten Bildern in zentralen Tumor-Arealen wurde als nekrotisches Tumor-Gewebe eingestuft. Alle Tumore wurden durch Störungen in der Blut-Hirn-Schranke abgegrenzt. 11 Tumore zeigten ein perifokales Ödem. Die Tumor-Regionen wurden von einem erfahrenen Radiologen in konventionellen, hochaufgelösten MR-Bildern per

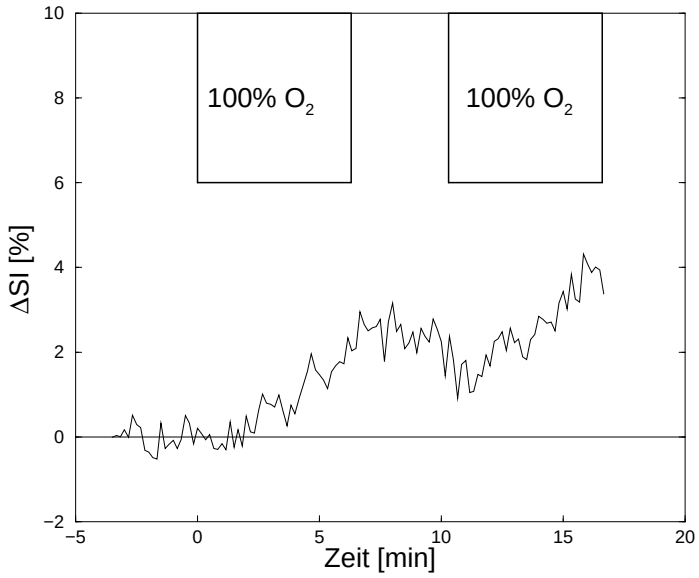


Abbildung 6.3.
Gemittelter Signalverlauf im Tumorrandbereich eines Patienten mit Hirn-Metastasen. Verglichen mit Venen oder gut durchblutetem gesundem Gewebe steigt die Signalintensität wesentlich langsamer an, ohne während der 6 minütigen Hyperoxie-Phase wirklich eine Sättigung zu erreichen.

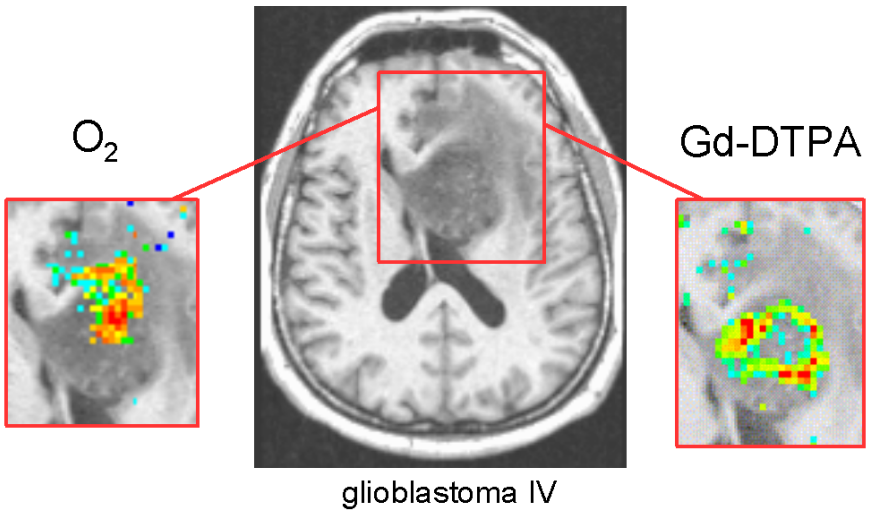


Abbildung 6.4.
Tumorregionen mit verzögertem Signalanstieg (links). Das hervorgehobene Areal korreliert weder mit besonderen morphologischen Merkmalen noch mit den lokalen Blutvolumina (rechts).

Hand segmentiert und in entsprechende Regionen der EPI-Bilder übertragen. In Tumoren ohne Nekrose wurde der gesamte Tumor segmentiert, mit einer durchschnittlichen Größe von $825 \pm 595\text{mm}^2$. Teilweise nekrotische Tumore wurden in nekrotische Areale ($436 \pm 412\text{mm}^2$) und in vitales Tumor-Gewebe ($992 \pm 639\text{mm}^2$) aufgeteilt. Regionen mit perifokalem Ödem waren im Durchschnitt $1265 \pm 644\text{mm}^2$ groß.
In morphologisch als nekrotisch klassifizierten Arealen wurden keine signifikant aktivierten Voxel gefunden. Auch statistisch war kein Effekt nachzuweisen; die mittlere Signaländerung lag bei 0.09% (± 0.34%) [Los01b]. Anders verhielt es sich am Tumorrand, in dem vitale Tumorzellen erwartet werden können. Hier lag der mittlere Anstieg zwischen den Werten für weiße Substanz und Basalganglien (Abbildung 6.2 [Los01b]). Auffällig war eine sehr große Streuung zwischen den Patienten [Los00a]. Die Änderungen bewegten sich zwischen keinem signifikanten und einem maximalen Anstieg von 3.2% . Die Streuung ist nicht allein auf eine größere statistische Unsicherheit aufgrund der kleineren ROIs im Tumorgewebe zurückzuführen, sondern spiegelt vermutlich die Heterogenität der individuellen Tumorreaktion wieder. Ähnliche Beobachtungen wurden auch schon in Studien mit Carbogen als Kontrast-induzierendem Atemgas gemacht [Gri97].
Die Beobachtung, dass gleichartige Gewebearten eine Gauß'sche Verteilung der Signaländerungen um einen charakteristischen Mittelwert zeigen, ließ sich für Tumorgewebe nicht aufrecht erhalten. Sofern die kleinen Voxelzahlen in den Tumor-ROIs eine Aussage erlauben, lag das Übergewicht bei höheren Signalanstiegen. Zusätzlich zeigten Teile des Tumorrandes bei manchen Patienten ein abweichendes Signalverhalten. Verglichen mit venösen Gefäßen oder den Basalganglien erfolgte der Anstieg nur verzögert und langsam und erreichte auch innerhalb der 6-minütigen Sauerstoffgabe kein Plateau. Nach dem Wechsel zurück zu Raumluft ging ΔSI wieder langsam Richtung Ausgangswert und stieg in der zweiten Hyperoxie-Periode wieder in der gleichen Weise wie in der ersten an (Abbildung 6.3). Die abweichende Kurvenform führte zu nicht-signifikanten Korrelationskoeffizienten. Da aber die Fourier-Analyse unempfindlich für die genaue Charakteristik der Systemantwort ist und das Signal genau der Periodizität der Sauerstoffgabe folgte, wurden solche Bereiche in den FFT-Maps hervorgehoben. (In Abbildung 6.7(c,d) des folgenden Abschnitts sind beide Auswertungen direkt gegenübergestellt.) Gezielt hervorheben ließen sich die Areale, wenn in Korrelationsberechnungen ein linearer oder schwach exponentieller Anstieg als Referenzfunktion eingeführt wurde. Ein Beispiel ist in Abbildung 6.4 auf der linken Seite dargestellt. Ein Bereich des Tumorrandes mit in das angrenzende Ödem reichenden Anteilen hebt sich deutlich hervor. Dieser Teil war weder mit morphologischen Merkmalen noch mit Parametern der Perfusion (rCBV, rechte Seite) korreliert, worauf im nächsten Abschnitt noch genauer eingegangen wird. Generell sind physiologische Änderungen, die nach der Hyperoxie erst allmählich einsetzen, eine mögliche Erklärung der langsamen Signaländerungen. Eine kürzlich durchgeführte in-vitro Studie an Zell-Linien menschlicher Gliome lässt

es beispielsweise möglich erscheinen, dass eine Änderung der Sauerstoff-Verfügbarkeit auch Änderungen der Sauerstoff-Extraktionsraten induziert [AT99].

> **Aussage 3** *Tumorgewebe reagiert im Vergleich zu gesundem Gewebe sehr heterogen auf die Hyperoxie. Abweichende Charakteristika im Signalverlauf mancher Tumore deuten auf langsame physiologische Änderungen hin.*

Die Ergebnisse belegen die Bedeutung der oben aufgestellten Referenzkriterien. Durch die Übereinstimmung der Messungen in gesundem Gewebe lassen sich Artefakte als Ursache für das abweichende und heterogene Tumorverhalten ausschließen.

Tumorgewebe - Korrelation mit Blutvolumina. Die beschriebene individuelle Heterogenität der Tumorantwort spiegelte sich auch im Vergleich mit den relativen Blutvolumina wider. Die Ergebnisse ließen sich grob in 3 Kategorien einteilen [Los01b]:

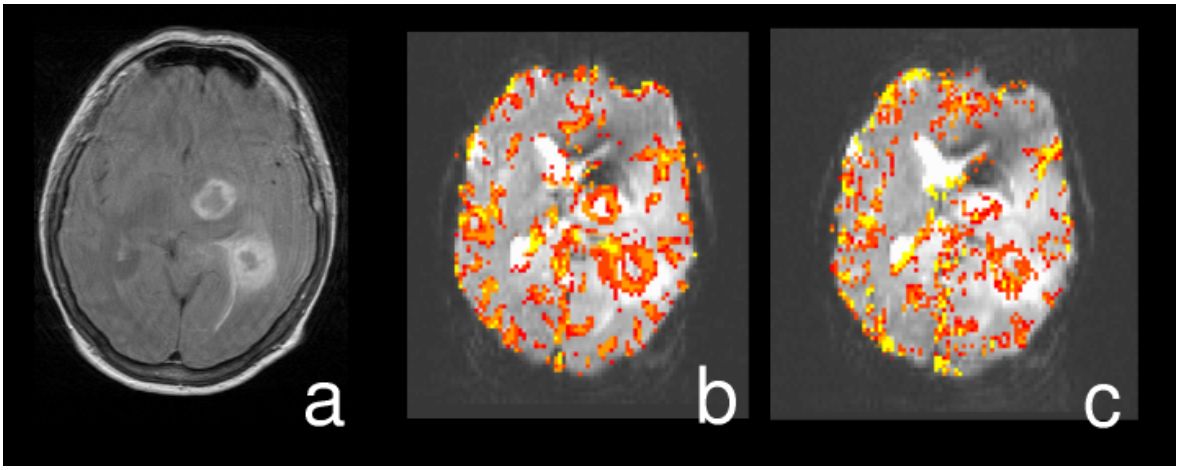


Abbildung 6.5.
*Patient mit Metastasen eines Bronchialkarzinoms. (**a**) T_1-gewichtete Messung nach Kontrastmittel, die Schichtführung von (a) unterscheidet sich etwas von der in (b) und (c). (**b**) rCBV. (**c**) Sauerstoffmessung.*

- In nur 2 von 17 Fällen wurden ähnliche Strukturen wie in den rCBV-Maps demarkiert. Das Beispiel in Abbildung 6.5 zeigt einen Patienten mit Metastasen eines Bronchialkarzinoms. Die weiter dorsal gelegene Metastase zeigt ein typisches ringförmiges Enhancement in der Sauerstoffmessung (c), wie es sich auch im rCBV Parameterbild (b) darstellt. Bei der anderen Metastase ist dieses Enhancement nur teilweise erkennbar.

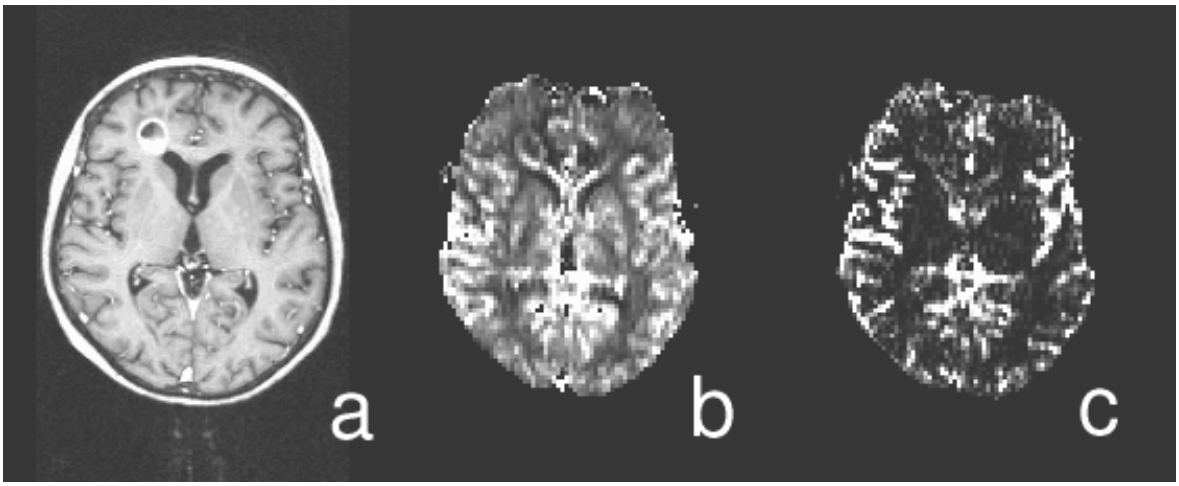


Abbildung 6.6.
Patient mit Metastasen eines Bronchialkarzinoms. **(a)** *T_1-gewichtete Messung nach Kontrastmittel.* **(b)** *rCBV.* **(c)** *Sauerstoffmessung.*

- Etwa die Hälfte (8 von 17) der Tumoren wurden als non-responder eingestuft. Dabei wurde als Grenze definiert, dass im Tumorbereich nur einzelne, nicht zusammenhängende Voxel das festgelegte Signifikanzniveau überschreiten. In Abbildung 6.6 sind Aufnahmen eines Patienten mit Metastasen eines Bronchial-Karzinoms gezeigt. Eine Metastase ist in der hochaufgelösten Aufnahme (a) rechts frontal zu sehen. Während die Blutvolumina randständig relativ große Werte aufweisen (b), deutet sich in der Sauerstoff-Messung (c) so ein Enhancement bestenfalls an. Zur objektiveren Beurteilung ist dieses Beispiel daher in einer schwarz-weiß Darstellung gezeigt. (Bei der Auswertung standen jeweils beide Darstellungen zur Verfügung.)

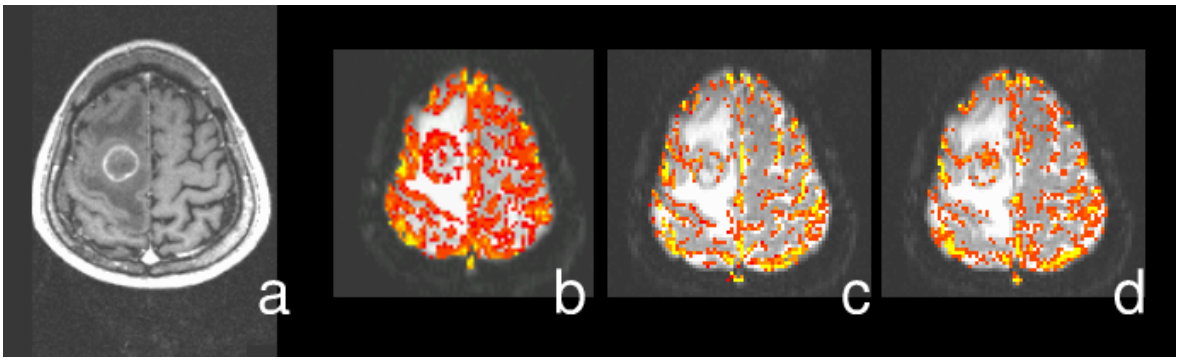


Abbildung 6.7.
Patient mit Metastasen eines Bronchialkarzinoms. **(a)** *T_1-gewichtete Messung nach Kontrastmittel.* **(b)** *rCBV.* **(c)** *Sauerstoffmessung ausgewertet mit einer Korrelationsanalyse.* **(d)** *Sauerstoffmessung ausgewertet mit einer Fourieranalyse.*

- Bei 7 von 17 Patienten unterschieden sich die im Tumor dargestellten Kontrastmuster zwischen rCBV und ΔSI_{O_2}. Bei diesen Patienten fanden sich auch die schon beschriebenen abweichenden Signalcharakteristika. Ein typisches Beispiel zeigt Abbildung 6.7. Links (a) die hochaufgelöste $T1$-gewichtete Aufnahme nach KM. Daneben (b) die Darstellung der relativen Blutvolumina in der entsprechenden Schicht. Während sich in der Korrelationsanalyse (c) eine Signalanhebung im Tumorrandbereich nur andeutet, erkennt man in der FFT-Analyse (d) zusätzliche Areale im Rand-Bereich, die besonders deutlich hervorgehoben werden und sich damit von der homogenen randständigen Kontrastmittelanreicherung unterscheiden.

In den rCBV-Maps zeigten alle Tumore ähnliche Kontrastmuster mit einem randständigen Enhancement. Damit müssen den Ergebnissen der Sauerstoffmessungen andere physiologische Eigenschaften der Tumore zugrunde liegen. Durchschnittlich war das rCBV im Tumorrand etwas größer als in den Basalganglien, während ΔSI_{O_2} sich zwischen den Werten für die Basalganglien und für weiße Substanz bewegte. Auffällig war der reduzierte bzw. verschwindende O_2-Kontrast in Gebieten mit relativ großen Blutvolumina. Möglicherweise kann dies als hinweisend auf eine Hypoxie im Tumorgewebe gewertet werden [Gil00].

> **Aussage 4** *Im Tumorgewebe lassen sich die beobachteten Signaländerungen nicht allein mit den Blutvolumina erklären.*

Aus den Daten ließ sich kein klarer Trend einer Korrelation mit Tumorart oder Tumorgröße ablesen. Da sich die einzelnen Tumore deutlich hinsichtlich ihres Stadiums und ihrer Größe unterschieden, wurde darauf verzichtet, die ΔSI_{O_2} mit dem Ansprechen des Tumors auf die jeweilige Therapie zu korrelieren.

6.2 Verlaufskontrollen

Bei 3 Patienten konnten Verlaufskontrollen unter Strahlentherapie durchgeführt werden. Hierbei handelte es sich um bis zu 4 Verlaufskontrollen innerhalb einer Zeitspanne von ca. 3 Monaten. Diese Verlaufskontrollen zeigten unter der Therapie keine signifikanten Änderungen der Signalverläufe in den Tumorarealen (Abbildung 6.8). Vor allem gab es während des Therapieverlaufs keinen Wechsel zwischen den gerade beschriebenen 3 Kategorien von Kontrastmustern im Verhältnis zu den Blutvolumina. Eine Interpretation des Verlaufs erschien vor einer genaueren Spezifikation der Kontrastmechanismen nicht sinnvoll.

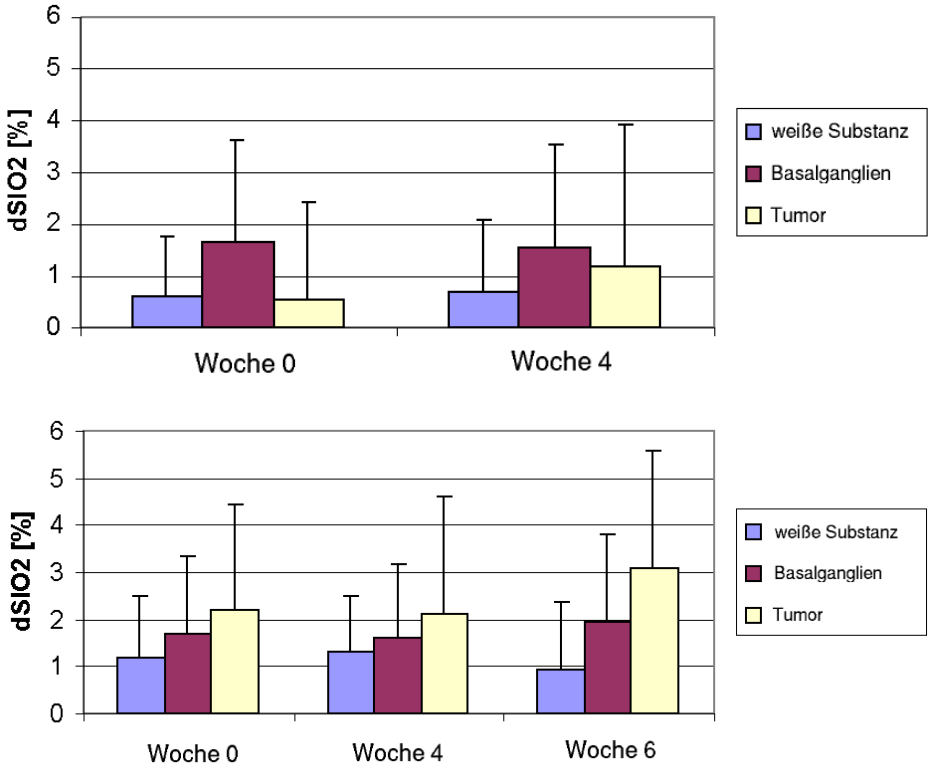


Abbildung 6.8.
Sauerstoff-induzierte Signaländerungen (dSIO2) während Radiotherapie, Patient mit Astrozytom Grad II-III (oben) und Patient mit Metastasen eines Bronchial-Ca (unten). Angegeben sind die mittleren prozentualen Signaländerungen bei Beginn (Woche 0), am Ende (Woche 4) und im unteren Fall zwei Wochen nach Radiotherapie (Woche 6). Im Zeitverlauf zeigen sich keine signifikanten Veränderungen (t-Test) der ΔSI_{O_2}.

6.3 Folgerungen und Diskussion

In der vorgestellten Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich Sauerstoff-induzierte Signalintensitätsänderungen auch am Menschen nachweisen lassen. Die unterschiedlichen physiologischen Voraussetzungen führen zu wesentlich geringeren Kontrasten als bei murinen Tumoren [Pel98a], die sich aber bei sorgfältiger Nachverarbeitung sicher nachweisen lassen. Durch die Verwendung von 100% O_2 wurden Flusseffekte vermieden, die bei Beimischung von CO_2 den dominierenden Beitrag zu dem Kontrast liefern [Rob99]. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die auf diese Weise beobachteten Kontrastmuster durch einen mit der Sauerstoffversorgung korrelierten, pathologischen Mechanismus im Tumor verursacht sind. Der erzielte Kontrast unterschied sich von der Information, die konventionelle T_1-, T_2- und T_2^*-gewichtete Aufnahmen mit und ohne Kontrastmittel liefern. Dadurch ist die Methode auch klinisch bedeutend hinsichtlich der Diagnostik bei Tumorpatienten; es konnte gezeigt werden, dass mit dem Sauerstoff-Kontrast ein zusätzlicher funktioneller Parameter erfasst werden kann.

6.3.1 Signalmechanismen

Aus den Ergebnissen der Probanden- und Patienten-Messungen wurde das folgende Modell entwickelt, das die in Abschnitt 3.1 beschriebenen Zusammenhänge auf die Gegebenheiten der Sauerstoff-Messungen anpasst. Die Größe, auf die durch das Experiment direkt Einfluss genommen wird, ist die Zusammensetzung des Atemgases und damit der Grad der Hyperoxie und Hypercapnie. Zusätzlich ist als Parameter noch der Status der Tumoroxygenierung gegeben.
Zunächst sollen Messungen mit reinem Sauerstoff betrachtet werden, wie sie in der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurden. Die Ergebnisse wurden in Abschnitt 6.1 zu vier wesentlichen Aussagen zusammengefasst:

1. Die Sauerstoffmethode zeigt in gesundem Gewebe ein reproduzierbares Signalverhalten. Dieses Verhalten kann als Referenz für Abweichungen in pathologisch verändertem Gewebe dienen.

2. Der durch Hyperoxie induzierte BOLD-Kontrast wird in nicht-pathologischem Gewebe von den lokalen Blutvolumina bestimmt.

3. Tumorgewebe reagiert im Vergleich zu gesundem Gewebe sehr heterogen auf die Hyperoxie. Abweichende Charakteristika im Signalverlauf mancher Tumore deuten auf langsame physiologische Änderungen hin.

4. Im Tumorgewebe lassen sich die beobachteten Signaländerungen nicht allein mit den Blutvolumina erklären.

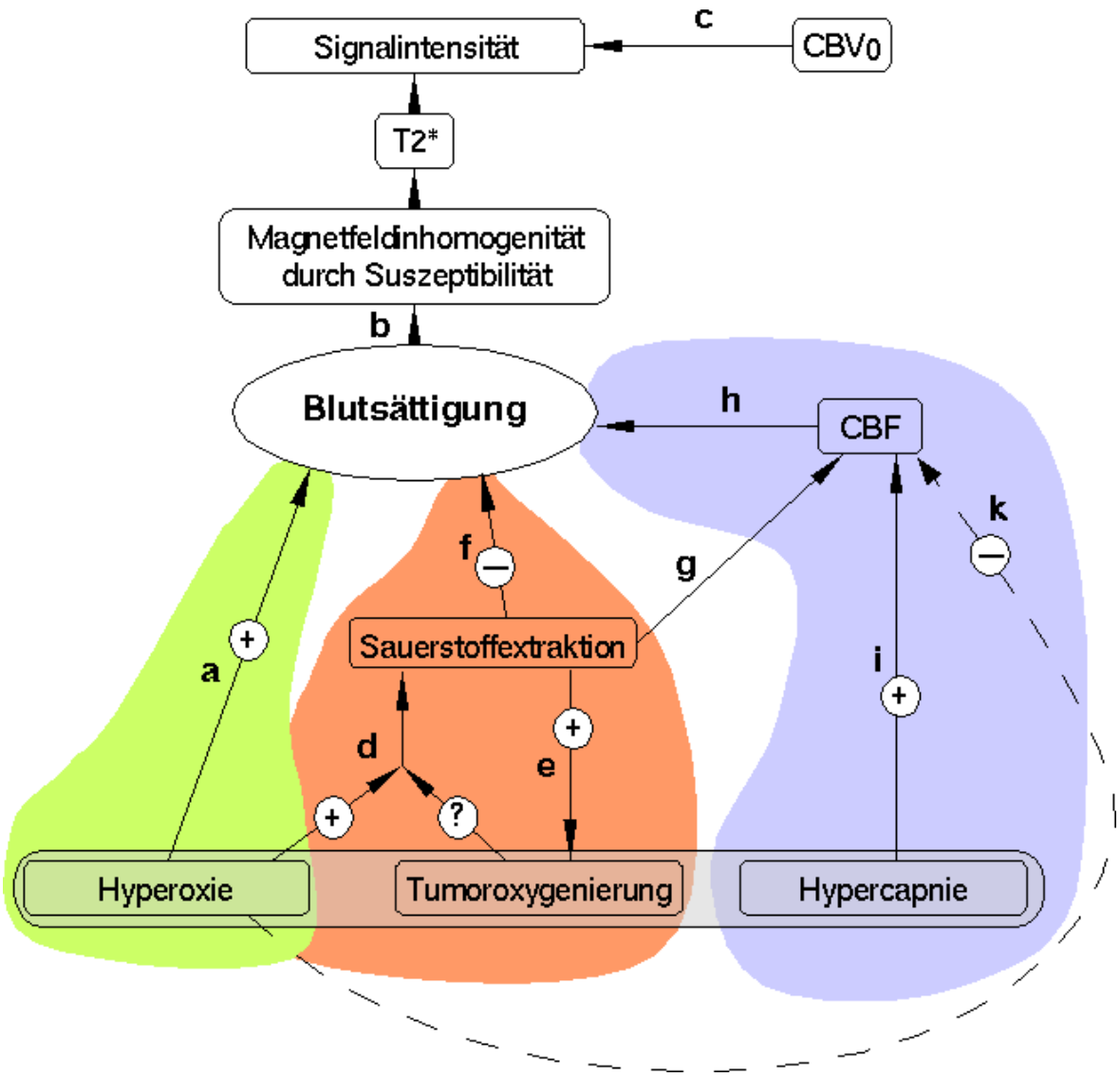


Abbildung 6.9.
Modell der Einflussfaktoren auf die Signalintensität bei Hyperoxie. Die Signalintensität steht über die lokalen Suszeptibilitätsgradienten in direktem Zusammenhang mit Änderungen in der Blutsättigung (BOLD-Effekt). Da fast ausschließlich positive Signaländerungen nachgewiesen wurden, kann der vasokonstriktive Effekt von reinem Sauerstoff gegenüber der direkten Sättigungserhöhung (Bereich) nur eine untergeordnete Rolle spielen. Damit ist das lokale Blutvolumen der Signal-bestimmende Faktor im einzelnen Voxel (Pfad **c**). *Abweichende Beobachtungen in Tumorgewebe lassen sich nur mit einer Beeinflussung der Tumorphysiologie erklären (Bereich). Beimischung von CO_2 verstärkt den Blutfluss, so dass dieser der bestimmende Faktor für den Kontrast werden kann (Bereich).*

Aussagen 1 und 2, Bereich aus Abbildung 6.9

Grundsätzlich beeinflusst die Hyperoxie die Blutsättigung sowohl direkt (Pfad **a**), wie auch indirekt durch Veränderungen von Blutfluss und -volumen (Pfad **k**). Reiner Sauerstoff hat einen eher vasokonstriktiven Effekt, der der Erhöhung der Sauerstoffsättigung entgegenwirkt. Die Messungen zeigen jedoch praktisch ausschließlich positive Signaländerungen (siehe Abbildung 5.12), damit muss in gesundem Gewebe der direkte Einfluss auf die Sättigung dominieren, Flusseffekte sind vernachlässigbar [Ket48, Duo01]. Pfad **a** bestimmt die Signaländerungen der Probandenmessungen (grün unterlegter Bereich in Abbildung 6.9). Die magnetischen Eigenschaften des Hämoglobins führen zu lokalen Suszeptibilitätsgradienten (Pfad **b**), die in dem einzelnen Voxel proportional zu dem Anteil des Blutvolumens (Pfad **c**) sind. Da in gesundem Gewebe andere physiologische Parameter nicht beeinflusst werden, erhält man ein Abbild der rCBV-Verteilung (Aussage 2).

Aussagen 3 und 4, Bereich aus Abbildung 6.9

Prinzipiell kann in Tumorarealen aufgrund gestörter Autoregulationsmechanismen mit einem anderen Verhalten physiologischer Parameter gerechnet werden als im übrigen Hirngewebe. Tumore reagieren auf das vermehrte Angebot an Sauerstoff vermutlich mit einer Änderung der Sauerstoff-Extraktionsrate, abhängig von ihrem jeweiligen Oxygenierungszustand (Pfad **d**) [AT99]. Die Rückkopplung (Pfad **e**) führt zu der in Abschnitt 4.4 beschriebenen Verbesserung der Oxygenierung bei der prätherapeutischen Anwendung der Hyperoxie. Mit dem Pfad **d** – **f** (bzw. gekoppelt über den Blutfluss **d** – **g** – **h**) lassen sich die Aussagen 3 und 4 erklären.

Messungen mit Carbogen, Bereich aus Abbildung 6.9

In der Literatur finden sich zahlreiche Studien, in denen Carbogen als Gas mit hoher Sauerstoffkonzentration verwendet wird [Rob95, Gri97, Tay01, Fan02]. Der Anteil an CO_2 erhöht den Blutfluss (Pfad **i**) und damit die Sauerstoffsättigung (Pfad **h**). Der in der Abbildung lila unterlegt Pfad **i** – **h** kann damit zum kontrastbestimmenden Mechanismus werden [How99, Jor00].

6.3.2 BOLD-Effekt und Tumor-pO_2

Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass sich am Menschen mit Sauerstoff-induzierten Signaländerungen Informationen über Tumor-Parameter gewinnen lassen, die über eine reine Darstellung der Morphologie hinausgehen. Zu den Mechanismen gibt es in der Literatur einige Grundlagenuntersuchungen, die an murinen Tumormodellen den BOLD-Effekt mit den Ergebnissen anderer Methoden vergleichen. Für die

vorliegende Arbeit sind vor allem folgende Fragestellungen von Interesse:
Können die gemessenen Kontrastmuster die Heterogenität des Tumor-Mikromilieus abbilden?
Beschreiben die gemessenen Signaländerungen quantitativ Änderungen im Tumor-pO_2?

In [Pel98b, Wei99] wurden MR-Signalintensitätsänderungen mit Messungen des Sauerstoffpartialdrucks (Eppendorf pO_2-Histograph) verglichen. Untersucht wurden BalbC Mäuse mit einem intra-muskulär transplantierten OTS 64 Osteosarcom. Aus den Messungen ergab sich der Trend, dass die MR Signalintensität zunimmt, wenn der hypoxische Tumoranteil während des Sauerstoff-Atmens abnimmt, und umgekehrt.
In [Fan02] wurden BOLD-Messungen mit ^{19}F-Messungen verglichen, als Gas wurde Carbogen verwendet. Die Kontrastmuster in den Bildern, die mit den beiden Methoden erzeugt wurden, waren sich sehr ähnlich. Der Vergleich mit der quantitativen ^{19}F Bildgebung des Tumor-pO_2 zeigt, dass Verbesserungen der Tumoroxygenierung mit der BOLD-Bildgebung prinzipiell sehr genau dargestellt werden können. Allerdings wurden in einzelnen Fällen Steigungen des pO_2 von der BOLD-Messung nicht erfasst. Dies könnte mit Unterschieden in der Gefäßstruktur zusammenhängen oder daran liegen, dass unter bestimmten Umständen Blut- und Gewebe-pO_2 nicht gut miteinander korreliert sind [Fan02]. In [Bau02] wurde die BOLD-Bildgebung an FSa Fibrosarkomen mit Fiberoptischen Messungen verglichen. Absolut konnten Änderungen des Tumor-pO_2 von dem BOLD-Effekt nicht quantifiziert werden. Qualitativ können T_2^*-gewichtete Bilder aber die Tumor-Oxygenierung erfassen; Änderungen in der Signalintensität und in T_2^* sind mit dem Tumor-pO_2 positiv korreliert. Legt man diese Ergebnisse zugrunde, könnte die in dieser Arbeit gemessene, heterogene Reaktion auf die Hyperoxie wiederspiegeln, wie der einzelne Patient auf die erhöhte Sauerstoff-Konzentration im Atemgas anspricht. Dies wäre wichtig für eine prätherapeutische Patientenselektion, da der individuelle Tumor sehr unterschiedlich auf Hypoxie-beeinflussende Therapien reagieren kann [Stu98].
In Abschnitt 6 wurde beschrieben, dass sich das BOLD-Signal im Tumor teilweise deutlich anders verhält als in normalem Gewebe. Dies machte sich in einigen Tumoren durch ein verzögertes Anstiegsverhalten bemerkbar, die Signalintensität kehrte in den Raumluft-Phasen langsam in Richtung Ausgangswert zurück (Abbildung 6.3). Ein ähnliches Verhalten konnte auch von [Yet01] beobachtet werden. Auch in einer Studie an 9L und CNS-1 intercranialen Tumormodellen hielten die Änderungen in pO_2 und T_2^* über längere Zeit an [Dun02]. Dies lässt den beschriebenen Ansatz sinnvoll erscheinen, die Sauerstoff-Messungen auch mit einer veränderten Referenzfunktion auszuwerten, die einem in einzelnen Tumoren verzögerten Anstiegsverhalten Rechnung trägt.
Insgesamt weisen die Studien darauf hin, dass mit Hilfe von Sauerstoff-induzierten Signaländerungen im MR Änderungen der Tumoroxygenierung qualitativ untersucht werden können. Damit könnte die Methode geeignet sein, um Methoden zur Verbes-

serung der Tumoroxygenierung vor ihrer Anwendung zu evaluieren [Rij02]. Der große Vorteil der Technik ist die Nicht-Invasivität, die hohe räumliche Auflösung und die Beobachtung von Oxygenierungsänderungen in Echtzeit. Im Gegensatz zu anderen in Abschnitt 4.5 vorgestellten Methoden lässt sie sich leicht am Menschen anwenden.

Kapitel 7

Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass das Einatmen von Sauerstoff im Wechsel mit Raumluft auch beim Menschen selektiv in bestimmten Tumorarealen Intensitätsänderungen in der MRT hervorrufen kann. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass diese Änderungen charakteristisch für den individuellen Tumor sind. Damit könnte die Methode die konventionelle Diagnostik um wertvolle Informationen ergänzen, die den Tumor nicht nur morphologisch, sondern auch funktionell beschreiben. Der Tumoroxygenierung wird bei der Entwicklung neuer Therapiekonzepte eine wichtige Rolle zukommen: sie ist – unabhängig von anderen Einflussgrößen – mitbestimmend für die Prognose des Patienten [Vau01, Nor01, Nor00, Rud00, Van00, Sta99], kann aber vor und während einer Therapie beeinflusst werden [Hen00]. Neue Therapieansätze basieren auf unterschiedlichen Anknüpfungspunkten an den Oxygenierungs-bestimmenden Faktoren wie Blutfluss oder Hb-Wert. Eine an den individuellen Patienten angepasste Kombination der unterschiedlichen Wirkungsweisen könnte dem Ziel am nächsten kommen, die Tumor-Hypoxie zu reduzieren oder zu eliminieren [Hen00]. Solch eine Strategie erfordert aber eine Einordnung des individuellen Patienten durch Charakterisierung des Tumor-Mikromilieus [Bus99]. Hier könnte die Methode einen wertvollen Beitrag leisten. Um Patienten für eine Hypoxie-beeinflussende Therapie zu selektieren, sind bisher nur Hypoxie-Marker in Verbindung mit Immuno-Assays in der klinischen Erprobung [Kaa02].
Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten darauf hin, dass die gemessenen Kontraste funktionelle Tumorparameter darstellen, die mit der Oxygenierung verknüpft sind. Bei einer Weiter-Entwicklung der Methode könnten dem Sauerstoff unterschiedliche Mengen CO_2 beigemengt werden und so durch eine gezielte Beeinflussung des Blutflusses die von der Hyperoxie beeinflusste Tumorphysiologie genauer beschrieben werden. Die Methode ließe sich auch bei anderen Therapieansätzen, die auf die Tumoroxygenierung Einfluss nehmen, anwenden. Da die Effekte der Oxygenierungs-Verbesserung sowohl innerhalb jedes Tumors wie auch zwischen den Tumoren sehr heterogen sind, kann die Methode wertvolle Hinweise geben, um die individuelle Tumorreaktion beurteilen zu können. Als

längerfristiges Ziel ist denkbar, die prätherapeutische Verbesserung der Oxygenierung zu überwachen. Dabei kann die vorgestellte Aufnahmetechnik helfen, für den einzelnen Patienten die geeigneteste Strategie zu finden, um die individuell kritischen Faktoren der Tumoroxygenierung gezielt anzugehen. Dies ist auch für die Entwicklung neuer Kombinationen bewährter Ansätze wichtig. Die kombinierte Anwendung von Carbogen mit Erythropoietin [Mar01] oder Nicotinamid [Kaa02, Ber00, Bus99, Kaa98] wird bereits erprobt. Dass die Erfolge individuell sehr unterschiedlich ausfallen [Stu98, Raa97], bestätigt den Bedarf einer funktionellen Tumorcharakterisierung zur Auswahl der Patienten. Um den diagnostischen Wert der in dieser Arbeit vorgestellten Methode zu verifizieren, sind weitere Patientenmessungen an einem größeren Kollektiv notwendig.

Literaturverzeichnis

[AT99] M.J. Allalunis-Turner, A.J. Franko, und M.B. Parliament. Modulation of oxygen consumption rate and vascular endothelial growth factor mRNA expression in human malignant glioma cells by hypoxia. *Br J Cancer*, 80(1-2):104–109, Apr 1999.

[Axe80] L. Axel. Cerebral blood flow determination by rapid-sequence computed tomography: theoretical analysis. *Radiology*, 137(3):679–86, Dec 1980.

[Ban93] P.A. Bandettini, A. Jesmanowicz, E.C. Wong, und J.S. Hyde. Processing strategies for time-course data sets in functional MRI of the human brain. *Magn. Reson. Med.*, 30(2):161–173, Aug 1993.

[Bau02] C. Baudelet und B. Gallez. How does blood oxygen level-dependent (bold) contrast correlate with oxygen partial pressure (pO_2) inside tumors? *Magn. Reson. Med.*, 48(6):980–6, Dec 2002.

[Bec98] A. Becker, G. Hansgen, M. Bloching, C. Weigel, C. Lautenschlager, und J. Dunst. Oxygenation of squamous cell carcinoma of the head and neck: comparison of primary tumors, neck node metastases, and normal tissue. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 42(1):35–41, Aug 1 1998.

[Bec00] A. Becker, P. Stadler, R.S. Lavey, G. Hansgen, T. Kuhnt, C. Lautenschlager, H.J. Feldmann, M. Molls, und J. Dunst. Severe anemia is associated with poor tumor oxygenation in head and neck squamous cell carcinomas. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 46(2):459–66, Jan 15 2000.

[Bec02] A. Becker, T. Kuhnt, H. Liedtke, A. Krivokuca, M. Bloching, und J. Dunst. Oxygenation measurements in head and neck cancers during hyperbaric oxygenation. *Strahlenther. Onkol.*, 178(2):105–8, Feb 2002.

[Beg83] A.C. Begg, E.L. Engelhardt, R.J. Hodgkiss, N.J. McNally, N.H. Terry, und P. Wardman. Nitroakridin 3582: a fluorescent nitroacridine stain for identifying hypoxic cells. *Br. J. Radiol.*, 56(672):970–3, Dec 1983.

[Ber95] Y. Berthezene, P. Tournut, F. Turjman, R. N'Gbesso, B. Falise, und J.C. Froment. Inhaled oxygen: A brain MR contrast agent? *Am. J. Neuroradiol.*, 16:2010–2012, 1995.

[Ber99] C. Berchtenbreiter, R. Bruening, R.H. Wu, H. Penzkofer, J. Weber, und M. Reiser. Comparison of the diagnostic information in relative cerebral blood volume, maximum concentration, and subtraction signal intensity maps based on magnetic resonance imaging of gliomas. *Invest Radiol.*, 34(1):75–81, Jan 1999.

[Ber00] J. Bernier, J. Denekamp, A. Rojas, E. Minatel, J. Horiot, H. Hamers, P. Antognoni, O. Dahl, P. Richaud, M. van Glabbeke, und M. Pirart. ARCON: accelerated radiotherapy with carbogen and nicotinamide in head and neck squamous cell carcinomas. The experience of the co-operative group ofradiotherapy of the european organization for research and treatment ofcancer (EORTC). *Radiother. Oncol.*, 55(2):111–9, May 2000.

[Blo46] F. Bloch. *Phys.Rev.*, 70:460, 1946.

[Bri96] D.M. Brizel, S.P. Scully, J.M. Harrelson, L.J. Layfield, J.M. Bean, L.R. Prosnitz, und M.W. Dewhirst. Tumor oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma. *Cancer Res.*, 56(5):941–3, Mar 1 1996.

[Bri97a] G. Brix, W. Schreiber, U. Hoffmann, F. Guckel, H. Hawighorst, und M.V. Knopp. Methodische Ansätze zur quantitativen Beurteilung der Mikrozirkulation im Gewebe mit der dynamischen Magnetresonanztomographie. *Radiologe*, 37(6):470–480, Jun 1997.

[Bri97b] D.M. Brizel, G.S. Sibley, L.R. Prosnitz, R.L. Scher, und M.W. Dewhirst. Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 38(2):285–9, May 1 1997.

[Bus99] J. Bussink, J.H. Kaanders, und A.J. Van der Kogel. Clinical outcome and tumour microenvironmental effects of accelerated radiotherapy with carbogen and nicotinamide. *Acta Oncol*, 38(7):875–82, 1999.

[Cha93] D.J. Chaplin, M.R. Horsman, und D.W. Siemann. Further evaluation of nicotinamide and carbogen as a strategy to reoxygenate hypoxic cells in vivo: importance of nicotinamide dose and pre-irradiation breathing time. *Br. J. Cancer*, 68(2):269–73, Aug 1993.

[Chi99] J.A. Chiarotto und R.P. Hill. A quantitative analysis of the reduction in oxygen levels required to induce up-regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA incervical cancer cell lines. *Br. J. Cancer*, 80(10):1518–24, Jul 1999.

[Col97] D.R. Collingridge, W.K. Young, B. Vojnovic, P. Wardman, E.M. Lynch, S.A. Hill, und D.J. Chaplin. Measurement of tumor oxygenation: a comparison between polarographicneedle electrodes and a time-resolved luminescence-based optical sensor. *Radiat Res*, 147(3):329–34, Mar 1997.

[Cox96] R.W. Cox. AFNI: software for analysis and visualization of functional magnetic resonance neuroimages. *Comput Biomed Res*, 29(3):162–173, Jun 1996.

[Cox00] R. W. Cox, Hrsgb. *Measuring Brain Function with MRI: The Interaction of Physics and Physiology*. http://afni.nimh.nih.gov/afni/edu/Chap3.pdf, Medical College of Wisconsin, 2000.

[Dav98] T.L. Davis, K.K. Kwong, R.M. Weisskoff, und B.R. Rosen. Calibrated functional MRI: mapping the dynamics of oxidative metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(4):1834–1839, Feb 17 1998.

[Dew96] M.W. Dewhirst, E.T. Ong, G.L. Rosner, S.W. Rehmus, S. Shan, R.D. Braun, D.M. Brizel, und T.W. Secomb. Arteriolar oxygenation in tumour and subcutaneous arterioles: effects of inspired air oxygen content. *Br. J. Cancer Suppl.*, 27:S241–6, Jul 1996.

[Dis99] S. Dische, M.I. Saunders, R. Sealy, I.D. Werner, N. Verma, C. Foy, und S.M. Bentzen. Carcinoma of the cervix and the use of hyperbaric oxygen with radiotherapy: a report of a randomised controlled trial. *Radiother. Oncol.*, 53(2):93–8, Nov 1999.

[Dun97] J.F. Dunn und H.M. Swartz. Blood oxygenation. Heterogeneity of hypoxic tissues monitored using bold MR imaging. *Adv Exp Med Biol*, 428:645–650, 1997.

[Dun01a] J. Dunst. The use of epoetin alfa to increase and maintain hemoglobin levels during radiotherapy. *Semin. Oncol.*, 28(2 Suppl 8):42–8, Apr 2001.

[Dun01b] J. Dunst, P. Stadler, A. Becker, T. Kuhnt, C. Lautenschlager, M. Molls, und G. Haensgen. Tumor hypoxia and systemic levels of vascular endothelial growth factor(VEGF) in head and neck cancers. *Strahlenther. Onkol.*, 177(9):469–73, Sep 2001.

[Dun02] J.F. Dunn, J.A. O'Hara, Y. Zaim-Wadghiri, H. Lei, M.E. Meyerand, O.Y. Grinberg, H. Hou, P.J. Hoopes, E. Demidenko, und H.M. Swartz. Changes in oxygenation of intracranial tumors with carbogen: a bold MRI and epr oximetry study. *J. Magn. Reson. Imaging*, 16(5):511–21, Nov 2002.

[Duo01] T.Q. Duong, C. Iadecola, und S.G. Kim. Effect of hyperoxia, hypercapnia, and hypoxia on cerebral interstitial oxygen tension and cerebral blood flow. *Magn Reson Med.*, 45(1):61–70, Jan 2001.

[Ern87] R.R. Ernst. Methodology of magnetic resonance imaging. *Q Rev Biophys*, 19(3-4):183–220, May 1987.

[Fan02] X. Fan, J.N. River, M. Zamora, H.A. Al-Hallaq, und G.S. Karczmar. Effect of carbogen on tumor oxygenation: combined fluorine-19 and proton MRI measurements. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 54(4):1202–9, Nov 15 2002.

[Fis91] C.R. Fisel, J.L. Ackerman, R.B. Buxton, L. Garrido, J.W. Belliveau, B.R. Rosen, und T.J. Brady. MR contrast due to microscopically heterogeneous magnetic susceptibility: numerical simulations and applications to cerebral physiology. *Magn. Reson. Med.*, 17(2):336–47, Feb 1991.

[Fol95] J. Folkman. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. *N. Engl. J. Med.*, 333(26):1757–63, Dec 28 1995.

[Gil00] R.J. Gillies, Z.M. Bhujwalla, J. Evelhoch, M. Garwood, M. Neeman, S.P. Robinson, C.H. Sotak, und B. Van Der Sanden. Applications of magnetic resonance in model systems: tumor biology and physiology. *Neoplasia*, 2(1-2):139–151, Jan-Apr 2000.

[Gla01] C.M. Glaser, W. Millesi, G.V. Kornek, S. Lang, B. Schull, F. Watzinger, E. Selzer, und R.S. Lavey. Impact of hemoglobin level and use of recombinant erythropoietin onefficacy of preoperative chemoradiation therapy for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 50(3):705–15, Jul 1 2001.

[Gol00] K. Golman, J.S. Petersson, J.H. Ardenkjaer-Larsen, I. Leunbach, L.G. Wistrand, G. Ehnholm, und K. Liu. Dynamic in vivo oxymetry using overhauser enhanced MR imaging. *J. Magn. Reson. Imaging*, 12(6):929–38, Dec 2000.

[Gra64] L.H. Gray und J.M. Steadman. Determination of the oxyhaemoglobin dissociation curves for mouse and rat blood. *J Physiol*, 175:161–171, 1964.

[Gra96] T.G. Graeber, C. Osmanian, T. Jacks, D.E. Housman, C.J. Koch, S.W. Lowe, und A.J. Giaccia. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Nature*, 379(6560):88–91, Jan 4 1996.

[Gri97] J.R. Griffiths, N.J. Taylor, F.A. Howe, M.I. Saunders, S.P. Robinson, P.J. Hoskin, M.E. Powell, M. Thoumine, L.A. Caine, und H. Baddeley. The response of human tumors to carbogen breathing, monitored by gradient-recalled echo magnetic resonance imaging. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 39(3):697–701, Oct 1997.

[Gri99] J.R. Griffiths und S.P. Robinson. The oxylite: a fibre-optic oxygen sensor. *Br. J. Radiol.*, 72(859):627–30, Jul 1999.

[Gro95] M.W. Gross, U. Karbach, K. Groebe, A.J. Franko, und W. Mueller-Klieser. Calibration of misonidazole labeling by simultaneous measurement of oxygen tension and labeling density in multicellular spheroids. *Int. J. Cancer*, 61(4):567–73, May 16 1995.

[Gru74] R.L. Grubb, M.E. Raichle, J.O. Eichling, und M.M. Ter-Pogossian. The effects of changes in $pacO_2$ on cerebral blood volume, blood flow, and vascular mean transit time. *Stroke*, 5(5):630–639, Sep-Oct 1974.

[Haf99] B.G. Haffty, R. Hurley, und L.J. Peters. Radiation therapy with hyperbaric oxygen at 4 atmospheres pressure in the management of squamous cell carcinoma of the head and neck: results of a randomized clinical trial. *Cancer J. Sci. Am.*, 5(6):341–7, Nov-Dec 1999.

[Haj94] J.V. Hajnal, R. Myers, A. Oatridge, J.E. Schwieso, I.R. Young, und G.M. Bydder. Artifacts due to stimulus correlated motion in functional imaging of the brain. *Magn. Reson. Med.*, 31(3):283–291, Mar 1994.

[Ham85] F. Hammersen, B. Endrich, und K. Messmer. The fine structure of tumor blood vessels. I. Participation of non-endothelial cells in tumor angiogenesis. *Int J Microcirc Clin Exp*, 4(1):31–43, 1985.

[Har01] K.A. Hartmann, A.J. van der Kleij, U.M. Carl, M.C. Hulshof, R. Willers, und P. Sminia. Effects of hyperbaric oxygen and normobaric carbogen on the radiation response of the rat rhabdomyosarcoma R1H. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 51(4):1037–44, Nov 15 2001.

[Hen00] M. Henke und R. Guttenberger. Erythropoietin in radiation oncology - a review. 1st international conference, Freiburg, June 11-12, 1999. *Oncology*, 58(2):175–82, Feb 2000.

[Her97] Th. Herrmann und M. Baumann. *Klinische Strahlenbiologie*. Urban-Fischer Verlag, 1997.

[Hil98] S.A. Hill, D.R. Collingridge, B. Vojnovic, und D.J. Chaplin. Tumour radiosensitization by high-oxygen-content gases: influence of the carbon dioxide content of the inspired gas on pO_2, microcirculatory function and radiosensitivity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 40(4):943–51, Mar 1 1998.

[Hir89] D.G. Hirst. Tumor blood flow modification therapeutic benefit: is this approach ready for clinical application? review. In B. Michael und M. Hance, Hrsgb., *Gray Laboratory 1989 Annual Report.*, S. 14–17. Cancer Research Campaign, London, 1989.

[Hoe96] M. Hoeckel, K. Schlenger, B. Aral, M. Mitze, U. Schaffer, und P. Vaupel. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced-cancer of the uterine cervix. *Cancer Res.*, 56(19):4509–15, Oct 1 1996.

[Hoe01] M. Hoeckel und P. Vaupel. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecularaspects. *J. Natl. Cancer Inst.*, 93(4):266–76, Feb 21 2001.

[Hog99] R.D. Hoge, J. Atkinson, B. Gill, G.R. Crelier, S. Marrett, und G.B. Pike. Investigation of bold signal dependence on cerebral blood flow and oxygen consumption: the deoxyhemoglobin dilution model. *Magn. Reson. Med.*, 42(5):849–63, Nov 1999.

[Hol21] H. Holthusen. Beiträge zur Biologie der Strahlenwirkung. Untersuchungen an Askarideneiern. *Pfluegers Arch.*, 187:1–24, 1921.

[Hol97] A. Holmes und K.J. Friston. Statistical models and experimental design. In *SPM course: Short course notes, Chapter 3*. 1997.

[Hor94] M.R. Horsman, M. Nordsmark, A.A. Khalil, S.A. Hill, D.J. Chaplin, D.W. Siemann, und J. Overgaard. Reducing acute and chronic hypoxia in tumours by combining nicotinamide with carbogen breathing. *Acta Oncol.*, 33(4):371–6, 1994.

[Hor03] J. P. Hornak, Hrsgb. *The Basics of MRI*. http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/, Rochester, 2003.

[Hos99] P.J. Hoskin, M.I. Saunders, und S. Dische. Hypoxic radiosensitizers in radical radiotherapy for patients with bladder carcinoma: hyperbaric oxygen, misonidazole, and accelerated radiotherapy, carbogen, and nicotinamide. *Cancer*, 86(7):1322–8, Oct 1 1999.

[How99] F.A. Howe, S.P. Robinson, L.M. Rodrigues, und J.R. Griffiths. Flow and oxygenation dependent (FLOOD) contrast MR imaging to monitor the response of rat tumors to carbogen breathing. *Magn. Reson. Imaging*, 17(9):1307–1318, Nov 1999.

[Jor00] B.F. Jordan, P. Misson, R. Demeure, C. Baudelet, N. Beghein, und B. Gallez. Changes in tumor oxygenation/perfusion induced by the no donor, isosorbide dinitrate, in comparison with carbogen: monitoring by epr and MRI. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 48(2):565–70, Sep 1 2000.

[Kaa98] J.H. Kaanders, L.A. Pop, H.A. Marres, J. Liefers, F.J. van den Hoogen, W.A. van Daal, und A.J. van der Kogel. Accelerated radiotherapy with carbogen and nicotinamide (ARCON) for laryngeal cancer. *Radiother. Oncol.*, 48(2):115–22, Aug 1998.

[Kaa02] J.H. Kaanders, J. Bussink, und A.J. van der Kogel. Arcon: a novel biology-based approach in radiotherapy. *Lancet Oncol*, 3(12):728–37, Dec 2002.

[Kal90] F. Kallinowski, R. Zander, M. Hoeckel, und P. Vaupel. Tumor tissue oxygenation as evaluated by computerized-pO_2-histography. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 19(4):953–61, Oct 1990.

[Kar94] G.S. Karczmar, V.Y. Kuperman, J.N. River, M.Z. Lewis, und M.J. Lipton. Magnetic resonance measurement of response to hyperoxia differentiates tumors from normal tissue and may be sensitive to oxygen consumption. *Invest. Radiol.*, 29 Suppl 2:S161–163, Jun 1994.

[Kel96] D.K. Kelleher, U. Mattheinsen, O. Thews, und P. Vaupel. Blood flow, oxygenation, and bioenergetic status of tumors after erythropoietin treatment in normal and anemic rats. *Cancer Res.*, 56(20):4728–34, Oct 15 1996.

[Ket48] S.S. Kety und C.F. Schmidt. The effects of altered arterial tensions of carbon dioxide and oxygen on cerebral blood flow and cerebral oxygen consumption of normal young man. *J. Clin. Invest.*, 27:484–491, 1948.

[Kim97] S.G. Kim und K. Ugurbil. Comparison of blood oxygenation and cerebral blood flow effects in fMRI: estimation of relative oxygen consumption change. *Magn. Reson. Med.*, 38(1):59–65, Jul 1997.

[Kim99] S.G. Kim, E. Rostrup, H.B. Larsson, S. Ogawa, und O.B. Paulson. Determination of relative CMR_{O_2} from CBF and BOLD changes: significant increase of oxygen consumption rate during visual stimulation. *Magn. Reson. Med.*, 41(6):1152–1161, Jun 1999.

[Koh99] K. Kohshi, Y. Kinoshita, H. Imada, N. Kunugita, H. Abe, H. Terashima, N. Tokui, und S. Uemura. Effects of radiotherapy after hyperbaric oxygenation on malignant gliomas. *Br. J. Cancer*, 80(1-2):236–41, Apr 1999.

[Kon98] M.A. Konerding, C. van Ackern, E. Fait, F. Steinberg, und C. Streffer. Morphological aspects of tumor angiogenesis and microcirculation. In M. Molls und P. Vaupel, Hrsgb., *Blood perfusion and microenvironment of human tumors.*, S. 5–17. Springer-Verlag, Berlin, 1998.

[Kri01] M.C. Krishna, S. Subramanian, P. Kuppusamy, und J.B. Mitchell. Magnetic resonance imaging for in vivo assessment of tissue oxygen concentration. *Semin. Radiat. Oncol.*, 11(1):58–69, Jan 2001.

[Kup95] V.Y. Kuperman, J.N. River, M.Z. Lewis, L.M. Lubich, und G.S. Karczmar. Changes in T_2*-weighted images during hyperoxia differentiate tumors from normal tissue. *Magn. Reson. Med.*, 33(3):318–325, Mar 1995.

[Lau73] P. Lauterbur. Image formation by induced local interactions: Examples employing NMR. *Nature*, 242:190, 1973.

[Li95] S.J. Li, G.Y. Jin, B.L. Fish, und J.E. Moulder. Correlation of radiobiological assays of hypoxic fraction with phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy across multiple tumor lines. *Radiat. Res.*, 143(1):45–53, Jul 1995.

[Lit01] T.J. Littlewood, E. Bajetta, J.W. Nortier, E. Vercammen, und B. Rapoport. Effects of epoetin alfa on hematologic parameters and quality of life in cancer patients receiving nonplatinum chemotherapy: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Clin. Oncol.*, 19(11):2865–74, Jun 1 2001.

[Loe00] R. Loeffler, C.J. Mueller, M. Peller, H. Penzkofer, M. Deimling, M. Schwaiblmair, J. Scheidler, und M. Reiser. Optimization and evaluation of the signal intensity change in multisection oxygen-enhanced MR lung imaging. *Magn. Reson. Med.*, 43(6):860–866, Jun 2000.

[Los99] C. Losert, M. Peller, V.H. Scholz, P. Schneider, und M. Reiser. Oxygen enhanced MR imaging of brain tumors. *Radiology*, 213(Suppl.):226, 1999.

[Los00a] C. Losert, M. Peller, P. Schneider, J. Scheidler, M. Thoma, M. Busch, und M. Reiser. Sauerstoff-induzierte Signaländerungen in der in der MRT von Hirntumoren. *Strahlenther Onkol*, 176(S1):9, 2000.

[Los00b] C. Losert, M. Peller, V.H. Scholz, P. Schneider, U. Spuler, und M. Reiser. Oxygen enhanced MR imaging of brain tumors. In *Proceedings of the*

International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), 8th Scientific Meeting and Exhibition, S. 1098. Denver, 2000.

[Los01a] C. Losert, M. Peller, P. Schneider, M. Thoma, M. Busch, und M. Reiser. Pure oxygen as a contrast medium in human brain tumor MR imaging. In *Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), 9th Scientific Meeting and Exhibition*, S. 2292. Glasgow, 2001.

[Los01b] C. Losert, P. Schneider, M. Peller, J. Scheidler, M. Thoma, M. Busch, und M. Reiser. Sauerstoff als Kontrastmittel in der MRT und Anwendung in der Tumordiagnostik. *RöFo*, 172(Suppl), 2001.

[Los02] C. Losert, M. Peller, P. Schneider, und M. Reiser. Oxygen-enhanced MRI of the brain. *Magn. Reson. Med.*, 48(2):271–7, Aug 2002.

[Man73] P. Mansfield und P. Grannell. NMR 'diffraction' in solids? *J. Phys. C*, 6:L422, 1973.

[Man77] P. Mansfield. Multi-planar image formation using NMR spin echoes. *J. Phys. C*, 10:L55–L58, 1977.

[Mar93] L. Martin, E. Lartigau, P. Weeger, P. Lambin, A.M. Le Ridant, A. Lusinchi, P. Wibault, F. Eschwege, B. Luboinski, und M. Guichard. Changes in the oxygenation of head and neck tumors during carbogen breathing. *Radiother. Oncol.*, 27(2):123–30, May 1993.

[Mar01] J.C. Martinez, A. Villar, M.A. Cabezon, J.L. de Serdio, C. Fuentes, M. Espineira, M.D. Perez, J. Gil, J.J. Artazkoz, C. Borque, M. Suner, und J.A. Saavedra. Hyperfractionated chemoradiation with carbogen breathing, with or without erythropoietin: a stepwise developed treatment schedule for advanced head-and-neck cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 50(1):47–53, May 1 2001.

[Mas96] R.P. Mason, W. Rodbumrung, und P.P. Antich. Hexafluorobenzene: a sensitive 19f NMR indicator of tumor oxygenation. *NMR Biomed.*, 9(3):125–34, May 1996.

[Mil82] G.G. Miller, J. Ngan-Lee, und J.D. Chapman. Intracellular localization of radioactively labeled misonidazole in emt-6-tumor cells in vitro. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 8(3-4):741–4, Mar-Apr 1982.

[Mol98a] M. Molls, P. Stadler, A. Becker, H.J. Feldmann, und J. Dunst. Relevance of oxygen in radiation oncology. Mechanisms of action, correlation to low hemoglobin levels. *Strahlenther. Onkol.*, 174 Suppl 4:13–6, Dec 1998.

[Mol98b] M. Molls und P. Vaupel. The impact of the tumor microenvironment on experimental and clinical radiation oncology and other therapeutic modalities. In M. Molls und P. Vaupel, Hrsgb., *Blood perfusion and microenvironment of human tumors.*, S. 1–3. Springer-Verlag, Berlin, 1998.

[Nor00] M. Nordsmark und J. Overgaard. A confirmatory prognostic study on oxygenation status and loco-regional control in advanced head and neck squamous cell carcinoma treated by radiation therapy. *Radiother. Oncol.*, 57(1):39–43, Oct 2000.

[Nor01] M. Nordsmark, J. Alsner, J. Keller, O.S. Nielsen, O.M. Jensen, M.R. Horsman, und J. Overgaard. Hypoxia in human soft tissue sarcomas: adverse impact on survival and no association with p53 mutations. *Br. J. Cancer*, 84(8):1070–5, Apr 20 2001.

[Oga90] S. Ogawa, T.M. Lee, A.R. Kay, und D.W. Tank. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87(24):9868–9872, Dec 1990.

[Oga93] S. Ogawa, R.S. Menon, D.W. Tank, S.G. Kim, H. Merkle, J.M. Ellermann, und K. Ugurbil. Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. A comparison of signal characteristics with a biophysical model. *Biophys. J.*, 64(3):803–812, Mar 1993.

[Ove96] J. Overgaard und M.R. Horsman. Modification of hypoxia-induced radioresistance in tumors by the use of oxygen and sensitizers. *Semin. Radiat. Oncol.*, 6(1):10–21, Jan 1996.

[Par01] S.E. Partridge, C. Aquino-Parsons, C. Luo, A. Green, und P.L. Olive. A pilot study comparing intratumoral oxygenation using the comet assay following 2.5% and 5% carbogen and 100% oxygen. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 49(2):575–80, Feb 1 2001.

[Pau36] L. Pauling und C. D. Coryell. The magnetic properties and structure of hemoglobin, oxyhemoglobin and carbonmonoxyhemoglobin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 22:210–216, 1936.

[Pel98a] M. Peller, L. Weissfloch, M.K. Stehling, J. Weber, R. Bruening, R. Senekowitsch Schmidtke, M. Molls, und M. Reiser. Oxygen-induced MR signal changes in murine tumors. *Magn. Reson. Imaging*, 16(7):799–809, Sep 1998.

[Pel98b] M. Peller, L. Weissfloch, J. Weber, R. Senekowitsch Schmidtke, M. Molls, und M. Reiser. Oxygen induced MR-signal intensity and pO_2 changes in murine

tumors. In *Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), 6th Scientific Meeting and Exhibition*, S. 58. Sydney, 1998.

[Pow96] M.E. Powell, S.A. Hill, M.I. Saunders, P.J. Hoskin, und D.J. Chaplin. Effect of carbogen breathing on tumour microregional blood flow in humans. *Radiother. Oncol.*, 41(3):225–31, Dec 1996.

[Pow99] M.E. Powell, D.R. Collingridge, M.I. Saunders, P.J. Hoskin, S.A. Hill, und D.J. Chaplin. Improvement in human tumour oxygenation with carbogen of varying carbon dioxide concentrations. *Radiother. Oncol.*, 50(2):167–71, Feb 1999.

[Pri99] C. Prives und P.A. Hall. The p53 pathway. *J. Pathol.*, 187(1):112–26, Jan 1999.

[Raa97] A. Raabe, M. Rett, A. Krull, und H.P. Beck-Bornholdt. Combination of fractionated irradiation with nicotinamide and carbogen in r^1H-tumours of the rat and its pulmonary metastases. *Radiother. Oncol.*, 45(2):183–9, Nov 1997.

[Rei92] M. Reiser und W. Semmler, Hrsgb. *Magnetresonanztomographie*. Springer, Berlin, 1992.

[Rey96] T.Y. Reynolds, S. Rockwell, und P.M. Glazer. Genetic instability induced by the tumor microenvironment. *Cancer Res.*, 56(24):5754–7, Dec 15 1996.

[Rij02] M. Rijpkema, J.H. Kaanders, F.B. Joosten, A.J. van der Kogel, und A. Heerschap. Effects of breathing a hyperoxic hypercapnic gas mixture on blood oxygenation and vascularity of head-and-neck tumors as measured by magnetic resonance imaging. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 53(5):1185–91, Aug 1 2002.

[Rob95] S.P. Robinson, F.A. Howe, und J.R. Griffiths. Noninvasive monitoring of carbogen-induced changes in tumor blood flow and oxygenation by functional magnetic resonance imaging. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 33(4):855–859, Nov 1995.

[Rob98] S.P. Robinson, F.A. Howe, L.M. Rodrigues, M. Stubbs, und J.R. Griffiths. Magnetic resonance imaging techniques for monitoring changes in tumor oxygenation and blood flow. *Semin. Radiat. Oncol.*, 8(3):197–207, Jul 1998.

[Rob99] S.P. Robinson, D.R. Collingridge, F.A. Howe, L.M. Rodrigues, D.J. Chaplin, und J.R. Griffiths. Tumour response to hypercapnia and hyperoxia monitored by FLOOD magnetic resonance imaging. *NMR Biomed.*, 12(2):98–106, Apr 1999.

[Rob01] S.P. Robinson, L.M. Rodrigues, F.A. Howe, M. Stubbs, und J.R. Griffiths. Effects of different levels of hypercapnic hyperoxia on tumour R_2* and arterial blood gases. *Magn. Reson. Imaging*, 19(2):161–6, Feb 2001.

[Roj90] A. Rojas, U. Carl, und K. Reghebi. Effect of normobaric oxygen on tumor radiosensitivity: fractionated studies. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 18(3):547–53, Mar 1990.

[Ros89] B.R. Rosen, J.W. Belliveau, und D. Chien. Perfusion imaging by nuclear magnetic resonance. *Magn. Reson. Q.*, 5(4):263–81, Oct 1989.

[Ros95] E. Rostrup, H.B. Larsson, P.B. Toft, K. Garde, und O. Henriksen. Signal changes in gradient echo images of human brain induced by hypo- and hyperoxia. *NMR Biomed.*, 8(1):41–7, Feb 1995.

[Rud00] V. Rudat, B. Vanselow, P. Wollensack, C. Bettscheider, S. Osman-Ahmet, M.J. Eble, und A. Dietz. Repeatability and prognostic impact of the pretreatment pO_2 histography in patients with advanced head and neck cancer. *Radiother. Oncol.*, 57(1):31–7, Oct 2000.

[Rud01] V. Rudat, P. Stadler, A. Becker, B. Vanselow, A. Dietz, M. Wannenmacher, M. Molls, J. Dunst, und H.J. Feldmann. Predictive value of the tumor oxygenation by means of pO_2 histography in patients with advanced head and neck cancer. *Strahlenther. Onkol.*, 177(9):462–8, Sep 2001.

[Sch09] G. Schwarz. Über Desensibilisierung gegen Röntgen- und Radiumstrahlen. *Münch. Med. Wochenschr.*, 56:1217–8, 1909.

[Sch97] G. Schatz und A. Weidinger. *Nukleare Festkörperphysik*, S. 121–163. B.G. Teubner, Stuttgart, 3. Auflage, 1997.

[Shw92] D. Shweiki, A. Itin, D. Soffer, und E. Keshet. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediatehypoxia-initiated angiogenesis. *Nature*, 359(6398):843–5, Oct 29 1992.

[Sie94] D.W. Siemann, M.R. Horsman, und D.J. Chaplin. The radiation response of kht sarcomas following nicotinamide treatment and carbogen breathing. *Radiother. Oncol.*, 31(2):117–22, May 1994.

[Sie97] T. Siegal, R. Rubinstein, T. Tzuk-Shina, und J.M. Gomori. Utility of relative cerebral blood volume mapping derived from perfusion magnetic resonance imaging in the routine follow up of brain tumors. *J. Neurosurg.*, 86(1):22–27, Jan 1997.

[Son98] C.W. Song. Modification of blood flow. In M. Molls und P. Vaupel, Hrsgb., *Blood perfusion and microenvironment of human tumors.*, S. 193–207. Springer-Verlag, Berlin, 1998.

[Spr99] C.S. Springer, C.S. Patlak, I. Palyka, und W. Huang. Principles of susceptibility contrast-based functional MRI: The sign of the functional MRI response. In C.T.W. Moonen und P.A. Bandettini, Hrsgb., *Functional Imaging*, S. 91–102. Springer, Heidelberg, 1999.

[Sta99] P. Stadler, A. Becker, H.J. Feldmann, G. Hansgen, J. Dunst, F. Wurschmidt, und M. Molls. Influence of the hypoxic subvolume on the survival of patients with head and neck cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 44(4):749–54, Jul 1 1999.

[Sto93] H.B. Stone, J.M. Brown, T.L. Phillips, und R.M. Sutherland. Oxygen in human tumors: correlations between methods of measurement and response to therapy. Summary of a workshop held november 19-20, 1992, at the National Cancer Institute, Bethesda, Maryland. *Radiat. Res.*, 136(3):422–34, Dec 1993.

[Stu98] G. Stuben, M. Stuschke, K. Knuhmann, M.R. Horsman, und H. Sack. The effect of combined nicotinamide and carbogen treatments in human tumour xenografts: oxygenation and tumour control studies. *Radiother. Oncol.*, 48(2):143–8, Aug 1998.

[Sun99] K. Sundfor, C. Trope, Z. Suo, und P. Bergsjo. Normobaric oxygen treatment during radiotherapy for carcinoma of the uterine cervix. Results from a prospective controlled randomized trial. *Radiother. Oncol.*, 50(2):157–65, Feb 1999.

[Tay00] N.J. Taylor, J.J. Stirling, L.A. Culver, R. Basra, und H. Baddley. Perfusion changes in normal brain due to breathing carbogen and oxygen: an MRI study. In *Proceedings of the 8th Annual Meeting of ISMRM*, S. 956. Denver, 2000.

[Tay01] N.J. Taylor, H. Baddeley, K.A. Goodchild, M.E. Powell, M. Thoumine, L.A. Culver, J.J. Stirling, M.I. Saunders, P.J. Hoskin, H. Phillips, A.R. Padhani, und J.R. Griffiths. Bold MRI of human tumor oxygenation during carbogen breathing. *J. Magn. Reson. Imaging*, 14(2):156–63, Aug 2001.

[The01] O. Thews, D.K. Kelleher, und P. Vaupel. No improvement in perfusion and oxygenation of experimental tumors upon application of vasodilator drugs. *Int J Oncol*, 19(6):1243–7, Dec 2001.

[The02] O. Thews, D.K. Kelleher, und P. Vaupel. Dynamics of tumor oxygenation and red blood cell flux in response to inspiratory hyperoxia combined with different levels of inspiratory hypercapnia. *Radiother. Oncol.*, 62(1):77–85, Jan 2002.

[Tur98] R. Turner, A. Howseman, G.E. Rees, O. Josephs, und K. Friston. Functional magnetic resonance imaging of the human brain: data acquisition and analysis. *Exp. Brain. Res.*, 123(1-2):5–12, Nov 1998.

[Van00] B. Vanselow, M.J. Eble, V. Rudat, P. Wollensack, C. Conradt, und A. Dietz. Oxygenation of advanced head and neck cancer: prognostic marker for the response to primary radiochemotherapy. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 122(6):856–62, Jun 2000.

[Vau91] P. Vaupel, K. Schlenger, C. Knoop, und M. Hoeckel. Oxygenation of human tumors: evaluation of tissue oxygen distribution in breast cancers by computerized O_2 tension measurements. *Cancer Res.*, 51(12):3316–22, Jun 15 1991.

[Vau93] P.W. Vaupel. Oxygenation of solid tumors. In B.A. Teicher, Hrsgb., *Drug Resistance in Oncology*, S. 53–85. Marcel Dekker, New York, 1993.

[Vau94] P. Vaupel und M. Hoeckel. Sauerstoffdruck-Verteilung in bösartigen Tumoren. *Forschungsmagazin Universität Mainz*, S. 57–65, 1994.

[Vau98] P. Vaupel, O. Thews, D.K. Kelleher, und M. Hoeckel. Current status of knowledge and critical issues in tumor oxygenation results from 25 years research in tumor pathophysiology. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 454:591–602, 1998.

[Vau01] P. Vaupel, D.K. Kelleher, und M. Höckel. Oxygen status of malignant tumors: pathogenesis of hypoxia and significance for tumor therapy. *Semin. Oncol.*, 28(2 Suppl 8):29–35, Apr 2001.

[vdS99] B.P. van der Sanden, A. Heerschap, A.W. Simonetti, P.F. Rijken, H.P. Peters, G. Stuben, und A.J. van der Kogel. Characterization and validation of noninvasive oxygen tension measurements in human glioma xenografts by 19F-MR relaxometry. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 44(3):649–58, Jun 1 1999.

[Wat00] N.A. Watson, S.C. Beards, N. Altaf, A. Kassner, und A. Jackson. The effect of hyperoxia on cerebral blood flow: a study in healthy volunteers using magnetic resonance phase-contrast angiography. *Eur. J. Anaesthesiol.*, 17(3):152–159, Mar 2000.

[Wei92] R.M. Weisskoff und S. Kiihne. MRI susceptometry: image-based measurement of absolute susceptibility of mr contrast agents and human blood. *Magn. Reson. Med.*, 24(2):375–83, Apr 1992.

[Wei99] L. Weissfloch, M. Peller, J. Weber, H.J. Fledmann, M.K. Stehling, K. Tempel, und M. Molls. Comparison study of oxygen-induced MRI-signal changes and pO_2 changes in murine tumors. In *27th Annual Meeting, International Society on Oxygen Transport in Tissue*, S. 81. Hanover, 1999.

[Wen96] F. Wenz, K. Rempp, T. Hess, J. Debus, G. Brix, R. Engenhart, M.V. Knopp, G. van Kaick, und M. Wannenmacher. Effect of radiation on blood volume in low-grade astrocytomas and normal brain tissue: quantification with dynamic susceptibility contrast MR-imaging. *Am. J. Roentgenol.*, 166(1):187–193, Jan 1996.

[Wie98] P.A. Wielopolski, F. Schmitt, und M.K. Stehling. Echo-planar imaging pulse sequences. In F. Schmitt, M.K. Stehling, und R. Turner, Hrsgb., *Echo-Planar Imaging: Theory, Technique and Application.*, S. 65–139. Springer, Heidelberg, 1998.

[Woo92] R.P. Woods, S.R. Cherry, und J.C. Mazziotta. Rapid automated algorithm for aligning and reslicing PET images. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 16(4):620–33, Jul-Aug 1992.

[Yet01] Z. Yetkin, D. Mendelsohn, P. Purdy, R. McColl, K. Fink, und R. Mason. Evaluation of tumor oxygenation in human brain. In *Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), 9th Scientific Meeting and Exhibition*, S. 2299. Glasgow, 2001.

[Zie62] K.L. Zierler. Theoretical basis of indicator-dilution methods for measuring flow and volume. *Circ. Res.*, 10:393–407, 1962.

Häufig verwendete Abkürzungen

γ	Gyromagnetisches Verhältnis
ω_L	Larmor-Frequenz
AIF	arterielle Input-Funktion
B_0	Statisches Magnetfeld des Tomographen
B_1	Anregendes Magnetfeld
BHS	Blut-Hirn Schranke
BOLD	blood oxygenation level dependent contrast
CBV	Blutvolumen
CBF	Blutfluss
cc	Korrelations-Koeffizient
EPI	Echo-Planar-Imaging
FFT	schnelle Fourier-Transformation
fMRI	funktionelle MR-Bildgebung
$FWHM$	Halbwertsbreite
$G_{x,y,z}$	x-, y- und z-Komponente des Magnetfeldgradienten
GE	Gradienten-Echo
I	Kernspin
KM	Kontrastmittel
M_z	Longitudinale Magnetisierung
M_0	Gleichgewichtsmagnetisierung
M_{xy}	Transversale Magnetisierung
MRT	Magnetresonanztomographie
$p\mathrm{O}_2$	Sauerstoff-Partialdruck
ROI	Region of interest
SI	Signalintensität
ΔSI	Signalintensitäts-Änderung
SSS	Sinus Sagittalis Superior
T_1	Longitudinale Relaxationszeit
T_2	Transversale Relaxationszeit
T_2^*	Effektive Transversale Relaxationszeit
TE,TI,TR	Echo-, Inversions-, Repetitions-Zeit
w.E.	willkürliche Einheiten

Danksagung

Als Erstes möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. Maximilian Reiser dafür danken, dass er mir die Bearbeitung des Themas an seinem Institut ermöglichte und den Fortgang der Arbeit mit großem Interesse verfolgte. Mit seiner Unterstützung konnte ich meine Arbeit auf internationalen Tagungen mit anderen Forschungsgruppen diskutieren und dabei wertvolle Erfahrungen sammeln.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Dr. Michael Peller für die Betreuung der Arbeit und seine immerwährende Hilfsbereitschaft. Er nahm sich viel Zeit für Fragen und Diskussionen und gab mir zahlreiche Anregungen im Laufe der Arbeit.

Ein herzlicher Dank gilt auch der Arbeitsgruppe Radiologische Forschung, Sonja Faber (die immer ein offenes Ohr für alle Fragen hatte), Christian Müller (für seine Hilfe mit dem Atemsystem), Andreas Weigel und Manuela Wieland (für das gute Klima im Computer-Raum), Jürgen Weber (der bei Unix- und Programmierproblemen immer eine Lösung wusste), Herbert Reinl (der bei Windows-Problemen stets zu Hilfe war), Jan Ruff (für zahlreiche Tipps bei der Sequenz-Programmierung), Olaf Dietrich (der mir über zahlreiche TEX, Unix und C++-Hürden geholfen hat), Luciana Filidoro (per i lezioni italiani), Thomas Mendlik (für sein organisatorisches Talent), Ulrike Fasol (für das Weiterführen meiner Arbeit und das Korrekturlesen), Volker Kurze (für seine Hilfe bei der BibTeX-Datenbank), den "Basketballern" Alexander Hoffmann, Bernhard Kalusche, Isabell Künzer und Martin Meininger (für den wissenschaftlichen und sportlichen Austausch), und allen zusammen für das wirklich sehr gute Arbeitsklima.

Bei PD Dr. Jürgen Scheidler und Dr. Philipp Schneider möchte ich mich für ihr Engagement, die gute Kooperation und für die Akquisition der Patienten bedanken.

Der Abteilung für Anaesthesietechnik möchte ich für viele Tipps und die Unterstützung bei dem Atemsystem danken.

Meinem Vater möchte ich für das Korrekturlesen der Arbeit danken.

Lebenslauf

Name, Vorname		Losert, Christoph
geboren		20. Juli 1972 in München
Staatsangehörigkeit		deutsch
Familienstand		ledig
Schulbildung	1978 - 1982	Grundschule München
	1982 - 1991	Karlsgymnasium München
Zivildienst	1991 - 1992	Krankenhaus der Barmherzigen Brüder, München
Studium	1992 - 1998	Technische Physik an der Technischen Universität München
	1998	Diplom
	1999 - 2001	Aufbaustudium Medizin. Physik und Technik an der Universität Kaiserslautern
Berufliche Tätigkeit	1998 - 2002	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Klinische Radiologie, Klinikum Großhadern
	seit 2002	Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, Klinikum Großhadern