Klinik und Poliklinik für Neuroradiologische Diagnostik und Intervention des

Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf

Direktor: Professor Dr. med. Jens Fiehler

T2*-gewichtete Sequenzen in der akuten Schlaganfalldiagnostik im Mausmodell

Verbesserung der MRT-Bildgebung bei früher zerebraler Ischämie

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Alexandra Sophia Gersing

aus

München

Hamburg 2013

Angenommen von der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 12.08.2013

Veröffentlichung mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. phil. Uwe Koch-Gromus
Prüfungsvorsitzender:	Prof. Dr. med. Jens Fiehler
2. Gutachter:	PD Dr. med. Tim Magnus

3. Gutachter: Prof. Dr. med. Christoph Mulert

Gliederung

1. Ein	leitung	7
1.1.	Epidemiologie	7
1.2.	Pathophysiologie	7
1.3.	Klinik	10
1.4.	Ätiologische Klassifikation	10
1.5.	Neuroradiologische Schlaganfalldiagnostik 1.5.1. Cranielle Computertomographie 1.5.2. Magnetresonanztomographie	10 10 12
1.6.	Nuklearmedizinische Bildgebung	13
1.7.	Vergleich der Bildgebungsmethoden in der Schlaganfalldiagnostik.	13
1.8.	Therapieziele	14
2. Fra	gestellung und Arbeitshypothese	16
3. Mat	terial und Methoden	18
3.1.	Tiere	18
3.2.	Tierschutz und Tierverordnung	18
3.3.	Operationstechnik	18
3.4.	Lagerung	19
3.5.	Magnetresonanztomographie: Sequenzen	19
3.6.	Anatomie	20
3.7.	Untersuchungsprotokoll	21
3.8.	TTC-Färbung	23
3.9.	Datenanalyse	23 24 24
3.10.	Statistik	29
4. Erg	ebnisse	31
4.1.	Auswertung der ADC-Bilder	31
	4.1.1. Signalintensitäten4.1.2. DWI-Läsionsvolumina	31
4.2.	Auswertung der quantitativen T2-gewichteten Sequenzen	40
4.3.	Auswertung der T2*-gewichteten Sequenzen	45
	 4.3.1. T2*-Signalintensitäten Dynamik 4.3.2 T2*-Läsionsvolumina Dynamik 	45 49
		····· T/

5.	Disk	ussion	54
-	5.1.	Einordnung	54
-	5.2.	Limitationen	61
6.	Zusa	mmenfassung	63
7.	Glos	sar	64
8.	Lite	raturverzeichnis	67
9.	Dan	ksagung	76
10	. Lebe	enslauf	77
11	. Erkl	ärung	78

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1: Parameter der verwendeten MR-Sequenzen	20
Tabelle 2: ROI-Lokalisationen ADC-Werte	24
Tabelle 3: ROI-Lokalisationen T2*-gewichteter Bildgebung	25
Tabelle 4: Mediane ADC-Werte der gesamten histologisch gesicherten Infarkt Messreihe	32
Tabelle 5: Mediane ADC-Werte der histologisch gesicherten Infarkt Messreihe post Okklusion	35
Tabelle 6: Mediane ADC-Werte der histologisch gesicherten Infarkt Messreihe post	
Rekanalisation	35
Tabelle 7: Korrelation T2*-Signalintensitäten und ADC-Werte	48

Abbildung	1: Pathophysiologische Änderung von Stoffwechselparametern bei zerebralem Infarkt	9
Abbildung	2: Anatomische Schnitte eines Mausgehirns.	.20
Abbildung	3: Ansicht Mausgehirn von basal. Arterien angefärbt mit Tinte. ³⁹	.21
Abbildung	4: Schematische Darstellung des MR-Sequenzprotokolls der Messreihe Mouse Stroke 40 Minuten.	.22
Abbildung	5: Schematische Darstellung des MR-Sequenzprotokolls der Messreihe Mouse Stroke 60 Minuten.	.22
Abbildung	6: Beispiel: Darstellung der ROIs anhand TTC, ADC-Läsion und T2*- Läsionswachstum	.26
Abbildung	7: Schicht einer T2*-gewichteten MR Sequenz mit VOI Läsionsseite (rot) und Gegenseite (Grün).	.28
Abbildung	8: Farblich kodierte Schicht einer T2*-gewichteten MR Sequenz in Bin-Kategorien	.28
Abbildung	9: T2*-gewichtete farblich kodierte Signalintensitäten.	.29
Abbildung	10: ADC-Medianwerte gesamtes MCAO Versuchstierkollektiv Infarktkern (ROI=IK).	.33
Abbildung	11: ADC-Medianwerte MR-Sham-Versuchstierkollektiv.	.34
Abbildung	12: ADC-Medianwerte Messreihe 40 Minuten Okklusionszeit Infarktkern (ROI=IK).	.37
Abbildung	13: ADC-Medianwerte Messreihe 60 Minuten Okklusionszeit Infarktkern (ROI=IK).	.37
Abbildung	14: ADC-Medianwerte Messreihe 40 Minuten Okklusionszeit, Peripher des Infarktkerns (ROI=IP)	.38

Abbildung	15: ADC-Medianwerte Messreihe 60 Minuten Okklusionszeit, Peripher des Infarktkerns (ROI=IP)	.38
Abbildung	16: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite (ROI=IK) und Gegenseite (ROI=KIK)	.41
Abbildung	17: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite (ROI=IK) und Gegenseite (ROI=KIK)	.41
Abbildung	18: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite und Gegenseite. Messreihe SHAM	.42
Abbildung	19: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite (ROI=IK) und Eppendorfstandard. Messreihe MCA Okklusionszeit 40 Minuten.	.43
Abbildung	20: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite (ROI=IK) und Eppendorfstandard. Messreihe MCA Okklusionszeit 60 Minuten.	.44
Abbildung	21: T2*WI-Signalintensitätsänderungen während Ischämie (a;c) und nach Reperfusion (b;d)	.46
Abbildung	22: Schalenmodell: T2*-gewichtete Sequenz. Untersuchung der Signalintensitätsvolumina	.49
Abbildung	23: Dynamische T2*-Läsionsvolumina innere Schale.	.50
Abbildung	24: Dynamische T2*-Läsionsvolumina äußere Schale	.51

1. Einleitung

1.1. Epidemiologie

Der Schlaganfall ist die dritthäufigste Erkrankung in den modernen Industrienationen. Diagnostik und Therapie sind zentrale Themen der heutigen neurologischen und neuroradiologischen Forschung. Insgesamt liegen auch bei der Mortalitätsrate zerebrovaskuläre Erkrankungen mit jährlich 150-200 von 100000 Menschen an dritter Stelle. Die Hauptrisikofaktoren zerebrovaskulärer Erkrankungen sind arterielle Hypertonie, höheres Lebensalter, vorangegangene Herzerkrankungen, Diabetes mellitus sowie Nikotinabusus und zahlreiche andere.¹

1.2. Pathophysiologie

Die Energie, die durch den Funktionsstoffwechsel im Gehirn verbraucht wird, dient v.a. der Erhaltung des Membranpotentials.² Dieser Funktionsstoffwechsel kommt im Falle einer zerebralen Durchblutungsstörung in dem betroffenen Areal zum Erliegen.³ Die pathophysiologischen Vorgänge durch makroangiopathische einer Durchblutungsstörung werden primär Mechanismen (thromboembolischer Verschluss oder hämodynamische Ursachen) der hirnzuführenden Arterien oder intrakranieller Äste und durch mikroangiopathische Prozesse verursacht.¹ Die Reduktion des Energiestoffwechsels infolge des Infarkts führt zu einem Abfall des energiereichen ATPs innerhalb der Zelle und damit zu einem Ausfall der Na-K-ATPase.⁴ Der Abfall der Metaboliten und der Sauerstoffzufuhr der Zelle führt zu einem ischämischen Infarkt.² Dadurch wird der Energiestoffwechsel reduziert, wodurch es zu einem Abfall des energiereichen ATPs innerhalb der Zelle kommt.⁵ Begleitend kommt es zum Ausfall der Na-K-ATPase.² Die Folge ist eine Änderung des Ionenhaushaltes der Zelle,⁵ die zu einer ischämischen Depolarisation entlang der Zellmembran führt.⁶ Es kommt zu einer Verschiebung von extrazellulären H₂O-Molekülen nach intrazellulär sowie zu einer intrazellulären Laktatakkumulation,³ die eine Anschwellung der Zelle verursacht.⁷⁻⁹ Der Vorgang ist bildmorphologisch als Diffusionsstörung zu erkennen, da die Wasserdiffusion durch Membran und Makromolekularbewegung intrazellulär behindert wird.¹⁰⁻¹² Durch diese eingeschränkte Molekularbewegung kommt es zur Minderung der extrazellulären Flüssigkeit.^{5,13} Somit ist die energieaufwändige intrazelluläre Mikrozirkulation durch ein vermindertes Angebot an Energieträgern herabgesetzt.⁷ Diese herabgesetzte Mikrozirkulation lässt sich mittels Diffusionsgewichteter Bildgebung bildlich differenzieren.⁷

Die einzelnen Parenchym-Gebiete sind unterschiedlich stark von der Ischämie betroffen. Hierbei werden drei Zonen der Neuronen Population in einem ischämischen Infarktareal unterschieden.² Der sogenannte Infarktkern ist das Gebiet mit irreversibel strukturell geschädigtem Hirngewebe im Zentrum der Läsion.^{8,9,14} In der zweiten Zone, der Penumbra, besteht morphologische Integrität der Neuronen.² Gleichzeitig herrscht eine reversible Störung des Funktionsstoffwechsels, die zu elektrophysiologischer Unerregbarkeit des Gewebes führt.³ Diese Zone kann sich, im Gegensatz zum Infarktkern, nach Reperfusion vollständig regenerieren.³ Bei fortbestehendem Perfusionsdefizit droht diesem Areal der irreversible Zelluntergang.³ Die dritte, peripherer gelegene Zone bezeichnet man als oligämisches Gewebe.¹⁵ In dieser Zone kommt es zur Reduzierung der Perfusion, jedoch nicht zur Störung des Funktionsstoffwechsels oder zum Zelluntergang.¹⁵

Bei anhaltender Perfusionsstörung hängt die Ausdehnung der Penumbra im Wesentlichen von folgenden Faktoren ab:

- Abfall des zerebralen Blutflusses (CBF), ²
- Lokalisation des Gefäßverschlusses und Blutversorgung der Gebiete durch Kollateralen,¹⁶
- Dauer des Perfusionsdefizites.^{2,3}

Bildmorphologisch wurde bisher das Ausmaß der Penumbra u.a. aus dem Perfusions-Diffusions-Mismatch Konzept näherungsweise berechnet. In der Perfusions-gewichteten (PWI) Sequenz wird hierbei die Perfusionsminderung und in der Diffusions-gewichteten (DWI) Sequenz die irreversible Diffusionsstörung näherungsweise dargestellt.^{17,18} Die Differenz der beiden Areale diente bisher der Abschätzung des rettenden gefährdeten, zu Hirngewebes, der Penumbra. deren Funktionsstoffwechsel geschädigt ist und eine kritische Mindestperfusion durch die leptomeningealen Kollateralen stattfindet.^{19,20} Leptomeningeale Kollateralen sind Anastomosen zwischen den oberflächlichen Hirnarterien und der A. carotis media, anterior und posterior.¹⁹ Vor allem bei proximalen Gefäßverschlüssen gewinnt die Penumbra an Bedeutung. Bei voranschreitender Ischämiedauer ohne Therapie verschmälert sich die Penumbra, während das Gebiet des Infarktkerns sich zentrifugal weiter ausdehnt.⁸



Abbildung 1: Pathophysiologische Änderung von Stoffwechselparametern bei zerebralem Infarkt.

In der Abbildung sind der Zusammenhang zwischen Verminderung des zerebralen Blutflusses (CBF) und der Sauerstoffausschöpfungsrate (OEF) sowie der zerebralen metabolischen Sauerstoffrate (CMRO2) dargestellt.²¹

Auf pathophysiologischer Ebene kommt es neben Verminderung des zerebralen Blutflusses (CBF) auch zu Veränderungen der Sauerstoffausschöpfungsrate (OEF) und der zerebralen metabolischen Sauerstoffrate (CMRO₂) (siehe Abb.1.).²¹ Im Zuge der CBF-Verminderung steigt die OEF zunächst an, ist jedoch nicht ausreichend für den erhöhten O₂-Bedarf und für die Aufrechterhaltung eines intakten metabolischen Energiestoffwechsels.²¹ Somit kommt es zum Abfall der CMRO₂.^{2,11} In der Phase der Reperfusion erhöht sich der CBF über den präischämischen Wert hinaus. Die OEF sinkt dabei unter den Ausgangswert. Die CMRO₂ bleibt bei diesem Prozess unverändert niedrig.^{2,11} Der beschriebene Verlauf der OEF und die damit verbundene Erhöhung des paramagnetischen Deoxyhämoglobins bilden die Basis für die T2*-gewichtete MR-Bildgebung.²² Die vorliegende Arbeit untersucht die Nutzung der T2*-gewichteten Bildgebung für die quantitative und qualitative Bestimmung der Infarkt-betroffenen Areale.

1.3. Klinik

Als Schlaganfall wird generell eine Durchblutungsstörung in einem oder mehreren zerebralen Arealen bezeichnet, die zu neurologischen Ausfällen führt. Bedingt durch die Symptomatologie des Schlaganfalls lassen sich somit Aussagen über die Lokalisation des betroffenen Gefässversorgungsareals treffen. Je nach Lokalisation und Ausdehnung des Infarktgeschehens können mehrere Symptome gleichzeitig auftreten.¹

1.4. Ätiologische Klassifikation

Bei zerebralen Infarkten führen Perfusionsstörungen zu neurologischen Defiziten. Es werden zerebrale ischämische Infarkte (85% der Schlaganfälle) von zerebralen Hämorrhagien unterschieden, wobei akute zerebrale ischämische Ereignisse durch Thromboembolien, kardiogene Embolien, Vaskulitiden, Hirnvenen- und Sinusvenenthrombosen verursacht werden können. Hämorrhagien (15% der Schlaganfälle) können in intrazerebrale Hämatome und subarachnoidale Blutungen (SAB) unterteilt werden. Spinale Durchblutungsstörungen sind als weitere Kategorie zu erwähnen.¹

1.5. Neuroradiologische Schlaganfalldiagnostik

Nach Anamnese, sowie neurologischer und internistischer Untersuchung, folgt die neuroradiologische Diagnostik. Im wesentlichen werden zwei Verfahren angewendet: die cranielle Computertomographie (CCT) und die Magnetresonanztomographie (MRT).^{1,23} In bestimmten Fällen kommt zusätzlich die nuklearmedizinische Funktions-Bildgebung (PET/SPECT) zum Einsatz, die genaue Aussagen über die Stoffwechsellage der Neuronen liefert.² Die vorliegende Arbeit und die Versuchsreihen konzentrieren sich auf die Anwendung der MRT. Das CCT Verfahren wird zum Teil mit diskutiert.

1.5.1. Cranielle Computertomographie

In der craniellen Schnittbilddiagnostik ist die cranielle Computertomographie (cCT) am weitesten verbreitet. Es ist kostengünstig und schnell anzuwenden. Bei diesem Verfahren werden die zu untersuchenden Organe schichtweise durchstrahlt. Abhängig von der Gewebedichte ergeben sich dabei Densitätsunterschiede, die nach der Houndsfield Skala in Graustufen kodiert werden.²³ Per Computer wird die dreidimensionale Dastellung der Organe errechnet.²³ Zerebrale Läsionen können anhand der CT schnell detektiert werden, insbesondere Hämorrhagien.²³ Bei dem ischämischen Schlaganfall zeigen sich die ersten bildmorphologischen Veränderungen innerhalb der ersten sechs Stunden post ictus als "early ischemic signs", wobei 45 Minuten nach Auftreten der neurologischen

Symptome die ersten Anzeichen in der cCT zu erkennen sind.²⁴ Insbesondere die Wasserzunahme kommt in den geschädigten Regionen zur Darstellung.²⁵ Die Hypodensität steigt linear an und das Maximum wird hierbei nach drei bis zehn Tagen erreicht.^{11,20,22} Wichtigster Grund für den Einsatz der cCT beim AIS ist der Ausschluss intrakranieller Hämorrhagien, wobei diese Methode der Bildgebung am frühesten die höchste Sensitivität aufweist.²⁶ Um den Zustand der zerebralen Gefäße besser darzustellen wird das CTA-Verfahren angewendet. Hierbei wird vorab jodhaltiges Kontrastmittel i.v. appliziert und die Organregionen gescannt, nachdem der Bolus detektiert wird.^{1,23}

1.5.2. Magnetresonanztomographie

Das Verfahren der Magnetresonaztomographie nutz das physikalische Verhalten von Protonen (Wasserstoffatomkernen) im Magnetfeld. Die positiv geladenen Protonen drehen sich mit einer bestimmten Frequenz um ihre eigene Achse, genannt "Spin²³ Ein supraleitender Magnet erzeugt ein statisches, magnetisches Hauptfeld.²³ Durch das starke Magnetfeld richten sich die Protonen entlang der Hauptmagnetfeldachse aus.²³

Diese Spin Achse verläuft selten parallel zu der Hauptmagnetfeldachse. Somit kommt es zu einer Rotation in Richtung der Hauptmagnetfeldachse, der sog. Präzession. Bei der MRT wird die zu untersuchende Körperregion in das Zentrum des Hauptmagnetfeldes positioniert und ein Hochfrequenzimpuls (HF) eingestrahlt. Protonen werden in energiereichere Zustände überführt. Der HF führt zur Gleichschaltung der Protonenspins. Die Transversalmagnetisierung nimmt zu. In Form der Relaxation wird die durch den HF zugeführte Energie von Protonen abgegeben und führt zur Rückkehr der Protonen in ihre ursprüngliche Spin Konfiguration prä HF.²⁷

Hierbei nimmt die Longitudinalmagnetisierung zu. Die beim Protonenlagewechsel freiwerdende Energie wird im MRT-Verfahren detektiert und per Computer in Bilddaten umgerechnet. Die transversale Relaxationszeit (T2) beträgt zwischen 30 – 150 ms. Nach der HF Anregung fällt die transversale Zeit etwa auf 37% ihres Ausgangswertes zurück. Diese Zeitspanne ist definitionsgemäß die T2-Zeit. Sie variiert in unterschiedlichen Geweben. Der schnelle Richtungswechsel der Wasserstoffmolekülspins führt dabei zu einem hyperintensen Signal. Wenn die Phasengleichheit länger andauert, so ist die T2-Zeit lang, die transversale Relaxation sinkt langsamer und somit ist das Signal hypointenser. Um T2-Bildgebung darzustellen müssen Echo-Zeit (TE) und Repetitions-Zeit (TR) lang gewählt werden. Die Wahl von TE, TR, HF, von Magnetfeldstärke und Kontrastmittelgabe (KM) ermöglichen es, unterschiedliche Sequenzen zu akquirieren.^{23,27}

Die Sequenzen stellen unterschiedliche anatomische Strukturen, je nach Gewebszusammensetzung und pathophysiologischem Mechanismus dar. Dabei wird im Folgenden auf die Sequenzen T2-, T2*und die DWI-Bildgebung eingegangen, die in den Versuchsreihen der vorliegenden Arbeit verwendet wurden. Bei der DWI wird die durchschnittliche räumliche Ausbreitung eines Wassermoleküls pro Zeiteinheit und Volumen gemessen. B-Werte dienen als Maßstab für die Diffusionswichtung. Bei einem ischämischen Infarkt kommt es zur Diffusionseinschränkung (siehe Kapitel: "Pathophysiologie"). Die Einschränkung führt bei der DWI-Bildgebung zu einem hyperintensem Signal. Bei der Errechnung der ADC-Bilder stellen sich frische Infarktareale mit korrelierender ADC-Wert Absenkung dar.⁷ Die Sequenz ist äußerst sensitiv für die frühe Detektion kleiner ischämischer Infarktareale.^{7,8,26}

Für die Untersuchung des pathophysiologischen Verhaltens während des AIS wurde in den Versuchsreihen insbesondere die T2*-gewichtete Sequenz betrachtet. Die Sequenz detektiert unterschiedliches physikalisches Verhalten von paramagnetischem Deoxyhämoglobin und diamagnetischem Oxyhämoglobin im magnetischen Feld.²⁸ Dieser Unterschied des magnetischen Verhaltens des Blutes in Abhängigkeit von dem Oxygenierungsgrad kann mittels der auf T2*-basierten 'Blood oxygenation level dependent' (BOLD-) Technik dargestellt werden. Hypointense T2*-Signalintensitäten signalisieren einen lokal erhöhten Deoxyhämoglobin- (Deoxy-Hb-) Gehalt.²⁹ Regionale Durchblutungsunterschiede können mit dieser Methode dargestellt werden.²⁸ Eine weitere wichtige MRT-Sequenz, die Vorteile gegenüber der CT bietet, ist die sogenannte "time of flight" (TOF). Diese ermöglicht die Darstellung zerebraler Gefäße ohne Kontrastmittelgabe.²³ Bei der TOF werden die Unterschiede der physikalischen Eigenschaften bewegten Blutes gegenüber dem starren umliegenden Gewebe genutzt um Gefäße zu visualisieren.²³

1.6. Nuklearmedizinische Bildgebung

Das ischämische Infarktareal kann ebenso in der funktionsdiagnostischen Bildgebung mittels PET nachgewiesen werden. Ab einer Stunde post ictus läßt sich innerhalb des Infarktareales ein verminderter CBF und eine erhöhte OEF feststellen.² Es wurde eine Korrelation zwischen dem Volumen des initial betroffenen Gewebes und des Schweregrades des neurologischen Defizites erkannt.³⁰ Mit der Oxygen-15 PET kann die regionale zerebrale Perfusion und die OEF quantifiziert werden.²⁵ Die unterschiedlichen metabolischen Werte/CBF wurden als Infarktkern, periphererer Zone und dazwischen liegender Penumbra klassifiziert.^{2,31} Es gibt weitere funktionsdiagnostische Methoden, wie die "single-photon-emissions-computed-tomography" (SPECT), zur Untersuchung des relativen CBFs, auf die in dieser Arbeit nicht näher eingegangen wird.²

1.7. Vergleich der Bildgebungsmethoden in der Schlaganfalldiagnostik

Die nuklearmedizinische Bildgebung ist weltweit nur eingeschränkt verfügbar, aufwendig und mit radioaktiver Strahlenexposition des Patienten verbunden.²⁸ Die niedrige zeitliche und räumliche Auflösung der Bilder ist ein weiterer Nachteil.²⁸ Wegen der langen Vorbereitungszeit für PET sowie SPECT Untersuchungen, bedingt durch die Injektion des Tracers vorab, sind diese Verfahren in der Akutsituation klinisch nicht umsetzbar.

MRT und CT haben beide Vor- und Nachteile bzgl. der Diagnostik bei AIS. Die MRT hat einen höheren Gewebskontrast und Signalintensitätsveränderungen sind in bestimmten Sequenzen bereits wenige Minuten post ictus nachweisbar. Kürzere Untersuchungszeiten und höhere geometrische Bildauflösung sind hingegen Aspekte die für die CCT sprechen. Wegen der fehlenden Strahlenbelastung ist die MRT bei der AIS-Bildgebung vorteilhaft. Zwischen Erkennung des pathophysiologischen Geschehens und Einleitung der optimalen Therapie gilt es die Zeit zu minimieren und somit das positive Outcome zu verbessern.

1.8. Therapieziele

Der ischämische Schlaganfall wird zumeist durch einen intraarteriellen Thrombus oder durch anderes embolisches Material verursacht.¹ Je früher hierbei die Reperfusion nach Gefäßverschluss stattfindet, desto besser kann sich das betroffene Hirngewebe regenerieren und seine Funktion wieder aufnehmen.¹¹ Hierbei werden medikamentöse oder mechanische Verfahren gewählt um die Verschlüsse eines akuten Schlaganfalles zu rekanalisieren.²³ Paradoxerweise kann die Wiederherstellung des CBFs unter bestimmten Bedingungen posttherapeutische neuronale Schäden oder nachhaltige Verletzungen nach sich ziehen.³² Es ist Ziel der Forschung, die diagnostischen und therapeutischen Verfahren zu optimieren um somit das Outcome der Schlaganfalltherapie zu verbessern.

An dieser Stelle wird kurz detaillierter auf den Begriff Outcome eingegangen, da es ein entscheidender Punkt in der Legitimationskette dieses wissenschaftlichen Projektes darstellt. Ein positives Outcome bedeutet: Patienten nach Schlaganfall mit vollständiger Heilung. Ein negatives Outcome bedeutet: Patienten nach Schlaganfall mit Hirngewebsischämien und bleibenden Schäden.

Die am häufigsten verwendete Therapieform bei AIS stellt die intravenöse Gabe von rtPA dar. Hierbei findet eine Lysierung des Thrombus statt. Diese wird nur in ca. 4% aller AIS Patienten angewandt. Ein Problem ist das schmale therapeutische Zeitfenster von 4,5 Stunden.³³

Bei einer rtPA-Lyse zu einem späteren Zeitpunkt steigt das Risiko der Schädigung des neuronalen Gewebes durch Hämorrhagie.^{26,34} Ein negatives Outcome wäre die Folge. Präzisere Aussagen der neuroradiologischen Bildgebung führen zu einer Verbesserung des positiven Outcomes der Schlaganfalltherapie. Bei der Diagnostik des AIS muss abgewogen werden, welche Therapieform für den Patienten den geringsten ischämischen Zelluntergang und den geringsten Funktionsverlust bewirkt.³⁵ An dieser Stelle setzt die vorliegende Dissertation an. Sie ist Teil der

Grundlagenforschung der Neuroradiologie zur Optimierung der Schlaganfall-Bildgebung. Dieses Projekt konzentriert sich dabei auf die MRT und hierbei explizit auf die T2*-gewichtete Sequenz.

2. Fragestellung und Arbeitshypothese

Die vorliegende Arbeit untersucht, ob anhand des Einsatzes von T2*-gewichteten Sequenzen der Magnetresonanztomographie in der Diagnostik des akuten Schlaganfalles eine schnellere, differenziertere und präzisere Aussage über die Läsion gemacht werden kann. Die Versuchsreihe dient der Untersuchung der pathophysiologischen Grundlagen der T2*-gewichteten Bildgebung. Das Experiment soll insbesondere untersuchen:

- a) mit welcher zeitlichen Dynamik sich das Signal der T2*-gewichteten Bildgebung nach Gefäßverschluss und –wiedereröffnung ändert und
- b) wie diese Signalveränderungen mit histologischen Veränderungen der endgültigen Infarktläsion zusammenhängen.

In den Versuchsreihen werden mehrere Sequenzen der Magnetresonanztomographie mit der Histologie verglichen um Aufschluss über die Aussagekraft der oben genannten Sequenz zu bekommen. Die Versuchsreihen werden in zwei Versuchsabschnitten ausgeführt:

- Im ersten Versuchsabschnitt soll untersucht werden, ob die T2*-gewichtete Bildgebung das Infarktareal detektiert. Dabei soll die Untersuchung der zeitlichen Änderung der Signalintensität in Abhängigkeit von der Ischämiedauer durchgeführt werden. Weiterhin wird die oben aufgeführte Sequenz mit dem frühen Signalintensitätsabfall des ADC-Wertes bei einer zerebralen Ischämie verglichen. Dieser wurde bereits in vorhergehenden Versuchsreihen beobachtet.^{8,9,14}
- 2) Der zweite Versuchsabschnitt besteht aus einer histologischen Analyse des Infarktareales und dessen Vergleich mit den T2*-gewichteten Infarktläsionen. Hierfür wird das Gehirn einer Maus entnommen und mittels TTC-Färbung aufbereitet. Diese Färbung soll als histologischer Beweis für das Vorliegen eines Infarktes dienen und das Ausmaß des Infarktareales bestimmen. Das Volumen des Infarktareals soll mit dem Verlauf des T2*-gewichteten Signals in Zusammenhang gebracht werden.

Diese beiden Schritte sollen die Methode der T2*-gewichteten Bildgebung und deren Aussage im Falle einer akuten zerebralen Ischämie näher untersuchen und bewerten.

Vor der experimentellen Grundlagenuntersuchung wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

1. Wie verhält sich das Signal der T2*-gewichteten Bildgebung nach Gefäßverschluss/Rekanalisation?

Hypothese 1a: Es zeigt sich zwischen Okklusion und Rekanalisation des Gefäßes eine T2*-Minderung, deren Volumen größer ist als das der DWI-Läsion.

Hypothese 1b: Nach Rekanalisation zeigt sich initial eine T2*-Steigerung in vitalem vs. infarziertem Gewebe.

Hypothese 1c: Die T2*-Minderung bildet sich zurück. Dies findet zeitlich verzögert und mit steigender Okklusionsdauer unvollständiger statt.

2. Wie korreliert die histologische Veränderung und ADC-Bildgebung mit der T2*-Läsion?

Hypothese 2a: Die histologische, mittels TTC-Färbung aufbereitete, zerebrale Läsion weist ein farbloses Areal auf, das kleiner als das Volumen der T2*-Minderung ist.

Hypothese 2b: Histologisches Läsionsvolumen korreliert mit der maximalen T2*-Absenkung.

Hypothese 2c: Der mediane ADC-Wert der Läsion korreliert mit der T2*-

Signalintensitätsminderung in Abhängigkeit vom Messzeitpunkt.

3. Material und Methoden

3.1. Tiere

Es wurden männliche C57 Black Mäuse vom Wildtyp verwendet. Das Alter der Mäuse war 12 Wochen (SD: ± 2 Wochen). Dieser Zeitpunkt bietet optimale Bedingungen für die Operation, da die Gefäßstrukturen eine operationsfähige Größe erreicht haben und das umgebende Gewebe bindegewebs- und fettarm ist. Die Operation ist damit deutlich erleichtert und führt zu höheren Erfolgsraten. Das Körpergewicht betrug bei allen Mäusen 22 g (SD: ± 3 g). Die Tiere stammten aus der Tierhaltung des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf.

3.2. Tierschutz und Tierverordnung

Alle Experimente wurden nach den Leitlinien der Hamburger Tierschutzverordnung durchgeführt. Bedingt durch die in Kapitel "Auswertung der quantitativen T2-Sequenzen" aufgeführten Gründe war es zwingend erforderlich, die Experimente am Tiermodell durchzuführen. Es wurde darauf geachtet, dass die Zahl der Tiere so gering wie möglich gehalten wurde, und die Tiere während der Intervention, der Untersuchung sowie dem Exitus ausreichend sediert wurden.

3.3. Operationstechnik

Die gesamte Operation einschließlich Narkose-Einleitung wurde im MRT-Vorraum durchgeführt. Die männlichen C57 Black/6J Tiere wurden für einen transienten Verschluss der A. cerebri media (MCAO) mittels dem Fadenokklusionsmodell oder für eine Sham-Operation vorbereitet und hierfür i. p. mit Ketamin (86.6mg/(pro kg Körpergewicht)) und Xylazin (13.1mg/(pro kg Körpergewicht)) anästhesiert. Unter dem Operationsmikroskop wurde die linke A. carotis communis (CCA), die linke A. carotis externa (ECA) und die linke A. carotis interna (ICA) frei präpariert. Das proximale, so wie das distale Ende der ECA wurden mit einem Faden abgebunden. Ein silikonbeschichteter Nylonfaden wurde 10 mm distal der Bifurkation in die ECA nach proximal vorgeschoben, um über die ICA in die linke A. media cerebri (MCA) zu gelangen und diese zu verschließen. Bei den Sham-Mäusen wurde die gleiche Operation durchgeführt, mit dem Unterschied, dass kein Vorschub des Fadens in die MCA stattfand.³⁶ Die Körpertemperatur wurde normotherm (37°C) gehalten mittels temperaturregulierter Einkanal-Solenoid-Spule (Philips, Medical Research Center, Hamburg, Germany) während den Messungen und mittels Wärmematte während der Operation. Durch diese Maßnahmen wurde eine Veränderung des CBF durch Hypothermie vermieden.³⁷ Die MCAO Mäuse

Gruppe (n=18) wurde in zwei Untergruppen unterteilt. Bei der ersten Gruppe kam es zu einer Okklusionszeit von 60 Minuten (n=12). Bei der zweiten Gruppe betrug die Okklusionszeit 40 Minuten (n=6). Um die Messungen mit normierten Darstellungen zu vergleichen, wurden neben der Sham-Operation Mäuse-Gruppe (n=6) zusätzlich Kontroll-Mäuse (n=6) gescannt.

3.4. Lagerung

Um Atmungsartefakte zu minimieren wurde der Kopf der i.p. anästhesierten Mäuse nach dorsal überstreckt, die Zähne mittels eines Fadens umwickelt und an einer Schiene befestigt. Der kaudale Abschnitt der Maus wurde mit Klebestreifen fixiert. Dies diente der Minimierung der ,foldover'-Artefakte in phasenkodierender Richtung durch Bewegung während der Untersuchungsaufnahmen.

3.5. Magnetresonanztomographie: Sequenzen

Die magnetresonanztomographischen Messungen wurden an einem Ganzkörper 3 Tesla MR-System Intera (Philips Medical Systems, Best, Netherlands) mit einer Einkanal-Solenoid Spule (Philips Medical System, Hamburg, Germany), durchgeführt. Folgende Parameter wurden für die Akquisition der Sequenzen bei der axialen Bildgebung der Mäusegehirne verwendet:

- Multi-echo T2*-gewichtete Gradienten-echo Sequenz (Repetitionszeit: 1 Sekunde; Echo-Zeit: 9.21 ms; FOV: 75 mm²; 128 x 128 Datamatrix; Schichtdicke: 0.3 mm, Schichtabstand: 0.6 mm; Flip Angle: 25°).
- quantitative T2-gewichtete multi-echo Spin-Echo Sequenz (Repetitions-Zeit: 1.5 Sekunden; Echo-Zeit: 63.6 ms; FOV: 80 mm²; 128 x 128 Datamatrix; Schichtdicke: 1 mm; Schichtabstand: 1 mm; Flip Angle: 90°).
- Spin-Echo-EPI DWI Sequenz (Repetitions-Zeit: 2000.00 ms; Echo-Zeit: 123.62 ms; Schichtdicke: 1 mm; Schichtabstand: 1 mm; FOV: 80mm²; 128 x 128 Datenmatrix; Voxel-Dimension: (0.625 x 0.625 x 1) mm³).

Details zu den MR Bildmodalitäten						
			Schichtanzahl/	FOV	Matrix	Voxel
Modalität	Sequenz	TE/TR (ms)	dicke / abstand	(mm ²)	(Voxel)	(mm ³)
DWI	EPI	123.62/2000.00	6/ 1mm/ 1mm	80	128x128	0.625x0.625x1
T2*	FFE	9.21/16.44	33/ 0.3mm/ 0.6mm	75	128x128	0.23x0.23x0.9
qT2	TSE	63.60/1500.00	9/ 1mm/ 1mm	80	128x128	0.31x0.31x2
ADC		123.62/2000.00	6/ 2mm/ 1mm	80	128x128	0.625x0.625x1

Tabelle 1: Parameter der verwendeten MR-Sequenzen.

Die gesamte Untersuchungszeit betrug je Maus zwischen 125 - 145 Minuten mit Variation je nach Untersuchungsgruppe. ADC-Bilder wurden aus DWI-Bildern berechnet indem ein "Threshold" von 500 verwendet wurde und b-Werte von 0, 500 und 1000 mm²/s.

3.6. Anatomie



Abbildung 2: Anatomische Schnitte eines Mausgehirns. Hippocampus (Hp), Thalamus (Th), Cortex (Cx), dorsaler Raphe-Kern (DR).³⁸

Orientierungspunkte bei der Festlegung der ROI-Lokalisationen gaben die in Abbildung 2 gekennzeichneten anatomischen Strukturen des Mausgehirns. Durch diese Orientierungspunkte

konnte Konsistenz bei der Datenerhebung in allen Versuchstieren gewährleistet werden. Des Weiteren wurde darauf geachtet, dass die ROI keine Liquorräume mit erfasste, da dies zu fehlerhaften Werten bei der Analyse geführt hätte.



Abbildung 3: Ansicht Mausgehirn von basal. Arterien angefärbt mit Tinte.³⁹ (* = Verzweigung der Aa. carotis internae)

3.7. Untersuchungsprotokoll

Das MRT Sequenz-Protokoll variierte zwischen den Gruppen. Vorab wurde in jeder Gruppe 1 x qT2, 3 x T2*WI sowie 2 x DWI-Sequenzen gefahren. Dies diente v.a. der Auswertung, Vergleichbarkeit, sowie Untersuchung der Reproduzierbarkeit in der Versuchsreihe und der Varianz zwischen den Mäusen. Drei Minuten nach MCAO wurden jeweils zwei unterschiedliche Sequenzprotokolle gefahren (siehe Abbildung 4, Abbildung 5).



Abbildung 4: Schematische Darstellung des MR-Sequenzprotokolls der Messreihe Mouse Stroke 40 Minuten.

Drei sukzessive Messungsperioden sind abgebildet mit Baseline-Messung gefolgt von MCAO, 40 min zerebraler Ischämie, Rekanalisation und 60 min post Rekanalisationsphase.



Abbildung 5: Schematische Darstellung des MR-Sequenzprotokolls der Messreihe Mouse Stroke 60 Minuten.

Drei sukzessive Messungsperioden sind abgebildet mit Baseline-Messung gefolgt von MCAO, 60 min zerebraler Ischämie, Rekanalisation und 60 min post Rekanalisationsphase.

Zu Beginn der Messung wurden Planungs-Scans gefahren, anhand derer die räumliche Ausrichtung

der axialen T2*-gewichteten Sequenzen festgelegt wurde. Direkt im Anschluss an die MCAO

wurden T2*WI Sequenzen wiederholt gefahren und somit serielle dynamische T2*WI-Bilder akquiriert. In Gruppe MR 60 min geschah dies über 50 Minuten (siehe Abbildung 5), in Gruppe MR 40 min über 30 Minuten hinweg (siehe Abbildung 4). Im Anschluss wurden 2 x axiale DWI Messungen und 1 x quantitative T2-Messung erneut wiederholt. Nach diesem Messabschnitt folgte die Rekanalisation der MCA indem der Faden langsam unter mikroskopischer Kontrolle mit einer Pinzette 5 mm nach distal gezogen wurde. Damit sollten zu große anschwemmende Blutmengen, die zu Hämorrhagien geführt hätten, vermieden werden. 30 Sekunden nach Rekanalisation wurde eine serielle dynamische T2*WI Sequenzen für die Dauer von 60 Minuten bei allen Gruppen akquiriert. Danach wurden durchgeführt: 2 x DWI und 1 x quantitative T2 Messung (siehe Abbildung 4, Abbildung 5). Die Reihenfolge entsprach der vorangegangenen Messreihe sowie der Baseline-Messung präoperativ. Die Messbedingungen wurden so konstant wie möglich gehalten um die Vergleichbarkeit der einzelnen Experimente zu gewährleisten und um reproduzierbare Versuchsbedingungen beizubehalten.

3.8. TTC-Färbung

Sechs Stunden nach MCAO wurde, im Anschluss an die Untersuchung, der Exitus letalis mittels Scherenschlag herbeigeführt. Die Schädelkalotte wurde eröffnet und das Gehirn von Hirnstamm und von Nn.opticii mit einem Messer getrennt. Das Präparat wurde in PBC-Lösung eingelegt auf Eis kühl gelagert. Unmittelbar danach wurde das Gehirn mittels Schnittblock in 1 mm dicke Schichten geschnitten. Die Schichten wurden in eine Petrischale mit Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung (TTC) (0.1 Mol/ 100 ml Phostphat Puffer; Mannitol 5 g; Triphenyltetrazoliumchlorid 2 g) gelegt. Es wurde ca. 7 Minuten (SD: ± 2 Minuten) gewartet, bis das Infarktareal deutlich vom nicht-infarzierten Areal abgrenzbar war. Auch hier wurde verstärkt auf konstante Bedingungen (Zeit, TTC-Lösung, Schichtanordnung) geachtet um Fehlerquellen zu vermeiden. Dann wurden die Schichten mittels Scanner mit einer Pixeldichte von 2400 dpi eingelesen. Die Auswertung erfolgte mit ImageJ Version 1.42 (National Institutes of Health, Washington D.C., USA). Durch umkreisen des Infarktareals ließ sich das Infarktvolumen aus der Summe der Infarktflächen der einzelnen Schichten bestimmen (94 Pixel/mm² => 1Pixel = 1/8928 mm²). So wurden histologisches Korrelat und Infarktgröße verifiziert und konnten mit den Auswertungen der Sequenzen verglichen werden.

3.9. Datenanalyse

3.9.1. Programme

Die per MRT ermittelten Sequenzen wurden mit mehreren Programmen ausgewertet. Für die Auswertung der DWI-Bilder wurde Image J Version 1.42 (National Institutes of Health, Washington D.C., USA) verwendet. Die Berechnung der ADC-Bilder wurde mit Philips Intera 3T MR Imaging System Software (Philips Health Care, Amsterdam, Netherlands) durchgeführt und ausgewertet. Die T2*-Signalintensitätswerte wurden ebenfalls mit Image J Version 1.42 ausgewertet. Für die Berechnung der T2*-Volumina wurde das Programm ANTONIA (Department of Computational Neurosience, Center of Experimental Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Germany) verwendet (siehe Kapitel: ,T2*-Läsionsvolumina Dynamik'). Die Auswertung der quantitativen T2-Werte erfolgte mit K-PACS Software V 1.4.0 (Plauen, Germany). Die Daten wurden im DICOM Format gespeichert, die quantitativen T2-Dateien in Form von Parchive Index Files (.par) und als Recordmacro-Dateien (.rec) erzeugt. Die Wahl und Details zur Auswertung der ROIs werden näher in Kapitel ,Ergebnisse' der jeweiligen Sequenzen beschrieben.

3.9.2. Auswertungsmethoden

3.9.2.1. ADC-Bilder

In allen Versuchsreihen mit histologisch gesichertem ischämischen Infarkt sowie in der SHAM-Versuchsreihe wurden die medianen ADC-Werte \pm MD (mean deviation from the median) für die folgenden ,region of interest' (ROI)-Lokalisationen (siehe Abbildung 6) ermittelt:

Tabelle 2: ROI-Lokalisationen ADC-Werte

IK = Infarktkern

IP = Peripherie des Infarktareales

KIK = bzgl. Hirnmittellinie spiegelsymmetrisch zu Infarktkern kontralaterales Areal

KIP = bzgl. Hinrmittellinie spiegelsymmetrisch kontralateraler zu Peripherie des Infarktareales

Dabei wurden die Infarktgebiete mittels TTC-Färbung anatomisch festgelegt und die ROIs in die korrelierenden Areale der ADC-Bilder gelegt. Als Infarktkern wurde das Areal kategorisiert, das nach TTC-Färbung farblos blieb. Das angrenzende Areal mit rosa Anfärbung wurde als Peripherie des Infarktareales kategorisiert. Rot angefärbte Gewebsareale nach TTC-Färbung wurden als von der Ischämie nicht-betroffenes Gewebe kategorisiert. Mittels Student's t-Test wurden die ADC-Werte der unterschiedlichen ROI-Lokalisationen verglichen, mittels one-way ANOVA wurden die einzelnen Messzeitpunkte einer Messreihe auf signifikante Änderungen überprüft. Die Signifikanz

aller gemessenen und genannten Abweichungen ist auf das Signifikanzniveau P<0,05 geprüft und verifiziert worden.

3.9.2.2.Quantitative T2-Sequenz

Bei Auswertung der Signalintensitäten der quantitativen T2-gewichteten Sequenzen wurde das Eppendorfstandardröhrchen - gefüllt mit einer Mixtur aus destilliertem Wasser und Magnevist® - temporal neben dem Mauszerebrum mit untersucht. Die Position und Konzentration der Mischung wurden in allen Messungen beibehalten. Die T2-Relaxationszeit des Eppendorfstandards lag bei 61,2 \pm 2,8 ms und verifiziert im Laufe der Messreihen die Konstanz der Werte bei einem Signifikanzniveau von P<0,05. Die Ergebnisse der Auswertung wurden auf zwei Arten analysiert. Zuerst wurden die ROIs der Läsionsseite vs. Gegenseite verglichen und anschließend die der Läsionsseite vs. Eppendorfstandard. Bei allen quantitativen T2 Messungen wurde der T2-Relaxationszeitmittelwert \pm SD (standard deviation of the mean) untersucht. Es wurde zwischen den zwei oben genannten unterschiedlichen Messreihen (MR 40 min und MR 60 min) unterschieden. Die quantitativen T2-Sequenzen werden in der MR 40 min zu den Messzeitpunkten direkt vor (Praeocc), 32 Minuten nach MCAO (Postocc) sowie 62 Minuten nach Rekanalisation (Postrec) durchgeführt (siehe Abbildung 4). Im Unterschied dazu erfolgte die MR 60 min Messung post Okklusion (Postocc) nach 52 Minuten (siehe Abbildung 5). Ansonsten herrschten äquivalente Bedingungen in den beiden Messreihen.

3.9.2.3.T2*-gewichtete Sequenz

3.9.2.3.1. Dynamik der Signalintensitäten

Zur Analyse der T2*-gewichteten Sequenzen wurden folgende ROIs gesetzt (siehe Abbildung 6):

Tabelle 3: ROI-Lokalisationen T2*-gewichteter Bildgebung

IK =	Infarktkern	

IP = Peripherie des Infarktareales

KIK = bzgl. Hirnmittellinie spiegelsymmetrisch zu Infarktkern kontralateral gelegenes Areal

KIP = bzgl. Hinrmittellinie spiegelsymmetrisch zu Peripherie des Infarktareales kontralateral gelegenes Areal

Gemessen wurden die Werte in der ischämischen Hemisphäre sowie hierzu kontralateral achsensymmetrisch in der nicht betroffenen Gegenseite. Als Trennlinie diente die Gehirnmittellinie in axialer Aufnahme. Aus den Messungen wurden die Signalintensitätsmittelwert \pm SD (standard deviation of the mean) ermittelt. Diese galten für die Läsionsseite wie auch für die Gegenseite. Es wurde der T2*-Wert der von der Ischämie betroffenen Läsionsseite durch den T2*-Wert der

normalen Gegenseite dividiert. Daraus ergab sich eine Aussage über das Verhältnis der Signalintensitäten beider Hemisphären zueinander. Dies erfolgte zu jedem Messzeitpunkt so, dass Aussagen über die zeitliche Änderung dieses Verhältnisses getroffen werden konnten.



Abbildung 6: Beispiel: Darstellung der ROIs anhand TTC, ADC-Läsion und T2*-Läsionswachstum.

Obere Zeile: (a) TTC-Histologie; (b) ADC-Map 52 Minuten post MCAO; Untere Zeile: T2*WI-Bildgebung Läsionswachstum (c) 3 Minuten; (d) 10 Minuten; (e) 20 Minuten; (f) 30 Minuten; (g) 40 Minuten post MCAO; ROI=IK (Infarktkern); ROI=IP (Peripherie des Infarktareales); ROI=KIK (Kontralaterale Seite, symmetrisch zu IK bzgl. der Mittellinie); ROI=KIP (Kontralaterale Seite, symmetrisch zu IP bzgl. der Mittellinie); Farbkodierung siehe Abbildung 9, Bild (e);

Vor der MCAO wurde ein Mittelwert aus drei Unterschiedlichen T2*WI Messungen ermittelt, die sog. Baseline-Messung (Messzeitpunkt Praeocc) (siehe Abbildung 4, Abbildung 5). Die ROIs wurden wie oben beschrieben analog zu den ROIs post MCAO an die anatomischen Stellen gesetzt, die später von dem Infarkt am stärksten betroffen sind. Auch bei dieser Messung wurde der T2*-Wert der zukünftig ischämischen aber noch unbehandelten Läsionsseite durch den T2*-Wert der normalen Gegenseite dividiert. Daraus ergab sich anhand dieses Baseline-Wertes eine Aussage über das Verhältnis der Signalintensitäten beider Hemisphären zueinander.

Aus 24 Baseline-Werten wurde der arithmetische Mittelwert \pm SD gebildet. Mit diesem Mittelwert der Messungen vor MCAO wurden die T2*-Werte nach MCAO verglichen und bewertet. Der Baseline-Wert betrug 1.00 \pm 0.01. Die T2*WI Bilder wurden in die bereits beschriebenen Gruppen

unterteilt (siehe Abbildung 4, Abbildung 5). Bei den Stroke Messreihen (MR) wurden serielle T2*gewichtete Bilder im Abstand von 2 Minuten akquiriert. Jedes dieser Bilder wurde ins Verhältnis zu den Werten gesetzt, die vor MCAO erhoben wurden. Dabei wurde ein Mittelwert aus dem Quotient des Wertes der ischämischen Hemisphäre und der Gegenseite für jeden einzelnen Messzeitpunkt ermittelt. Es wurden signifikante Unterschiede zwischen den Quotienten und den gemessenen Werten vor MCAO mittels one-way ANOVA Test geprüft (Signifikanzniveau P<0,05).

3.9.2.3.2. Dynamik der Läsionsvolumina

Die Datenauswertung wurde mit der Software ANTONIA (Department of Computational Neurosience, Center of Experimental Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Germany) durchgeführt. Um die Analyse des Infarktareales so präzise wie möglich zu gestalten, wurde das ,volume of interest' (VOI) manuell von medizinischem Fachpersonal festgelegt. Hierbei wurden Punkte in einem orthogonalen Bild definiert, die mittels Bezier Kurven verbunden wurden. In gleicher Weise wurde spiegelsymmetrisch in der gesunden Hemisphäre das VOI der Gegenseite an anatomisch gleicher Stelle und mit gleicher Größe festgelegt. Zur Erstellung der Histogramme wurden die VOIs normalisiert. Dazu wurde das Histogramm der Läsionsseite zur Artefakt Reduzierung von dem Histogramm der Gegenseite subtrahiert. Das Ergebnis wurde mittels B-Spline als polynomiale Kurve gefittet (Abb.7d). Die Fläche unterhalb der polynomialen Kurve des Histogramms wurde in 16 gleichgroße Areale zerlegt, so genannte ,Bin-Kategorien'. Jede Signalintensität wurde einer Bin-Kategorie zugeschrieben. Diese Art der Kategorisierung wurde zur Analyse des Infarktwachstums genutzt. Die Signalintensität jedes Voxels innerhalb der VOI wurde berechnet und einer der definierten Kategorien zugeordnet (Abb.8). Dies wurde für jeden Zeitpunkt durchgeführt.⁴⁰

Der Untersucher selektierte, welche Bin-Kategorien bei der dynamischen 3D Visualisierung dem Wachstum des Infarktkernes und der Penumbra zuzuordnen waren. Es wurden bestimmte Bin-Kategorien ausgewählt und das Volumen dieser für jeden einzelnen Zeitpunkt bestimmt. Das Wachstum der einzelnen Bin-Kategorien konnte somit quantifiziert und analysiert werden.⁴⁰ Mit Hilfe der "Marching Cube'- Algorithmen konnten die Veränderungen des Volumens der einzelnen Unterteilungen, die definierte Signalintensitätswerte beinhalteten, im zeitlichen Verlauf separat dargestellt werden. Diese Methode ermöglichte die unterschiedlichen Wachstumsverhaltensmuster der einzelnen Kategorien zu visualisieren und zu analysieren.⁴⁰



Abbildung 7: Schicht einer T2*-gewichteten MR Sequenz mit VOI Läsionsseite (rot) und Gegenseite (Grün).

(a), korrespondierende Histogramme (b-c), kombiniertes Histogramm in 16 Bin- Kategorien unterteilt (d).⁴⁰



Abbildung 8: Farblich kodierte Schicht einer T2*-gewichteten MR Sequenz in Bin-Kategorien 1-8 Unterteilung der infarzierten Region (a); korrespondierende histologische Schicht, intaktes Gewebe mit Färbung rot markiert (b);⁴⁰





(e)

Abbildung 9: T2*-gewichtete farblich kodierte Signalintensitäten. a) 4 Minuten post MCA Okklusion; b) 15 Minuten post MCA Okklusion; c) 30 Minuten post MCA Okklusion; d) 50 Minuten post MCA Okklusion; e) Wertetabelle mit Farbkodierung für T2*-gewichtete Bilder in [ms].

3.10. Statistik

Bei der Auswertung der ADC-Werte wurde der Medianwert \pm MD (mean deviation from the median) zur Analyse verwendet. Die Daten aller weiteren Auswertungen wurden als Mittelwert \pm SD (standard deviation of the mean) angegeben. Die Werte der ROIs der qT2, DWI, ADC oder T2*gewichteten Sequenzen unterschiedlicher Messreihen wurden mittels Student's t-Test auf einem Signifikanzniveau von P<0,05 auf signifikante Abweichung geprüft. Ebenso wurden die Veränderungen des Läsionsvolumens mit diesem Test auf Signifikanz untersucht. Bei der Korrelation von Signalintensitäten unterschiedlicher Sequenzen und bei der Korrelation von Signalintensitäten Läsionsvolumen wurde der Korrelationskoeffizient Pearson's r für die Analyse und Interpretation der Ergebnisse benutzt. Für die Auswertung wurde Microsoft Office Excel® Software Version 6.5 (Microsoft, California, USA), für die statistische Analyse die Software Origin Version 8.5 (OriginLab, Northampton, Northamptonshire, UK und Wellesley Hills, MA, USA) verwendet.

4. Ergebnisse

Die Ergebnisse können an dieser Stelle in drei Unterpunkte eingeteilt werden. Zuerst werden die Ergebnisse der Auswertung der ADC-Bilder vorgestellt, darauf folgend die der quantitativen T2-Sequenz und als drittes die Auswertung der T2*-gewichteten Bildgebung.

4.1. Auswertung der ADC-Bilder

4.1.1. Signalintensitäten

4.1.1.1. Mediane ADC-Werte der Versuchsreihe mit histologisch gesichertem Infarkt

Es wurde das Verhalten der ADC-Werte auf Läsionsseite im Vergleich zur Gegenseite nach Gefäßokklusion untersucht und folgende Zusammenhänge ermittelt:

Im Vergleich der Läsionsseite (ROI=IK) mit der Gegenseite (ROI=KIK) fand sich bei den medianen ADC-Werten über das gesamte MCAO Versuchstierkollektiv eine deutliche Signalminderung der Läsionsseite zum Messzeitpunkt 30/50 Minuten nach Okklusion des Gefäßes von $648 \pm 26 \cdot 10^{-6}$ mm²/s auf $346 \pm 66 \cdot 10^{-6}$ mm²/s (P<0,05) (siehe Tabelle 4; Abbildung 10).

Tabelle 4: Mediane ADC-Werte der gesamten histologisch gesicherten Infarkt Messreihe. Messungen (n=18) im Bereich des Infarktkernes (ROI= IK) und der kontralateralen Hemisphäre (ROI= KIK).

MR Stroke Gesamt	IK	KIK
$[10^{-6} \mathrm{mm^{2}/s}]$		
Praeocc	639	650
Postocc	346	648
Postrec	315	637

Bei den Werten der Gegenseite (ROI=KIK) kommt es beim Vergleich zwischen den einzelnen Messzeitpunkten zu keiner signifikanten Änderung der Werte bei einem Signifikanzniveau von P<0,05. Nach Rekanalisation der okkludierten MCA kommt es auf Läsionsseite im Bereich des Infarktkernes (ROI=IK) zu einem weiteren signifikanten Wertabfall von 346 ± $66 \cdot 10^{-6}$ mm²/s auf $315 \pm 43 \cdot 10^{-6}$ mm²/s (P<0,05) (Abbildung 10, Abbildung 12, Abbildung 13)



Abbildung 10: ADC-Medianwerte gesamtes MCAO Versuchstierkollektiv Infarktkern (ROI=IK).

Ergebnisse im Seitenvergleich mit der kontralateralen Hemisphäre (ROI= KIK), aufgeschlüsselt für die ROIs zu den Zeitpunkten Präokklusion ("Praeocc"), Postokklusion ("Postocc") und nach Rekanalisation ("Postrec"). Ergebnisse sind dargestellt als Medianwert \pm MD von 6-12 Mäusen/Gruppe. * p < 0,05 verglichen mit kontralateralem Wert.

Das SHAM-Versuchstierkollektiv wurde zu drei unterschiedlichen Messzeitpunkten gemessen, deren zeitlichen Abstände denen des Protokolls der Stroke Messreihen entsprachen. Die ADC-Werte der beiden Hemisphären im Vergleich zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten wiesen keine signifikante Änderung auf (P<0,05)(Abbildung 11). Dies zeigt, dass die Ursache für die ADC-Wertabfälle bei dem MCAO-Versuchstierkollektiv in dem Gefäßverschluss begründet lag und nicht das Resultat anderer metabolischer, anästhesistischer oder thermischer Prozesse war.



Abbildung 11: ADC-Medianwerte MR-Sham-Versuchstierkollektiv. Ergebnisse im Seitenvergleich mit der kontralateralen Hemisphäre, aufgeschlüsselt für die ROIs zu den Zeitpunkten Präokklusion ("Praeocc"), Postokklusion ("Postocc") und nach Rekanalisation ("Postrec"). Ergebnisse sind dargestellt als Medianwert ± MD von 6 Mäusen/Gruppe.

4.1.1.2. Histologisch gesicherter Infarkt: Vergleich MR 40 min und MR 60 min

Es wurden die ADC-Werte der unterschiedlichen Messreihen verglichen um den Einfluss der Okklusionsdauer zu ermitteln. Bei der Analyse der histologisch gesicherten Infarkte wird zwischen den Messreihen MR 40 min (n=6), MR 60 min (n=12) und der MR-SHAM (n=6) unterschieden (siehe Abbildung 4, Abbildung 5).

Messreihen [10 ⁻⁶ mm ² /s]	IK	IP	КІК	KIP
MR 40 min	349	352	656	635
MR 60 min	345	355	645	651
MR Sham	631	628	637	634

Tabelle 5: Mediane ADC-Werte der histologisch gesicherten Infarkt Messreihe post Okklusion.

 Tabelle 6: Mediane ADC-Werte der histologisch gesicherten Infarkt Messreihe post

 Rekanalisation.

Messreihen	IK	IP	KIK	KIP
$[10^{-6} \text{ mm}^2/\text{s}]$				
MR 40 min	345	621	625	641
MR 60 min	303	548	641	648
MR Sham	627	630	645	639

Die Messreihe MR 40 min wurde mit der MR 60 min verglichen. Bei MR 40 min wurde die MCA für 40 Minuten okkludiert und im Anschluss rekanalisiert. Bei MCAO-Versuchstierkollektiv MR 60 min betrug die Okklusionsdauer 60 Minuten mit anschließender Rekanalisation (siehe Abbildung 4, Abbildung 5). Die MR 40 min beinhaltet die Untersuchung von 6 Versuchstieren, die MR 60 min beinhaltet die Untersuchung von 12 Versuchstieren. Bei der Analyse wurden die ADC-Medianwerte ± MD zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten gemessen, jeweils Läsionsseite (ROI=IK; IP) und Gegenseite (ROI=KIK; KIP). Auf Läsionsseite wurden zwei ROIs gesetzt. Die erste ROI wurde in das Areal gelegt, das in der histologischen Aufarbeitung anschließend als Infarktkern (ROI=IK) klassifiziert wurde (siehe Abbildung 6). Die zweite ROI wurde auf der Läsionsseite in die Peripherie des Infarktareales (ROI=IP) positioniert. Diese beiden ROIs wurden symmetrisch zur Mittellinie des Zerebrums der Maus auf der Gegenseite eingezeichnet und zum Vergleich gemessen (siehe Abbildung 6). Die Messzeitpunkte lagen bei MR 40 min unmittelbar vor MCAO (Praeocc), 30 Minuten nach MCAO (Postocc) und zuletzt 60 Minuten nach Rekanalisation desselben Gefäßes (Postrec). MR 60 min unterschied sich durch den Messzeitpunkt Postocc (50 Minuten nach MCAO). In dieser Messreihe blieb die MCA somit 20 Minuten länger okkludiert. Dabei wurden im Vergleich der Läsionsseite zur vorhergehenden Baseline-Messung (Messzeitpunkt Praeocc) in der MR 60 min (ROI=IK) zu Messzeitpunkt Postocc (50 min) signifikant stärkere Wertminderungen (von 647 ± 28 · 10^{-6} mm²/s auf 345 ± 50 · 10^{-6} mm²/s auf 349 ± 97 · 10^{-6} mm²/s) (P<0,05). Dies spricht für einen stärkere ADC-Wertabfall bei steigender Okklusionsdauer.

Die Wertabfälle Postocc sind nach 30 Minuten/50 Minuten im Infarktkern (IK) sowie in der Peripherie des Infarktareales (IP) (jeweils symmetrisch im Vergleich zur Gegenseite) (KIK;KIP), in beiden Messreihen deutlich erkennbar und signifikant (P<0,05). Vor MCAO sind keine signifikanten Unterschiede der Werte zu messen, weder im Vergleich Infarktkern Läsionsseite vs. Gegenseite (ROI=IK; KIK) (siehe Abbildung 12, Abbildung 13) noch peripher des Infarktareales Läsionsseite vs. Gegenseite (ROI=IP;KIP) (P<0,05) (siehe Abbildung 14, Abbildung 15).


Abbildung 12: ADC-Medianwerte Messreihe 40 Minuten Okklusionszeit Infarktkern (ROI=IK).

Ergebnisse im Seitenvergleich mit der kontralateralen Hemisphäre (ROI=KIK), aufgeschlüsselt für die ROIs zu den Zeitpunkten Präokklusion ("Praeocc"), Postokklusion ("Postocc") und nach Rekanalisation ("Postrec"). Ergebnisse sind dargestellt als Medianwert \pm MD von 6 Mäusen/Gruppe. * p < 0,05 verglichen mit kontralateralem Wert.



Abbildung 13: ADC-Medianwerte Messreihe 60 Minuten Okklusionszeit Infarktkern (ROI=IK).

Ergebnisse im Seitenvergleich mit der kontralateralen Hemisphäre (ROI=KIK), aufgeschlüsselt für die ROIs zu den Zeitpunkten Präokklusion ("Praeocc"), Postokklusion ("Postocc") und nach Rekanalisation ("Postrec"). Ergebnisse sind dargestellt als Medianwert \pm MD von 6-12 Mäusen/Gruppe. * p < 0,05 verglichen mit kontralateralem Wert.



Abbildung 14: ADC-Medianwerte Messreihe 40 Minuten Okklusionszeit, Peripher des Infarktkerns (ROI=IP).

Ergebnisse im Seitenvergleich mit der kontralateralen Hemisphäre (ROI=KIP), aufgeschlüsselt für die ROIs zu den Zeitpunkten Präokklusion ("Praeocc"), Postokklusion ("Postocc") und nach Rekanalisation ("Postrec"). Ergebnisse sind dargestellt als Medianwert \pm MD von 6 Mäusen/Gruppe. * p < 0,05 verglichen mit kontralateralem Wert.



Abbildung 15: ADC-Medianwerte Messreihe 60 Minuten Okklusionszeit, Peripher des Infarktkerns (ROI=IP).

Ergebnisse im Seitenvergleich mit der kontralateralen Hemisphäre (ROI=KIP), aufgeschlüsselt für die ROIs zu den Zeitpunkten Präokklusion ("Praeocc"), Postokklusion ("Postocc") und nach Rekanalisation ("Postrec"). Ergebnisse sind dargestellt als Medianwert \pm MD von 6-12 Mäusen/Gruppe. * p < 0,05 verglichen mit kontralateralem Wert. † p < 0,05 bei Vergleich der Werte.

Bei der Untersuchung wurde nach Unterschieden der ADC-Werte im Infarktkern im Vergleich zu der Peripherie des Infarktareales gesucht. Es wurden dabei zwei signifikante Unterschiede in MR 60 min zum Messzeitpunkt ,Postrec' auf Läsionsseite festgestellt. Bei dem Vergleich zwischen der ROI=IK vs. ROI=IP wurde in der Peripherie des Infarktareales ein signifikanter Wertanstieg von 355 $\pm 26 \cdot 10^{-6}$ mm²/s auf 548 $\pm 31 \cdot 10^{-6}$ mm²/s gemessen, wohingegen im Infarktkern der ADC-Medianwert weiterhin von 345 $\pm 50 \cdot 10^{-6}$ mm²/s auf 303 $\pm 44 \cdot 10^{-6}$ mm²/s abfiel (P<0,05). Bei dem Vergleich mit MR 40 min ist der o.g. Wertwiederanstieg in IP zum Messzeitpunkt ,Postrec' bei der MR 40 min (von 352 $\pm 32 \cdot 10^{-6}$ mm²/s auf 621 $\pm 26 \cdot 10^{-6}$ mm²/s) signifikant stärker als bei der MR 60 min (P<0,05). Damit ist belegt, dass es in den peripheren Anteilen des ADC-Läsionsareales zu einem Wertwiederanstieg bis hin zur ADC-Wert-Normalisierung kommt.

4.1.2. DWI-Läsionsvolumina

Die Versuchsreihen und Analysen dieser Arbeit fokussieren sich auf die T2*-gewichtete MRT Sequenz. Auf den Zusammenhang zwischen Größe, Dynamik und Korrelation zwischen T2*gewichteten Läsionsvolumina und DWI-Läsionsvolumina wird im Kapitel ,Vergleich von T2*-Läsionsvolumina und DWI-Läsionsvolumina', eingegangen. Die übrigen Analysen des DWI-Läsionsvolumens sind in diesem Kapitel enthalten.

4.1.2.1. Vergleich zwischen ADC-Läsionsvolumina und histologischer Läsion

Das ADC-Läsionsvolumen wurde aus der DWI-Bildgebung berechnet und mit dem Volumen der TTC-Läsion verglichen. Hierzu wurden jeweils die ADC-Läsionsvolumina der einzelnen Mäuse zu den Messzeitpunkten 30 Minuten post MCAO (bei MR 40 min (N=6)) oder 50 Minuten post MCAO (bei MR 60 min (N=12)) sowie 60 Minuten nach Rekanalisation vermessen. Die Ergebnisse wurden mit dem Volumen der histologischen TTC-Läsion (farbloses Areal) verglichen.

Das initiale ADC-Läsionsvolumen war bei 15 von 18 Mäusen nach MCAO größer als das TTC-Läsionsvolumen (Mittelwert: $18,9 \pm 9,3\%$, P<0,05). In der Messung 60 Minuten nach Rekanalisation war bei 8 von 18 Mäusen das Volumen der TTC-Läsion größer als das ADC-Läsionsvolumen (Mittelwert: $14,9 \pm 3,3\%$, P<0,05). 8 dieser 10 Mäuse deren ADC-Läsionsvolumen größer als das der TTC-Läsion waren, stammten dabei aus der MR 60 min Gruppe, die übrigen zwei stammten aus der Gruppe mit kürzerer Okklusionszeit. Der Infarktkern der TTC-Läsion lag an ähnlicher Stelle wie der Abschnitt der ADC-Läsion mit den niedrigsten ADC-Werten. Im Vergleich mit der Histologie wurden nach Rekanalisation bei längerer Okklusionsdauer häufig größere ADC-Läsionen gefunden als bei kürzerer Okklusionsdauer.

4.2. Auswertung der quantitativen T2-gewichteten Sequenzen4.2.1. T2-Signalintensitäten

4.2.1.1. Läsionsseite vs. Gegenseite

Die Ergebnisse der Analyse der ROIs zeigten auf der Läsionsseite (ROI=IK) im Vergleich zu den ROIs der Gegenseite (ROI=KIK), dass es zu einem signifikanten Signalintensitätsanstieg von $68,3 \pm 1,3$ ms auf $76,7 \pm 3,1$ ms (P<0,05) bereits nach 32 Minuten post Okklusion auf der Läsionsseite kam. Die Analyse der arithmetischen Mittelwerte der T2-Relaxationswerte von MR 60 min zeigten dabei nach 52 Minuten ebenso einen signifikanten Signalintensitätsanstieg von $70,9 \pm 2,6$ ms auf $81,8 \pm 5,4$ ms (P<0,05) im Vergleich zur Gegenseite. Bei dem Vergleich der Messung nach 32 Minuten post MCAO (MR 40 min) und nach 52 Minuten post MCAO (MR 60 min) ist der Signalintensitätsanstieg nach 52 Minuten post MCAO um 3,1% höher als nach 32 Minuten, jedoch nicht als signifikant zu bewerten (P>0,05).

Des Weiteren war bei beiden Messreihen 62 Minuten nach erfolgter Rekanalisation ein weiterer signifikanter Anstieg der T2-Signalintensität auf Läsionsseite im Vergleich zur Gegenseite festzustellen. Die Messungen ergaben in MR 40 min einen Anstieg von $68,6 \pm 2,4$ ms auf $79,2 \pm 2,9$ ms (P<0,05) und in MR 60 min einen Anstieg von $70,6 \pm 3,6$ ms auf $88,8 \pm 5,0$ ms (P<0,05). Die Messwertdifferenz zwischen Läsionsseite und Gegenseite zum Messzeitpunkt Postrec der MR 60 min war dabei signifikant höher als die der MR 40 min (P<0,05) (siehe Abbildung 16, Abbildung 17). Damit bestätigte sich der Zusammenhang zwischen Zunahme der Okklusionsdauer und Verlängerung der T2-Relaxationszeit. Weiterhin zeigten die Messungen trotz Rekanalisation stetig ansteigende T2-Werte, die ebenso in Abhängigkeit zur Okklusionsdauer standen.

Bei der Untersuchung der SHAM-MR wurde eine Operation, jedoch keine MCAO durchgeführt. Die Messungen dienten der Kontrolle. Es wurde in diesen Fällen keine signifikanten Messwertdifferenzen der T2-Relaxationszeiten (P<0,05) zwischen Läsionsseite und Gegenseite, sowie im Vergleich der unterschiedlichen Messzeitpunkte gefunden (P<0,05) (siehe Abbildung 18).



Abbildung 16: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite (ROI=IK) und Gegenseite (ROI=KIK).

Messreihe MCA Okklusionszeit 40 Minuten.

Messzeitpunkte: vor ("Praeocc") MCAO, 32 Minuten nach MCAO ("Postocc") und 62 Minuten nach Rekanalisation ("Postrec"). Angaben: Mittelwert \pm SD. Anzahl ausgewerteter Versuchstiere N=6. * p < 0,05 verglichen mit kontralateralem Wert.



Abbildung 17: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite (ROI=IK) und Gegenseite (ROI=KIK).

Messreihe MCA Okklusionszeit 60 Minuten. Messzeitpunkt vor ("Praeocc") MCAO, 52 Minuten nach MCAO ("Postocc") und 62 Minuten nach Rekanalisation ("Postrec"). Angaben: Mittelwert \pm SD. Anzahl ausgewerteter Versuchstiere N=12. * p < 0,05 verglichen mit kontralateralem Wert.



Abbildung 18: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite und Gegenseite. Messreihe SHAM.

Messzeitpunkte vor MCAO ("Praeocc"), 52 Minuten nach MCAO ("Postocc") und 62 Minuten nach Rekanalisation ("Postrec"). Angaben: Mittelwert \pm SD. Anzahl ausgewerteter Versuchstiere N=6.

4.2.1.2.Läsionsseite vs. Eppendorfstandard

Durch die Versuchs-begleitende Auswertung der Eppendorfstandards konnten stabile. reproduzierbare Werte ermittelt werden, deren Schwankungen innerhalb des Signifikanzniveaus (P<0,05) blieben. Die Werte wurden verglichen mit den T2-Relaxationszeiten der Läsionsseite. Die Messung wurde im Infarktkern (ROI=IK) durchgeführt. Auch bei dieser Messung wurde unterschieden zwischen MR 40 min und MR 60 min, sowie zwischen den o.g. Messzeitpunkten Praeocc, Postocc und Postrec (siehe Abbildung 19, Abbildung 20). Der Vorteil dieser Auswertungsmethode lag darin, dass kontralaterale Perfusionsschwankungen oder Änderungen des Metabolismus durch die kontralaterale zerebrale Ischämie, die Beurteilung der Läsionsseite nicht verfälschten. Bei dem Vergleich der ROIs auf Läsionsseite vs. Eppendorfstandard zeigte sich, dass es zu einer signifikanten Relaxationszeit-Verlängerung von $60,3 \pm 1,6$ ms auf $76,7 \pm 3,1$ ms (P<0,05) nach 32 Minuten post Okklusion auf der Läsionsseite im Vergleich zum Eppendorfstandard kam (siehe Abbildung 19, Abbildung 20). Die Analyse der T2-Relaxationszeit-Mittelwerte von MR 60 min zeigte dabei nach 52 Minuten eine signifikante Verlängerung der Relaxationszeit der Läsionsseite (ROI=IK) von $61,1 \pm 3,7$ ms auf $81,8 \pm 5,4$ ms (P<0,05) im Vergleich zum Eppendorfstandard. Die Messung 52 Minuten post MCAO der MR 60 min war um 6,6% länger als die T2-Relaxationszeit 32 min post MCAO (Messzeitpunkt: Postocc) der MR 40 min und somit signifikant (P<0,05). Des Weiteren kam es in beiden Messreihen 62 Minuten nach erfolgter Rekanalisation auf Läsionsseite zu einem weiteren signifikanten Anstieg der T2-Relaxationszeit im Vergleich zum Eppendorfstandard in MR 40 min von $59,5 \pm 3,2$ ms auf $79,2 \pm 2,9$ ms (P<0,05) und in MR 60 min von $61,8 \pm 3,7$ ms auf $88,8 \pm 5,0$ ms (P<0,05). Die Messwertdifferenz zwischen Läsionsseite und Eppendorfstandard zum Messzeitpunkt Postrec der MR 60 min ist dabei signifikant höher als die der MR 40 min (P<0,05). Auch diese Ergebnisse bestätigen den Zusammenhang zwischen Okklusionsdauer und Verlängerung der T2-Relaxationszeit.



Abbildung 19: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite (ROI=IK) und Eppendorfstandard. Messreihe MCA Okklusionszeit 40 Minuten. Messzeitpunkte vor MCAO ("Praeocc"), 32 Minuten nach MCAO ("Postocc") und 62 Minuten nach Rekanalisation ("Postrec"). Angaben: Mittelwert \pm SD. Anzahl ausgewerteter Versuchstiere N=6. * p < 0,05 bei Vergleich der Werte.



Abbildung 20: Quantitative T2-Relaxationszeiten Mittelwertsunterschiede zwischen der Läsionsseite (ROI=IK) und Eppendorfstandard. Messreihe MCA Okklusionszeit 60 Minuten. Messzeitpunkte vor MCAO ("Praeocc"), 52 Minuten nach MCAO ("Postocc") und 62 Minuten nach Rekanalisation ("Postrec"). Angaben: Mittelwert \pm SD. Anzahl ausgewerteter Versuchstiere N=12. * p < 0,05 bei Vergleich der Werte.

4.3. Auswertung der T2*-gewichteten Sequenzen

4.3.1. T2*-Signalintensitäten Dynamik

4.3.1.1. Prä/Post MCA Okklusion

Die Baseline-Messung der T2*-gewichteten Sequenzen diente der Ermittlung von Referenzwerten, sowie dem Nachweis der Reproduzierbarkeit der gemessenen Signalintensitäten. Die Mäuse, bei denen anschließend eine MCAO durchgeführt wurde, wurden in zwei Gruppen mit verschiedenen Okklusionszeiten eingeteilt. Für die eine Gruppe der Messreihe MR 40 min (siehe Abbildung 4) betrug die Okklusionszeit 40 Minuten. 4 Minuten nach Okklusion der MCA wurden über 30 Minuten serielle T2*-gewichtete Aufnahmen akquiriert. Die zweite Gruppe MR 60 min (siehe Abbildung 5), unterschied sich in der Okklusionsdauer von 60 Minuten. Dabei wurden über 50 Minuten serielle T2*-gewichtete Aufnahmen akquiriert. Bei der Auswertung der T2*-gewichteten Signalintensitäten der Bilder die direkt nach MCAO akquiriert wurden, kam es zu einem Absinken des Quotienten der T2*-Werte Läsionsseite/Gegenseite in MR 40 min von 1.00 ± 0.01 auf 0.92 ± 0.03 (8.0%) (Abbildung 21a) und in MR 60 min von $1,00 \pm 0,01$ auf $0,93 \pm 0,04$ (7,0%) (ROI=IK) (Abb.21a) im Vergleich zu den gemessenen T2*-Werten vor MCAO. Dabei wurde die erste Aufnahme nach MCAO innerhalb von 4 Minuten akquiriert. In der Peripherie des Infarktareales (ROI=IP) sank der Quotient T2*-Wert Läsionsseite/Gegenseite um 5,0% (Abb.21c). Der Quotient des Infarktkernes (ROI=IK) sank signifikant stärker ab (P<0,05). Im Anschluss wurden jeweils Infarktkern (ROI=IK) und Peripherie des Infarktareales (ROI=IP) mit der Gegenseite (ROI=KIK; KIP) verglichen und mit dem ersten T2*-Wert post MCAO mittels Student's t-Test auf signifikante Abweichungen geprüft. Es fand sich keine weitere signifikante Signalintensitätsänderung in MR 40 min und MR 60 min nach MCAO und vor Rekanalisation (P<0,05).

4.3.1.2. Post MCA Rekanalisation

Im Anschluss an die MCAO wurde bei der MR 40 min nach 40 Minuten sowie bei der MR 60 min nach 60 Minuten manuell durch Rückzug des Fadens um 5 mm eine Rekanalisation durchgeführt. Nach Rekanalisation wurden in beiden Messreihen (MR 40 min/MR 60 min) serielle, dynamische T2*-gewichtete Bilder akquiriert. Es wurden ebenso wie bei der Analyse der Bilder post Okklusion ROIs im Infarktkern (IK) und in der Peripherie des Infarktareales (IP) sowie symmetrisch hiervon auf der Gegenseite (KIK; KIP) untersucht. Anhand der beiden Messreihen wurde das Verhalten der Signalintensitäten bei unterschiedlicher Okklusionsdauer (40 Minuten/ 60 Minuten) analysiert. Bei der Analyse des relativen T2*WI-Wertes (Läsionsseite/Gegenseite) des Infarktkernes (ROI=IK) kam es bei beiden Messreihen nach Rekanalisation zu einem Wiederanstieg der Signalintensität, bei Messreihe 40 min von $0,93 \pm 0,03$ auf $0,98 \pm 0,04$ (5.4%) (ROI=IK) (P<0,05), bei Messreihe 60 min von $0,90 \pm 0,2$ auf $0,94 \pm 0,02$ (4,4%) (P<0,05). Bei dem Vergleich der beiden Messreihen erwies sich der Wiederanstieg der Signalintensität in MR 40 min um 18,5% höher als in MR 60 min (P<0,05) (Abbildung 21b).

Im Vergleich zu den Messwerten des Infarktkernes (ROI=IK) zeigte sich ein signifikanter Anstieg des relativen T2*WI-Wertes (Läsionsseite/Gegenseite) in der Peripherie des Infarktareales (ROI=IP) von 0,91 \pm 0,04 auf 0,99 \pm 0,05 (8,8 \pm 4,5%, p=0,076) in MR 40 min und von 0,97 \pm 0,05 auf 1,04 \pm 0,05 (7,2%) in MR 60 min (P<0,05). Folglich war der Anstieg der Signalintensität in MR 40 min um 18,2% signifikant höher als in MR 60 min (P<0,05). Der Signalintensitätsanstieg war hingegen in beiden MR Gruppen in der Peripherie des Infarktareales (ROI=IP) signifikant höher als im Infarktkern (ROI=IK) (Abb.21a,b). Dabei ging der Signalintensitätsanstieg in ROI=IP über den normalisierten Signalintensitätswert (>1,00 \pm 0,01, p=0,104) hinaus. (Abb.21d)



Abbildung 21: T2*WI-<u>Signalintensitätsänderungen</u> während Ischämie (a;c) und nach Reperfusion (b;d) Relative T2*-WI Signalintensitäten als Quotient der T2*WI-Werte von Läsionsseite/Gegenseite. Werte der Messreihe 60 min Ischämiedauer (Dreieck schwarz) werden mit denen der MR 40 min Ischämiedauer (Kreis weiß) verglichen. ROIs: Infarktkern (ROI=IK) (a;b); Peripherie des Infarktareales (ROI=IP) (c;d); Anzahl ausgewerteter Versuchstiere: Messreihe 60 min N=12; Messreihe 40 min N=6;

4.3.1.3. Korrelation zwischen T2*-Signalintensitätsminderung und histologischem Läsionsvolumen

Zur Untersuchung der Hypothese, dass ein Zusammenhang zwischen der T2*-Signalintensität und dem Ausmaß der Läsion besteht, wurde nach zwei unterschiedlichen Vorgehensweisen verfahren:

- 1. Korrelation des histologischem Läsionsvolumens mit maximaler T2*-Absenkung
- 2. Korrelation des histologischem Läsionsvolumens mit medianer T2*-Absenkung und Dauer

Die Abschätzung des Ausmaßes der Korrelation erfolgte mittels Untersuchung des Korrelationskoeffizienten Pearson's r. Bei Korrelation des in TTC-Färbung berechneten Läsionsvolumens und des T2*-Wertes mit maximaler Absenkung post Okklusion wurde keine erhebliche Korrelation in MR 40 min (r=0,051; p=0,924) und in MR 60 min (r=0,029; p=0,933) gefunden. Bei Korrelation des medianen T2*-Signalintensitätswertes post Okklusion mit histologischem Läsionsvolumen waren ebenfalls keine erheblichen Korrelationen zu verzeichnen, weder in MR 40 min (r=0,215; p=0,682) noch in MR 60 min (r=0,300; p=0,370).

4.3.1.4. Korrelation zwischen T2*-Signalintensitätsminderung und ADC-Wert

	Pearson's r	p-Wert
Postocc 3 min	0,294	0,251
Postocc 30/50 min	0,256	0,321
Postrec 2 min	0,221	0,398
Postrec 60 min	0,297	0,247

Tabelle 7: Korrelation T2*-Signalintensitäten und ADC-Werte.

Messzeitpunkte: 3 Minuten nach (Postocc 3 min), 30/50 Minuten nach MCAO (Postocc 30/50 min), 2 Minuten nach (Postrec 2 min) und 60 Minuten (Postrec 60 min) nach Rekanalisation.

Zur genaueren Analyse der T2*-Signalintensitätsveränderungen wurden die T2*WI-Werte im Areal der Läsion mit denen der ADC-Läsion zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten korreliert. Dabei wurden T2*WI-Bilder 3 Minuten und 30 Minuten (in MR 40 min; 50 Minuten in MR 60 min) nach MCAO ausgewertet und mit den ADC-Werten 52 Minuten post MCAO verglichen. Hierbei wurden keine erheblichen Korrelationen gefunden ($r_{(Postocc3min)}=0,294$; p=0,251) ($r_{(Postocc30min)}=0,256$; p=0,321) (siehe Tabelle 7). Des Weiteren wurden T2*-Läsionsvolumina 2 Minuten und 60 Minuten post Rekanalisation vermessen und die T2*-Werte innerhalb der Läsion ermittelt. Diese wurden mit dem ADC-Läsionswert 62 Minuten post Rekanalisation korreliert. Auch hier wurde keine erhebliche Korrelation gefunden ($r_{(Postocc30min)}=0,221$; p=0,398) ($r_{(Postocc30min)}=0,297$; p=0,247) (siehe Tabelle 7).

4.3.2. T2*-Läsionsvolumina Dynamik

4.3.2.1. T2*Volumen Analyse: Schalenmodell

4.3.2.1.1. Prä/Post Okklusion

Die Baseline-Messung mit T2*-gewichteten Sequenzen diente der Ermittlung von Referenzwerten sowie dem Nachweis der Reproduzierbarkeit der gemessenen Signalintensitäten und Volumina. Die Mäuse, bei welchen anschließend eine MCAO durchgeführt wurde, wurden wie bei den übrigen Sequenzen schon beschrieben, in zwei Gruppen mit verschiedenen Okklusionszeiten eingeteilt. Wie in dem Kapitel ,Datenanalyse' beschrieben, wurden die Signalintensitäten unterschiedlichen ,bin'-Kategorien zugeordnet und im Anschluss das Wachstumsverhalten mittels 3D-Visualisierung dargestellt und analysiert. Dabei waren die Signalintensitäts-Quotienten aus Läsionsseite/Gegenseite <100%. Die Werte der ,bin'-Kategorien wurden auf drei übergeordnete Kategorien aufgeteilt. Kategorie ,Schale 1' beinhaltete die Areale mit dem größten Abfall der Signalintensität, deren Quotienten von 87,0% - 91,9% reichten (siehe Abbildung 22; rot, innere Schale). Die Signalintensitäten, deren Quotient aus Läsionsseite/Gegenseite zwischen den Werten 92,0% - 98,9% lagen, wurden Schale 2+3' (siehe Abbildung 22; gelb, äußere Schale) zugeordnet.



Abbildung 22: Schalenmodell: T2*-gewichtete Sequenz. Untersuchung der Signalintensitätsvolumina.

Rot=shell 1, Gelb=shell 2+3. Schale 1 : 87,0-91,9% (rot, innere Schale). Schale 2+3: 92,0-98,9% (gelb, äußere Schale)



Abbildung 23: Dynamische T2*-Läsionsvolumina innere Schale. T2*-Läsionsvolumina Schale 1 ± SD (Volumenberechnung: Läsionsseite/Gegenseite= 87,0%-91,9% (innere Schale)); MR 60 min Ischämiedauer (Dreieck schwarz) (N=12); MR 40 min Ischämiedauer (Kreis weiß) (N=6); (a) Messzeitpunkte post Okklusion; (b) Messzeitpunkte post Gefäß-Rekanalisation.

Bei der Untersuchung des Wachstumsverhaltens von Schale 1 wurde bei der Analyse wie o.g. die Okklusionsdauer berücksichtigt. In Messreihe MR 40 min kam es zu keiner signifikanten Volumenänderung der ,inneren Schale' der T2*WI-Läsion bis 30 Minuten nach MCAO (P<0,01) (Abb.23a). Dasselbe galt für MR 60 min, bei der die T2*WI-Sequenz bis 50 Minuten nach MCAO gemessen wurde (P<0,01) (Abb.23a). Es wurde kein signifikanter Unterschied der Volumensänderungsdynamiken zwischen MR 40 min und MR 60 min festgestellt. Die unterschiedlichen Ausgangsvolumina der beiden Messreihen sind durch die unterschiedlichen Größen der histologischen Infarktläsionen zu erklären.



Abbildung 24: Dynamische T2*-Läsionsvolumina äußere Schale. T2*-Läsionsvolumina äußere Schale ± SD (Volumenberechnung: Läsionsseite/Gegenseite= 92,0-98,9% (äußere Schale)); MR 60 min Ischämiedauer (Dreieck schwarz) (N=12); MR 40 min Ischämiedauer (Kreis weiß) (N=6); (c) Messzeitpunkte post Okklusion; (d) Messzeitpunkte post Gefäß-Rekanalisation.

Die Analyse des Wachstumsverhaltens der ,äußeren Schale' (Volumenberechnung: Läsionsseite/Gegenseite = 92,0-98,9% (äußere Schale)) hingegen zeigte in der Messreihe MR 40 min innerhalb von 30 Minuten post MCAO eine signifikante Volumenzunahme von 74,9 μ l auf 78,5 μ l (6,7%) auf (P<0,01) (Abb.24c). In MR 60 min kam es zu einer signifikanten Volumenzunahme von 81,3 μ l auf 91,2 μ l (12,3 ± 4,2%), gemessen über einen Zeitraum von 50 Minuten post MCAO (P<0,01) (Abb.24c). Somit war die Volumenzunahme in MR 60 min signifikant höher als in MR 40 min (P<0,01).

4.3.2.1.2. Post Rekanalisation

Im Anschluss an die MCAO wurde bei der MR 40 min nach 40 Minuten sowie bei der MR 60 min nach 60 Minuten manuell durch Rückzug des Fadens um 5 mm eine Rekanalisation durchgeführt und im Anschluss die T2*WI-Sequenz über 60 Minuten hinweg seriell dynamisch akquiriert. Auch hierbei wurde zwischen MR 40 min und MR 60 min unterschieden. Dabei war weder bei MR 40 min noch bei MR 60 min eine signifikante Änderung des Volumens der ,inneren' Schale' zu verzeichnen (P<0,01) (Abb.23b). Das Wachstumsverhalten der ,äußeren Schale' der T2*WI Läsion (Abb.24d) zeigte eine signifikante Volumenabnahme bei MR 40 min von 70,8 μ l auf 67,4 μ l (5,6%, P<0,01) im Zeitrahmen von 60 Minuten post Rekanalisation (Abb.24d). In der MR 60 min schrumpfte das Volumen von 87,6 μ l auf 80,2 μ l (9,1 \pm 2,5%, p=0,026) innerhalb von 60 Minuten post Rekanalisation (Abb.24d). Die unterschiedlichen Ausgangsvolumina haben, wie oben beschrieben, ihre Begründung in der unterschiedlichen Größe des histologischen Läsionsvolumens. Der direkte Vergleich der beiden Messreihen ergab einen signifikant stärkeren Abfall des absoluten Volumenwertes in MR 60 min als in MR 40 min (P<0,01).

4.3.2.2. Vergleich zwischen T2*-Läsionsvolumina und DWI-Läsionsvolumina

Nach Gefäßverschluss und vor Rekanalisation war das Volumen der innere Schale, deren T2*-Signalintensitätswerte 87,0-91,9% im Vergleich zur gegenüberliegenden Hemisphäre betrugen, in 17 von 18 Tieren kleiner als das Volumen der gesamten DWI-Läsion. Hingegen war die Summe der Volumina der inneren, mittleren und äußeren Schale, deren T2*-Signalintensitätswerte 87,0-98,9% der kontralateralen Hemisphäre betrugen, in 10 von 18 Versuchstieren größer als die gesamte DWI Läsion.

Die Analyse der T2*-Läsionsvolumina und DWI-Läsionsvolumina nach Wiedereröffnung des Gefäßes unterscheiden sich hiervon. Das Läsionsvolumen der innere Schale (T2*-Signalintensitätswerte 87,0-91,9% verglichen zur kontralateralen Hemisphäre) war nur noch in 13 von 18 Tieren kleiner als das Volumen der gesamten DWI-Läsion. Das Volumen der Summe der inneren, mittleren und äußeren Schale (T2*-Signalintensitätswerte 87,0-98,9% verglichen zur kontralateralen Hemisphäre) war in 14 von 18 Versuchstieren größer als die gesamte DWI-Läsion.

Somit kann die Aussage getroffen werden, dass in der Mehrzahl der Fälle (post MCAO 10 von 18 Versuchstieren; post Rekanalisation 14 von 18 Versuchstieren) die Summe der T2*-gewichtete Läsionsvolumina (innere + mittlere + äußere Schale) größer als die aller DWI-Läsionsvolumina waren. Das Gesamtvolumen der T2*WI-Läsion nimmt ebenso wie das ADC-Läsionsvolumen nach Gefäßrekanalisation ab.

4.3.2.3. Vergleich und Korrelation von T2*-Läsionsvolumina und histologischen Läsionsvolumina

Das T2*-Läsionsvolumen der inneren und äußeren Schale der einzelnen Mäuse wurde addiert und mit den zugehörigen TTC-Läsionsvolumina verglichen. Dabei wurden die T2*-Volumina der Zeitpunkte 30 Minuten nach MCAO, 2 Minuten und 60 Minuten nach Gefäß-Rekanalisation jeweils mit der Histologie verglichen. Das T2*-Läsionsvolumen war zu dem Zeitpunkt 30 Minuten vor MCAO in 16/18 Mäusen um 48,2% größer als das TTC-Läsionsvolumen (Abb.25) und korrelierte stark mit diesem ($r_{(30min post Okklusion)}=0,885$; p<0,05). Zu dem Messzeitpunkt 60 Minuten nach Gefäß-Rekanalisation war das T2*-Läsionsvolumen lediglich in 11/18 Mäusen größer als das histologische Läsionsvolumen (18,7%, P<0,05) (Abb.25). Das T2*-Läsionsvolumen korrelierte gut mit dem TTC-Läsionsvolumen ($r_{(60min post Rekanalisation)}=0,662$; p<0,05). Der Pearson's r Korrelationskoeffizient war 60 Minuten nach Rekanalisation geringer als 2 Minuten nach Rekanalisation ($r_{(2min post Rekanalisation)}=0,862$; p<0,05).

5. Diskussion

5.1. Einordnung

Ziel des Projektes ist die Gewinnung neuer Erkenntnisse im Hinblick auf den klinischen Einsatz der T2*WI Sequenz zur Schlaganfalldiagnostik. Es wurde untersucht, ob Rückschlüsse von T2*WI-Signalintensitäten und deren Dynamik auf das Stoffwechselverhalten des Gewebes in zeitlicher Abhängigkeit bei AIS gezogen werden können. Dabei steht die Abgrenzung von Infarktkern, Penumbra und oligämischer Zone im Zentrum dieser Studie. Die Dynamik der T2*WI-Signalintensitätsveränderungen und der Läsionsvolumina wurden hierzu mit anderen Sequenzen verglichen. Die Analyse der quantitativen T2 Sequenz bei früher AIS-Bildgebung lässt folgende Rückschlüsse zu:

Erste Anstiege der Signalintensität waren bereits 30 Minuten post MCAO auf der Läsionsseite gegenüber der Gegenseite zu messen. Mit zunehmender Okklusionsdauer ist ein stärkerer Signalintensitätsanstieg zu verzeichnen. Nach Gefäßrekanalisation kommt es zu einem weiteren Signalintensitätsanstieg abhängig von der Okklusionsdauer. Dies bestätigt und erweitert die Erkenntnisse bisher durchgeführter Studien auf dem Gebiet der frühen AIS Diagnostik.³² Die frühen Anstiege der T2-Relaxationszeit sind pathophysiologisch bei AIS als vasogenes Ödem und dem Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke zu deuten.32 Weitere Studien haben ergeben, dass es innerhalb von 24 Stunden nach Gefäßokklusion zu einer weiteren T2-Relaxationszeitverlängerung kommt, erkennbar an weiter ansteigende Signalintensitäten auf den T2-Bildern.³² Siemonsen et al. (2009) haben bereits Korrelationen zwischen dem Zeitpunkt des Einsetzens der Symptomatik und T2- Werten (dif T2 = Differenz zwischen Läsionsseite und Gegenseite) bei ischämischem Schlaganfall gefunden.⁴¹ Es wurde von einem linearen Densitätsabfall in der cCT innerhalb der ersten sechs Stunden post ictus bei Patienten berichtet.⁴² Venkatesan et al. (2000) beobachteten einen Zusammenhang zwischen hyperintenser T2-Läsion und hypodenser CT -Läsion bei AIS.⁴³ Innerhalb der ersten vier Stunden eines zerebralen ischämischen Infarktes zeigte die Wasserzunahme einen linearen Zusammenhang mit dem mittels MRT geschätzten Wassergehalt.^{44,45} Höhn-Berlage et al. (1995) erkannten eine kontinuierliche Zunahme der T2- Signalintensitätswerte auf Läsionsseite nach MCAO in Ratten.⁴⁶ Aus den o.g. Beobachtungen wird vermutet, dass T2-Relaxationszeiten Rückschlüsse über das Alter der Läsion im AIS ermöglichen, auch wenn der Zeitpunkt des Symptombeginns unbekannt ist.⁴¹ Zur genaueren Analyse des Verhältnisses von T2-Relaxationszeit zum Zeitpunkt des ischämischen zerebralen Infarktes bedarf es weiterer experimenteller Untersuchungen. Die MCAO im Mausmodell ist dafür besonders geeignet, da der Zeitpunkt der

Gefäßokklusion exakt bestimmt werden kann und den direkten Vergleich mit quantitativen T2-Werten ermöglicht. Das Verfahren ist standardisiert und reproduzierbar, die Schädelkalotte des Versuchstieres muss hierbei nicht eröffnet werden und es können neben den permanenten zerebralen Ischämien auch transiente zerebrale Ischämien untersucht werden. Da eine Rekanalisation durch manuellen Rückzug des okkludierenden Fadens mit hoher Wahrscheinlichkeit erfolgreich ist und es somit im Tiermodell verlässlich zur Wiedereröffnung des Gefäßes kommt, gibt es derzeit keine nennenswerten Alternativen zu dem bei dieser Studie verwendetem Okklusionsverfahren. Zu zerebralen Hämorrhagien kam es bei vier Versuchstieren, wie histologisch erwiesen wurde. Diese Versuchstiere wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Um das Ziel der Untersuchung der ADC-Bilder zu erklären, wird an dieser Stelle auf das bisher klinisch angewandte diagnostische Verfahren bei AIS und dessen Fehlerquellen eingegangen:

Als Penumbra wird das Gewebe bei einem ischämischen zerebralen Schlaganfall bezeichnet, das reversibel geschädigt ist.⁴⁷ Um den therapeutischen Erfolg - das positive Outcome - zu optimieren, gilt es, die Ausdehnung dieses Areales möglichst präzise zu ermitteln. Bisher diente das Mismatch-Konzept diesem Zweck, bei dem jenes Gewebe als Penumbra gedeutet wurde, welches perfusionsgestört aber nicht diffusionsgestört war. Die perfusionsgestörte Zone umfasst jedoch auch oligämisches Gewebe und die diffusionsgestörte Zone auch Anteile der Penumbra.⁴⁸ Dadurch kommt es bei der Abschätzung der Penumbra-Ausdehnung zu Ungenauigkeiten, da das oligämische Gebiet nicht zu dem ,tissue at risk' gezählt wird. Das Mismatch-Konzept galt als hilfreich bei der Patientenselektion für die Thrombolysetherapie^{26,48,49}, jedoch sollten Patienten ohne Mismatch bedingt durch die o.g. Unregelmäßigkeiten bei Penumbra-Abschätzung nicht kategorisch ausgeschlossen werden. Ein Teil dieses Projektes war die Analyse der DWI MR-Bildgebung. Aus diesen Ergebnissen wurde der "apparent diffusion coefficient" (ADC-Wert) berechnet, der den Grad der Diffusionsstörung quantifiziert.^{48,50}

Die diffusionsgewichtete Bildgebung stellt die Bewegung von Wasserprotonen dar. Auf molekularer Ebene findet beim ischämischen zerebralen Infarkt ein Ausfall der ATP-abhängigen Ionenpumpen statt. Es folgt die Depolarisation der Zellmembran, die wiederum zu einer vermehrten Bewegung extrazellulären Wassers nach intrazellulär führt. Die Folge ist eine verminderte Diffusion in den extrazellulären Raum.^{7,8} Dieser Vorgang führt erwiesener Maßen zu einem Signalintensitätsanstieg der diffusionsgewichteten Bildgebung.⁵¹ Der Grad der Diffusionsabschwächung kann dabei aus dem ADC-Wert abgeleitet und quantifiziert werden. Bei einem ischämischen Geschehen kommt es hierbei zu einer Minderung des ADC-Wertes.⁵⁰ Marks et al. (1999) stellten die Hypothese auf, dass ein Zusammenhang zwischen Wiederanstieg der ADC-Werte und einer Reperfusion besteht.⁵²

Kidwell et al. (2000) vermuteten den Rückgang der mittels MR detektierten DWI-Läsion bei AIS durch frühzeitige Gefäßrekanalisation.⁵³ Dies wurde bereits in experimentellen Tiermodellen überprüft.⁵⁴⁻⁵⁷ Es ergaben sich Zusammenhänge zwischen dem Ausmaß des ADC-Wertabfalles und der Dauer sowie der Ausdehnung des Infarktes.⁵⁶

Mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit galt es bisherige Studien, die am Patienten oder im reversiblen MCAO Kleintiermodell durchgeführt wurden, zu verifizieren und zu erweitern. Die Aussagen welche in diesem Projekt über ADC-Bildgebung aufgestellt und belegt wurden, zeigen, ein Zusammenhang besteht, sowohl zwischen Okklusionsdauer und Stärke des dass Signalintensitätsabfalles, als auch zwischen dem Verhalten des Infarktzentrums und der Peripherie des Infarktareales. Im Infarktkern kommt es trotz Rekanalisation zu einem weiteren Signalintensitätsabfall. Je länger die Okklusionsdauer besteht desto stärker ist der Abfall.⁵⁸ In der Peripherie des Infarktareales hingegen kommt es zu einem Signalintensitätsanstieg, der sich mit zunehmender Okklusionsdauer schwächer ausgeprägt darstellt. Erkenntnisse dieser Arbeit, die in Bezug auf das Verhalten der ADC-Werte bei frühem AIS gewonnen wurden, gehen mit denen bisheriger Studien im Mausmodell einher,⁵⁷ wie z.B. das regional unterschiedliche Verhalten der ADC-Werte nach Rekanalisation und somit nach Reperfusion des Gefäßes.⁵⁸⁻⁶⁰ Mitursächlich hierfür könnte ein heterogener Blutfluss bei MCAO und Reperfusion sein.58,59 Die signifikanten ADC-Wertunterschiede zwischen Infarktkern und Peripherie des Infarktareales sowie deren unterschiedliches Verhalten nach Rekanalisation lässt darauf schließen, dass ADC-Läsionen Gewebe enthalten, das reversibel geschädigt ist.⁴⁸ Der Wiederanstieg der ADC-Werte in der Peripherie des Infarktareales gibt Anlass zu der Annahme, dass hier Abschnitte der Penumbra im ADC-Läsionsareal enthalten sind. Diese Annahme kombiniert mit der Tatsache, dass PWI-Bildgebung oft Abschnitte der oligämischen Zone enthält⁶¹, weist auf die o.g. Ungenauigkeit der Penumbra-Abschätzung durch das PWI/DWI-Mismatch hin. Des Weiteren wurde in diesem Experiment die Abhängigkeit von Okklusionsdauer der MCAO und ADC-Wertabfall bestätigt. Beim Vergleich von ADC-Läsionsvolumen mit histologischem Läsionsvolumen war das ADC-Läsionsvolumen in 15 von 18 Versuchstieren größer als das TTC-Läsionsvolumen vor Rekanalisation. Nach früher Rekanalisation war dies in 10 von 18 Tieren der Fall. Diese Ergebnisse ergänzen die von Xue et al. aufgestellte These, dass es, bedingt durch sekundäres Versagen der Energieträger ATP und somit durch verzögerten Verlust der Gewebevitalität, erst nach Stunden zu einem erneuten Wachstum der ADC-Läsion kommt.¹⁴ Unmittelbar nach Reperfusion kommt es hingegen in großen Abschnitten der ADC-Läsion zu einer Normalisierung der ADC-Werte. Hieraus lässt sich folgern, dass die DWI-Bildgebung wichtige Information bzgl. des Infarktes liefert, jedoch das PWI/DWI-Mismatch-Konzept trotz bisherigem klinischen Gebrauch und Nutzen^{26,49} nicht ausreichend ist im Hinblick auf

die Beurteilung der Penumbra. Bei der Korrelation von histologischem Läsionsvolumen und ADC-Signalintensität wurde zwischen den ADC-Werten zweier Messzeitpunkte unterschieden. Dabei wurde eine gute negative Korrelation zu dem Messzeitpunkt nach Okklusion und vor Rekanalisation gefunden. Nach Rekanalisation wurde keine erhebliche Korrelation festgestellt. Diese Daten könnten auf einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Läsion und dem ADC-Signalintensitätsabfall der Läsion vor Rekanalisation hinweisen.⁶² Eine Erklärung für die Abnahme der Korrelation nach Rekanalisation liefern vorherige Untersuchungen, in denen eine initiale Normalisierung der ADC-Werte, d.h. eine Verkleinerung des ADC-Läsionsvolumens, erfolgte, es aber nach 24 Stunden zu einem erneuten Läsionsvolumenanstieg kam.^{14,59} Der erneute ADC-Wertabfall wird als ein verzögerter sekundärer Energieträgerverlust interpretiert, der zu einer Dissipation des zellulären Ionengradienten führt.^{59,63} Zytotoxisches Ödem und zelluläre Schwellung sind unmittelbare Folgen hiervon.⁵⁹ Es kann also zu einem verzögerten Verlust der Gewebsviabilität kommen, die unmittelbar nach Reperfusion mittels ADC-Map nicht detektierbar ist.¹⁴ Dennoch werden CBF-Abfälle ab einem Schwellenwert von 20% mittels DWI-Bildgebung früh detektiert und bieten somit hohe Sensitivität bei der Diagnostik des frühen zerebralen Infarktes.^{10,64,65} Diese Erkenntnisse machen die ADC-Bildgebung zu einem wichtigen und unerlässlichen Bestandteil der AIS Diagnostik.

Es werden weiterhin Anstrengungen unternommen die Bildgebung zu optimieren um Patienten bestmöglich für eine späte Thrombolyse auszuwählen, unter der Prämisse des größtmöglichen Nutzens bei kleinstmöglichem Risiko. Ein für die klinische Praxis vielversprechender Ansatz ist die Ermittlung der unterschiedlichen Sauerstoffextraktion von ischämischem und normalem Gewebe anhand der Analyse der T2*-Signalintensitäten. Grund zu dieser Annahme bieten die unterschiedlichen physikalischen Effekte und Konzentrationen des paramagnetischen Deoxyhämoglobins und des diamagnetischen Oxyhämoglobins der T2*-gewichteten Bildgebung in ischämischem Gewebe.²² Die T2*WI Sequenz bildet die Basis für den blood oxygen leveldependent' (BOLD-) Kontrast.¹⁸ Es wird vermutet, dass sich aus dieser Sequenz Rückschlüsse auf die Vitalität des Gewebes bei ischämischen Ereignissen ergeben.²⁸ Die Sequenz wird auch genutzt um hämodynamische Veränderungen zu detektieren.^{27,28} Der BOLD-Effekt kam z.B. bei funktioneller MRT-Bildgebung der Gehirnaktivierung als Antwort auf externe Stimulation zum tragen.⁶⁶ Mit Steigerung des CBFs steigt die Oxygenierungs-Rate des Gewebes.⁶⁷ Dies führt zu erhöhtem OxyHb-Gehalt, welcher zu T2*-Signalintensitätsanstieg führt.^{68,69} Bei der T2*gewichteten Sequenz wird das Verhältnis Oxyhämoglobin/Deoxyhämoglobin als metabolischer Biosensor verwendet um indirekt die "Oxygen extraction fraction" (OEF) des Gewebes zu ermitteln.²² Bei AIS kommt es innerhalb der Penumbra zur Erhöhung der OEF.⁷⁰ Es ist anzunehmen, dass es in den Arealen mit erhöhter OEF zu einem Signalintensitätsabfall der T2*-gewichteten

Sequenz kommt. Diese frühe serielle Dynamik bei AIS galt es in dieser Arbeit zu erfassen und zu analysieren. In vorangehenden experimentellen Arbeiten wurden bereits T2*-Signalintensitätsabfälle in ischämischen Tiermodellen als Konsequenz aus der Verminderung des CBF detektiert.^{71,72} Auch bei der Untersuchung von ischämischen zerebralen Infarkten bei Menschen wurde die auf T2*WI basierende BOLD-Messung als besserer Indikator zur Abschätzung der Penumbra eingestuft als die bisherigen Methoden.⁷³ Die These hierzu lautet, dass das vital bedrohte Gewebe der Penumbra zugeordnet werden kann und sich klar von dem oligämischen Gewebe und dem Infarktkern abgrenzen lässt.⁷³ In dem Areal, das als Penumbra definiert wird, wurden mittels PET Untersuchungen höhere OEF im Vergleich zu dem nicht-ischämischen Gewebe im Menschen gefunden.^{2,74} Der CBF war hierbei reduziert. Somit besteht die Annahme, dass die Penumbra mit der auf T2*-basierenden BOLD-Bildgebung exakter definiert werden kann als mit der bisherigen Methode des PWI/DWI-Mismatches.⁷³ Bei experimentellen Untersuchungen der T2*-gewichteten Sequenz bei zerebralem ischämischen Infarkt wurden Signalintensitätsminderungen in der Läsionshemisphäre, sowie Signalintensitätssteigerungen in der kontralateralen Hemisphäre gefunden.⁷⁵ Auch daraus lässt sich folgern, dass es sich bei dieser Sequenz um ein geeignetes bildgebendes Verfahren handelt, mit welchem pathophysiologische, metabolische Vorgänge bei AIS dargestellt werden können. Es gilt die Annahme, dass Nutzen (Volumen des zu rettenden vitalen Gewebes, positives funktionelles Outcome) und Risiko (z.B. zerebrale Hämorrhagie) einer späten i.v.-Thrombolyse (außerhalb des 4,5-Stunden Zeitfensters) besser abzuwägen sind, wenn die Größe des zu rettenden Gewebes (Penumbra) möglichst präzise, nicht-invasiv bestimmt werden kann.^{22,68} Die Gefahr der hämorrhagischen Transfomation bei einem ischämischen Infarkt steigt mit der Thrombolysetherapie und mit zunehmender Dauer des Gefässverschlußes.³⁵ Die Methode der Wahl muss im klinischen Alltag zeitlich effizient einsetzbar sein. Das Verfahren der T2*-gewichteten

In diesem Projekt konnten vorangehende Studien bzgl. des Verhaltens der T2*-Sequenz bei frühem AIS bestätigt und der aktuelle Kenntnisstand erweitert werden. Nach Okklusion wurde ein T2*-Signalintensitätsabfall um 7,0% (SD: 2,8%) bereits 4 Minuten nach MCAO detektiert. Der Signalintensitätsabfall nach MCAO war im Läsionszentrum signifikant stärker als in der Peripherie des Infarktareales zu verzeichnen. Dies bestätigt vorangehende Studien, die einen Unterschied zwischen den T2*-Signalintensitäten des Infarktkernes und der Penumbra/oligämischer Zone feststellten.⁷⁶ Eine mögliche Erklärung für diese Signalintensitäten-Verteilung innerhalb der T2*WI Läsion ist, dass es, wie bereits bei den ADC-Werten und bei BOLD-basierten MR Studien beschrieben, zu einer zwiebelschalenartigen Ausdehnung der sukzessive von zentral nach peripher steigenden Werte der hypointensen T2*-Läsion kommt.^{12,76} Die Sequenz ist sensitiv für

Sequenzen und der auf T2*-basierenden Sequenz erfüllt diese Anforderungen.

paramagnetisches DeoxyHb. Steigt der DeoxyHb-Gehalt, erzeugt der Suszeptibilitätseffekt ein nichteinheitliches magnetisches Feld und führt zu schneller Dephasierung von Protonen-Spins. Damit erklärt sich der in diesem Modell detektierten T2*WI-Signalintensitätsabfall.⁷⁷ Die mit der PET nachgewiesenen, um bis zu 50% erhöhten OEF in der Penumbra Region¹⁷ wird als Ursache für den erhöhten Anfall von DeoxyHb angenommen. Nach Rekanalisation konnten T2*WI-Signalintensitätssteigerungen in beiden Messreihen gefunden werden (Hypothese 1b). Die aufgestellte Arbeitshypothese 1b wurde mit diesen Ergebnissen verifiziert. Weiterhin lassen die Zusammenhang zwischen Okklusionsdauer Höhe Messungen einen und des Signalintensitätswiederanstieges vermuten. Eine längere Okklusionsdauer bewirkte einen geringeren Wiederanstieg der Signalintensität nach Rekanalisation (Hypothese 1c). Dies konnte sowohl im Infarktkern, als auch in der Peripherie des Infarktareales festgestellt werden. Eine Erklärung bzgl. des reaktiven Wiederanstieges der T2*WI-Werte, teils über die Ausgangswerte hinaus, bietet die reaktive Hyperämie.⁷⁸ ischämische Zusätzlich konnten post signifikant stärkere Signalintensitätsanstiege in der Peripherie des Infarktareales im Vergleich zu dem Infarktkern erfasst werden. Diese Beobachtungen stützen die These, dass das Verhalten der T2*-Signalintensitäten post Reperfusion in Infarktkern und Penumbra unterschiedlich ist.⁷⁶ Das TTC-Läsionsvolumen war in der Mehrzahl der Mäuse kleiner als das gesamte T2*-Läsionsvolumen. Somit konnte Arbeitshypothese 2a verifiziert werden (Hypothese 2a). Bei genauerer Betrachtung fällt auf, dass das TTC-Läsionsvolumen häufig größer als das T2*-Volumen der ,inneren Schale' war. Der Vergleich mit der Histologie bestätigt die Vermutung, dass es sich bei dem T2*-Läsionsareal mit den niedrigsten Signalintensitätswerten (beschrieben als ,innere Schale') um das Infarktzentrum handelt. Das gesamte T2*WI Läsionsvolumen hingegen beinhaltet laut Hypothese die Penumbra und ist bei einer Okklusionsdauer von 60 Minuten größer als das histologische Korrelat des endgültigen Infarktareals. Diese Beobachtung stützt die Aussage, dass die T2*WI-Läsion das ,tissue at risk' umfasst. Es wurden keine erheblichen Korrelationen zwischen dem maximalen T2*-Signalintensitätsabfall und dem zugehörigen Läsionsvolumen festgestellt. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde die Arbeitshypothese 2b verworfen (Hypothese 2b). Bei der Korrelation zwischen Läsionsvolumen und medianem Siganlintensitätswert konnte ebenso keine erhebliche Korrelation nachgewiesen werden. Bei der Analyse des DWI-Läsionsvolumens wurde festgestellt, dass nach MCAO in 8 von 18 Fällen die DWI-Läsion größer war als das gesamte T2*-Läsionsvolumen und größer war als das Volumen der inneren T2*-Schale. Nach Rekanalisation war es lediglich die Minderheit der Fälle in denen die DWI-Läsion größer als das gesamte T2*-Läsionsvolumen war. Mehrheitlich blieb die DWI-Läsion größer als das Volumen der inneren T2*-Schale (Hypothese 1a).

Nach dem Penumbra-Konzept reduziert sich das Volumen der Penumbra mit zunehmender Okklusionsdauer zugunsten des wachsenden Infarktkerns. Die äußeren Grenzen der Penumbra bleiben dabei konstant. Das Wachstum des Infarktkerns mit zunehmender Okklusionsdauer ist aus vorherigen Studien bekannt.^{2,3,48} Das T2*Läsionsvolumen nach Gefäßokklusion weist ein Volumenwachstum auf. Das T2*-Läsionswachstum sowie die Korrelation der T2*-Läsion mit dem Infarktkern geben Anhalt dafür, dass in der T2*-Läsion Anteile des Infarktkerns, der Penumbra und der oligämischen Areale enthalten sind. Die unterschiedlichen T2*-Signalintensitätszonen beschränken sich nicht ausschließlich auf das Areal der Penumbra. Zusammenfassend dient die T2*WI-Bildgebung nicht als alleiniger Prädiktor für die finale Infarktgröße oder das Ausmaß der Penumbra. Indizien dafür, dass die pathophysiologisch definierten Infarkt-Zonen durch die T2*basierte Bildgebung visualisiert und differenziert werden können sind jedoch die Detektion verschiedener T2*-Signalintensitätszonen, die unterschiedlich stark mit den pathophysiologischen Zonen korrelieren und die signifikanten T2*-Signalintensitätsunterschiede zwischen histologisch gesichertem Infarktkern und Penumbra. Zur genaueren Analyse der verschiedenen Signalintensitätszonen und ihrer Zugehörigkeit sollten weitere Versuche mit PWI und nuklearmedizinischen Verfahren erfolgen.

Die Studie unterstützt somit das Konzept, dass die auf T2*-basierende T2'-Sequenz ein Indikator bei der Beurteilung des Ausmaßes der unterschiedlichen pathophysiologischen Stadien bei zerebraler Ischämie ist. Die auf T2*-basierende Visualisierung der Penumbra gilt es weiter zu analysieren und mit dem bisher gebräuchlichen Mismatch-Konzept zu vergleichen .¹⁸ Geisler et al. stellten fest, dass T2'-Bilder eine bessere Abschätzung der Penumbra bieten als das TTP>ADC Mismatch-Konzept.⁷³ Dabei ist die zusätzliche Information der DWI-Sequenz und der ADC-Maps essentiell.⁷³ Bei der Korrelation von T2*WI-Signalintensitäten und ADC-Werten wurden in dieser Studie keine erheblichen Korrelationen gefunden (Hypothese 2c). Die Untersuchungen des Zusammenhanges zwischen T2*-Signalintensitätsänderung und Histologie zeigen, dass die ausschließliche Betrachtung der T2*-gewichteten Signalintensität keine suffizienten Daten zum Rückschluss auf die reine Infarktgröße oder den Zeitpunkt des Infarktgeschehens liefern, durchaus aber einen Beitrag zur Therapieplanung leisten können. Die Nachweise dieser Arbeit dienen somit der Optimierung des MR- Protokolls bei Verdacht auf AIS, der Reduzierung der Untersuchungsdauer, der Unterstützung bei der Entscheidung über das therapeutische Prozedere und somit einer Erhöhung der Chance auf den bestmöglichen Therapieerfolg.⁷⁷ Die Darstellung der Penumbra ist bei der Wahl des optimalen therapeutischen Vorgehens entscheidend. Die Betrachtung der Kombination von ADC-Werten und auf T2*-basierender T2'-Bildgebung in weiteren Studien könnte weitere Informationen zur

Penumbra-Abschätzung liefern und somit eine effizientere Behandlungsplanung ermöglichen. Es sollten weitere Versuche durchgeführt werden in denen die Penumbra jeweils mittels PWI/DWI-Mismatch⁷⁹ sowie mittels DWI/qT2'-Mismatch⁸⁰ abgeschätzt und mit dem histologischen Korrelat verglichen werden.⁸¹ Somit könnte der vermutete Vorteil der auf T2*-basierenden quantitativen T2'-Sequenz bei der Penumbra-Abschätzung detaillierter analysiert werden. Des Weiteren könnte nach Methoden gesucht werden, die eine eindeutige Zuordnung von oligämischem Gewebe und der Penumbra ermöglichen. Mit den Möglichkeiten die die qT2'-Sequenz bietet, könnte nicht-invasiv, ohne den Einsatz von Strahlung und Kontrastmittel eine Aussage über den Status der zerebralen Perfusion getroffen werden. Dazu sollten weitere Studien mit größeren Fallzahlen durchgeführt werden.⁸¹

5.2. Limitationen

Obwohl die Ergebnisse sehr vielversprechend in Hinsicht auf die klinische Unterstützung in Abschätzung des zu rettenden Gewebes bei AIS sind, existieren bestimmte Limitationen bzgl. der Aussagekraft dieser Sequenz. Es gibt eine Vielzahl von Faktoren die Einfluss auf das T2*WI-Signal haben. Hierzu zählen u.a. Änderungen des CBF, CBV und der oxidative Metabolismus.²² So ist es möglich, dass gemessene Signalintensitätsveränderungen durchaus anderen Ursachen als den vermuteten zuzuschreiben sind. Des Weiteren ist es wichtig zu bedenken, dass das in diesem Versuch angewandte Fadenokklusionsmodell Risiken bzgl. der Verfälschung des T2*WI-Signales birgt. Es wird vermutet, dass es je nach Position des Fadens, zu einem Restfluss des CBF kommen kann, bedingt durch die Existenz kleiner, von den lenticulo-striatalen Ästen der MCA ausgehenden Kollateralen. Dieser Einfluss würde zu einem suffizienten Metabolismus in dem Gewebe und somit trotz MCAO zu einer T2*-Signalintensitätssteigerung führen.⁸² Eine weitere Ursache für mögliche Fehlerquellen ist der Vergleich zwischen den MR-Sequenzen und der Histologie. Grund hierfür sind die unterschiedlichen Auflösungen der einzelnen Sequenzen sowie die unterschiedlichen Schichtdicken. Das Modell kann nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen werden. Es gab vorab keine normalen T2*WI-Werte in Mäusen, da es sich hierbei um keine quantitative Messung handelte.⁸¹ Bei der T2*WI-Sequenz waren die gemessenen Werte im Verhältnis zu den menschlichen Werten niedriger.^{29,83} Eine Erklärung hierfür könnten unterschiedliche Werte für graue und weiße Gehirnareale sein. Bei klinischen Studien wurden in der grauen Substanz niedrigere T2'-Werte gefunden als in den Hirnarealen mit weißer Substanz.²⁹ Eine Erklärung hierfür könnte der höhere Anteil grauer Hirnsubstanz bezogen auf das gesamte Hirnvolumen bei Mäusen sein.^{81,84} In

unserem Versuch wurde bei der Auswertung wegen kleiner Hirnvolumina und geringer Auflösung nicht zwischen weißer und grauer Substanz unterschieden.⁸¹

6. Zusammenfassung

Klinische Studien zeigen, dass lokale Änderungen der T2*WI Sequenz spezifischere Prädiktoren des Infarktwachstums darstellen als das TTP>ADC Mismatch-Konzept. Dies gab Anlass zu der Vermutung, dass die Aussagekraft der T2*WI Sequenzen von großem klinischem Wert bei der Wahl des optimalen therapeutischen Verfahrens sein kann. Ziel dieser Studie war es die Dynamik der Signalintensitäten sowie des Infarktwachstums der Sequenzen T2* und DWI näher zu analysieren und zu vergleichen. Hierzu wurde eine zwiebelschalenartige Ausdehnung des Infarktareals mit den niedrigsten T2*-Werten hypothetisiert. Unter experimentellen Bedingungen wurden 30 Mäuse i. p. anästhesiert. Nach der Baseline Messung von T2*, qT2 und DWI im 3T MRT wurde bei 12 Mäusen über 40 Minuten und bei 6 Mäusen über 60 Minuten mittels Fadenverschlußmodell eine MCAO durchgeführt. Vier Minuten nach MCAO wurden serielle T2*WI Aufnahmen sowie qT2 und DWI akquiriert. Erniedrigte Signalintensitäten markierten hierbei oligämisches Gewebe. T2*WI Signalintensitäten und Infarktvolumen wurden berechnet. Das endgültige Infarktvolumen wurde histologisch post mortem mittels TTC-Färbung quantifiziert. Bereits 4 Minuten nach MCAO war ein T2*-Signalintensitätsabfall um 7,0% (SD: 2,8 %) in der betroffenen Hemisphäre zu verzeichnen. Es kam zu keiner weiteren signifikanten Signalintensitätsminderung im Zentrum der T2*WI Läsion über die Dauer der MCAO. Eine kontinuierliche Volumenzunahme des T2*WI Läsionsvolumens war über die Dauer der MCAO festzustellen. Dabei fand das Volumenwachstum vor allem in den Regionen mit geringerem Signalintensitätsabfall statt. Das Volumen der Regionen mit einem gravierenden Signalintensitätsabfall blieb stabil über die gemessenen Zeitabschnitte, vor wie nach Rekanalisation. Das T2*Läsionsvolumen war in der Mehrzahl der Mäuse größer als das ADC-Läsionsvolumen. Die Ergebnisse zeigen ein Volumenwachstum in dem Infarktkern-umgebenden Areal in den ersten 50 Minuten nach MCAO und Volumenminderung nach Gefässrekanalisation. Die T2*-gewichtete Sequenz und hierauf basierende Sequenzen bieten die Möglichkeit nicht-invasiv zwischen unterschiedlichen pathophysiologischen Gewebsstadien zu differenzieren und somit eine Aussage über den Status der zerebralen Perfusion zu treffen. Um die qualitativen Unterschiede zwischen Infarktkern und Penumbra auch quantitativ differenzieren zu können bedarf es weiterer Studien mit größeren Fallzahlen.

7. Glossar

Abb.	Abbildung
ACA	Arteria Cerebri Anterior
ADC	Apparent Diffusion Coefficient
AIS	Akuter ischämischer Schlaganfall
BOLD	Blood oxygenation level dependent
CBF	Zerebraler Blutfluss
CBV	Zerebrales Blutvolumen
CCA	Arteria Carotis Communis
$CMRO_2$	Cerebral metabolic rate of oxygen
CT	Computertomographie
CCT	Cranielle Computertomographie
CTA	Computertomographische Angiographie zur Darstellung der Blutgefäße
DeoxyHb	Deoxyhämoglobin
DICOM	Digital Imaging and Communication in Medicine - Standard für
	den elektronischen Datenaustausch von medizinischen Bildern
DWI	Diffusionsgewichtete Aufnahme in der Kernspintomographie. Diese
	Untersuchungsmethode ermöglicht die sehr frühe Darstellung des irreversibel
	geschädigten Hirnareals (Infarktkern)
ECA	Arteria Carotis Externa
EPI	Echoplanare Bildgebung
f	Frequenz
HF	Hochfrequenzimpuls
ICA	Arteria Carotis Interna
I.aLyse	Intraarterielle Lyse. Die Verabreichung des gerinnungsaktiven
	(fibrinolytischen) Medikamentes erfolgt nach superselektiver Katheterisierung über
	einen Mikrokatheter direkt am Ort des Gefäßverschlusses.
IK	Infarktkern
INR	Internationaler Wert zur Kontrolle der Blutgerinnung unter Antikoagulation
<i>i. p</i> .	intraperitoneal
IP	Peripherie des Infarktareales
I.vLyse	Intravenöse Lyse. In diesem Fall wird das fibrinolytische Medikament intravenös z.B.
	in eine Armvene verabreicht.

Lakune Kleiner Gehirninfarkt, verursacht durch einen eher chronischen Verschluss einer sehr kleinen Gehirnarterie im Gegensatz zu den anderen embolisch bedingten Verschlüssen der größeren Hirnarterien.

MCA Arteria Cerebri Media

MCAO Okklusion der Arteria Cerebri Media

MD Mittlere absolute Abweichung bezüglich des Medians (mean deviation from the

median)

- Mismatch Befunddiskrepanz zwischen PWI und DWI. Das durchblutungsgestörte Hirnareal in der perfusionsgewichteten Aufnahme (MTT oder TTP) ist mehr als 20 Prozent größer als die Läsion in der diffusionsgewichteten Aufnahme. Diese Diskrepanz wird als Mismatch bezeichnet. Das perfusionsgestörte, aber noch nicht diffusionsgestörte Hirnareal ist nur funktionell (Zellstoffwechsel ist erhalten, die Funktion der Zelle jedoch gestört) geschädigt. Dieses Hirnareal in der Umgebung des irreversibel geschädigten Infarktkernes wird als Penumbra bezeichnet. Bei rechtzeitigem Therapiebeginn und erfolgreicher Wiedereröffnung des verschlossenen Gefäßes kann diese Penumbra vor dem Untergang bewahrt werden.
- MR Messreihe
- MRA Magnetresonanzangiographie
- MRT Magnetresonanztomographie
- *MTT* Mittlere Transitzeit
- *NIHSS* National Institute of Health Stroke Scale: 0 bis 36 Punkte, je höher die Punktzahl, desto schwerer die Folgen des Schlaganfalls.
- *o.ä.* oder ähnlichem
- *OEF* Oxygen extraction fraction
- o.g. oben genannt/en

OxyHb Oxyhämoglobin

- PET Positronen-Emissions-Tomographie
- PWI Perfusionsgewichtete Aufnahme in der Kernspintomographie. Diese Untersuchung ermöglicht die Darstellung des gesamten minderdurchbluteten (perfusionsgeminderten) Hirnareals.
- *ROI* Region of interest

rt-PA Rekombinanter Gewebe-Plasminogen Aktivator

- SAB Subarachnoidal Blutung
- *SD* Standardabweichung (*standard deviation of the mean*)

sogenannt
single-photon emissions-computed tomography
Echo-Zeit = Dephasierungszeit des Gewebes zwischen dem
Hochfrequenzimpuls und Beginn der Relaxierung
Time of flight
$Repetitions-Zeit = Relaxationszeit \ zwischen \ den \ Hochfrequenzimpulsen$
Time to peak
Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung
Volume of interest

8. Literaturverzeichnis

- Masuhr KF, Neumann M. Neurologie 6. Auflage (2007), Stuttgart: Georg Thieme Verlag, Duale Reihe.389-424.
- 2. Powers WJ, Zazulia AR. PET in Cerebrovascular Disease. *PET Clin.* Jan 1 2010;5(1):83106.
- **3.** Astrup J, Siesjo BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia the ischemic penumbra. *Stroke*. Nov-Dec 1981;12(6):723-725.
- Park JH, Ryoo S, Kim SJ, et al. Differential risk factors for lacunar stroke depending on the MRI (white and red) subtypes of microangiopathy. *PLoS One*. 2012;7(9):e44865.
- 5. Sun HS, Feng ZP. Neuroprotective role of ATP-sensitive potassium channels in cerebral ischemia. *Acta Pharmacol Sin.* Jan 2013;34(1):24-32.
- Arumugam TV, Chan SL, Jo DG, et al. Gamma secretase-mediated Notch signaling worsens brain damage and functional outcome in ischemic stroke. *Nat Med.* Jun 2006;12(6):621-623.
- **7.** Fiehler J, Foth M, Kucinski T, et al. Severe ADC decreases do not predict irreversible tissue damage in humans. *Stroke*. Jan 2002;33(1):79-86.
- 8. Hoehn-Berlage M, Norris DG, Kohno K, Mies G, Leibfritz D, Hossmann KA. Evolution of regional changes in apparent diffusion coefficient during focal ischemia of rat brain: the relationship of quantitative diffusion NMR imaging to reduction in cerebral blood flow and metabolic disturbances. *J Cereb Blood Flow Metab.* Nov 1995;15(6):1002-1011.
- Moseley ME, Cohen Y, Mintorovitch J, et al. Early detection of regional cerebral ischemia in cats: comparison of diffusion- and T2-weighted MRI and spectroscopy. *Magn Reson Med.* May 1990;14(2):330-346.
- 10. Busza AL, Allen KL, King MD, van Bruggen N, Williams SR, Gadian DG. Diffusion-weighted imaging studies of cerebral ischemia in gerbils. Potential relevance to energy failure. *Stroke*. Nov 1992;23(11):1602-1612.
- 11. An H, Ford AL, Vo K, Powers WJ, Lee JM, Lin W. Signal evolution and infarction risk for apparent diffusion coefficient lesions in acute ischemic stroke are both time- and perfusion-dependent. *Stroke*. May 2011;42(5):1276-1281.

- 12. Fiehler J, Knab R, Reichenbach JR, Fitzek C, Weiller C, Rother J. Apparent diffusion coefficient decreases and magnetic resonance imaging perfusion parameters are associated in ischemic tissue of acute stroke patients. *J Cereb Blood Flow Metab.* May 2001;21(5):577-584.
- **13.** Hossmann KA. Pathophysiological basis of translational stroke research. *Folia Neuropathol.* 2009;47(3):213-227.
- **14.** Xue R, Sawada M, Goto S, et al. Rapid three-dimensional diffusion MRI facilitates the study of acute stroke in mice. *Magn Reson Med.* Jul 2001;46(1):183-188.
- **15.** Baron JC. Perfusion thresholds in human cerebral ischemia: historical perspective and therapeutic implications. *Cerebrovasc Dis.* 2001;11 Suppl 1:2-8.
- 16. Roberts HC, Dillon WP, Furlan AJ, et al. Computed tomographic findings in patients undergoing intra-arterial thrombolysis for acute ischemic stroke due to middle cerebral artery occlusion: results from the PROACT II trial. *Stroke*. Jun 2002;33(6):1557-1565.
- **17.** Sobesky J, Zaro Weber O, Lehnhardt FG, et al. Does the mismatch match the penumbra? Magnetic resonance imaging and positron emission tomography in early ischemic stroke. *Stroke*. May 2005;36(5):980-985.
- Siemonsen S, Fitting T, Thomalla G, et al. T2' imaging predicts infarct growth beyond the acute diffusion-weighted imaging lesion in acute stroke. *Radiology*. Sep 2008;248(3):979-986.
- **19.** Weidner W, Hanafeewmarkham CH. Intracranial collateral circulation leptomeningeal and rete mirable anastomoses. *Neurology*. Jan 1965;15:39-48.
- 20. Liebeskind DS. Collateral circulation. *Stroke*. Sep 2003;34(9):2279-2284.
- Gibbs JM, Wise RJ, Leenders KL, Jones T. Evaluation of cerebral perfusion reserve in patients with carotid-artery occlusion. *Lancet.* Feb 11 1984;1(8372):310-314.
- 22. Santosh C, Brennan D, McCabe C, et al. Potential use of oxygen as a metabolic biosensor in combination with T2*-weighted MRI to define the ischemic penumbra. *J Cereb Blood Flow Metab.* Oct 2008;28(10):1742-1753.
- 23. Reiser M, Kuhn FP, Debus J. Radiologie, 2. Auflage (2006), Stuttgart: Georg Thieme Verlag.83-87; 578-583.
- Kucinski T. Unenhanced CT and acute stroke physiology. *Neuroimaging Clin N* Am. May 2005;15(2):397-407, xi-xii.

- **25.** Kucinski T, Koch C, Grzyska U, Freitag HJ, Kromer H, Zeumer H. The predictive value of early CT and angiography for fatal hemispheric swelling in acute stroke. *AJNR Am J Neuroradiol.* May 1998;19(5):839-846.
- 26. Rother J, Schellinger PD, Gass A, et al. Effect of intravenous thrombolysis on MRI parameters and functional outcome in acute stroke <6 hours. *Stroke*. Oct 2002;33(10):2438-2445.
- 27. Kauffmann G, Moser E, Sauer R. Radiologie, 2. Auflage (2001), München: Urban&Fischer Verlag.93-96; 102-118; 199-201.
- 28. Ono Y, Morikawa S, Inubushi T, Shimizu H, Yoshimoto T. T2*-weighted magnetic resonance imaging of cerebrovascular reactivity in rat reversible focal cerebral ischemia. *Brain Res.* Jan 9 1997;744(2):207-215.
- 29. Siemonsen S, Finsterbusch J, Matschke J, Lorenzen A, Ding XQ, Fiehler J. Agedependent normal values of T2* and T2' in brain parenchyma. AJNR Am J Neuroradiol. May 2008;29(5):950-955.
- 30. Read SJ, Hirano T, Abbott DF, et al. The fate of hypoxic tissue on 18Ffluoromisonidazole positron emission tomography after ischemic stroke. Ann Neurol. Aug 2000;48(2):228-235.
- **31.** Heiss WD, Huber M, Fink GR, et al. Progressive derangement of periinfarct viable tissue in ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* Mar 1992;12(2):193-203.
- **32.** Barber PA, Hoyte L, Kirk D, Foniok T, Buchan A, Tuor U. Early T1- and T2weighted MRI signatures of transient and permanent middle cerebral artery occlusion in a murine stroke model studied at 9.4T. *Neurosci Lett.* Nov 4 2005;388(1):54-59.
- **33.** Saver JL, Gornbein J, Grotta J, et al. Number needed to treat to benefit and to harm for intravenous tissue plasminogen activator therapy in the 3- to 4.5-hour window: joint outcome table analysis of the ECASS 3 trial. *Stroke*. Jul 2009;40(7):2433-2437.
- **34.** Roth JM. Recombinant tissue plasminogen activator for the treatment of acute ischemic stroke. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. Jul 2011;24(3):257-259.
- **35.** Adams HP, Jr., del Zoppo G, Alberts MJ, et al. Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in

Research Interdisciplinary Working Groups: The American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists. *Circulation*. May 22 2007;115(20):e478-534.

- 36. Hata R, Mies G, Wiessner C, et al. A reproducible model of middle cerebral artery occlusion in mice: hemodynamic, biochemical, and magnetic resonance imaging. J Cereb Blood Flow Metab. Apr 1998;18(4):367-375.
- 37. Miyazawa T, Tamura A, Fukui S, Hossmann KA. Effect of mild hypothermia on focal cerebral ischemia. Review of experimental studies. *Neurol Res.* Jul 2003;25(5):457-464.
- **38.** Capra, Williams. Neurogenetics at UT Health Science Center (1999); http://www.mbl.org/atlas170; Date: 01.12.2011.
- **39.** Leypoldt F, Choe CU, Gelderblom M, et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 transgenic mice are not protected from ischemic stroke. *PLoS One.* 2009;4(10):e7337.
- **40.** Fokert N, Säring D, Eisenbeis A, Leypoldt F, Fiehler J, Handels H. Experimental Assessment of In-farct Lesion Growth in Mice using Time Resolved T2* MR Image Sequences. *Bildverarbeitung für die Medizin 2010, Informatik aktuell, Aachen, Germany, Springer Verlag.* 2010;574:330-334.
- **41.** Siemonsen S, Mouridsen K, Holst B, et al. Quantitative t2 values predict time from symptom onset in acute stroke patients. *Stroke*. May 2009;40(5):1612-1616.
- **42.** Kucinski T, Vaterlein O, Glauche V, et al. Correlation of apparent diffusion coefficient and computed tomography density in acute ischemic stroke. *Stroke*. Jul 2002;33(7):1786-1791.
- **43.** Venkatesan R, Lin W, Gurleyik K, et al. Absolute measurements of water content using magnetic resonance imaging: preliminary findings in an in vivo focal ischemic rat model. *Magn Reson Med.* Jan 2000;43(1):146-150.
- **44.** Watanabe O, West CR, Bremer A. Experimental regional cerebral ischemia in the middle cerebral artery territory in primates. Part 2: Effects on brain water and electrolytes in the early phase of MCA stroke. *Stroke*. Jan-Feb 1977;8(1):71-76.
- **45.** Schuier FJ, Hossmann KA. Experimental brain infarcts in cats. II. Ischemic brain edema. *Stroke*. Nov-Dec 1980;11(6):593-601.
- **46.** Hoehn-Berlage M, Eis M, Back T, Kohno K, Yamashita K. Changes of relaxation times (T1, T2) and apparent diffusion coefficient after permanent middle cerebral

artery occlusion in the rat: temporal evolution, regional extent, and comparison with histology. *Magn Reson Med.* Dec 1995;34(6):824-834.

- **47.** Hakim AM, Evans AC, Berger L, et al. The effect of nimodipine on the evolution of human cerebral infarction studied by PET. *J Cereb Blood Flow Metab.* Aug 1989;9(4):523-534.
- **48.** Fiehler J, Kucinski T, Zeumer H. [Stroke MRI: pathophysiology, potential and perspectives]. *Rofo*. Mar 2004;176(3):313-323.
- **49.** Schellinger PD, Fiebach JB, Hacke W. Imaging-based decision making in thrombolytic therapy for ischemic stroke: present status. *Stroke*. Feb 2003;34(2):575-583.
- **50.** Heiland S, Sartor K. Magnetic resonance tomography in stroke--its methodological bases and clinical use. *Rofo.* Jul 1999;171(1):3-14.
- 51. van Dorsten FA, Hata R, Maeda K, et al. Diffusion- and perfusion-weighted MR imaging of transient focal cerebral ischaemia in mice. NMR Biomed. Dec 1999;12(8):525-534.
- 52. Marks MP, Tong DC, Beaulieu C, Albers GW, de Crespigny A, Moseley ME. Evaluation of early reperfusion and i.v. tPA therapy using diffusion- and perfusionweighted MRI. *Neurology*. Jun 10 1999;52(9):1792-1798.
- **53.** Kidwell CS, Saver JL, Mattiello J, et al. Thrombolytic reversal of acute human cerebral ischemic injury shown by diffusion/perfusion magnetic resonance imaging. *Ann Neurol.* Apr 2000;47(4):462-469.
- 54. D'Arceuil HE, de Crespigny AJ, Rother J, et al. Diffusion and perfusion magnetic resonance imaging of the evolution of hypoxic ischemic encephalopathy in the neonatal rabbit. *J Magn Reson Imaging*. Jul-Aug 1998;8(4):820-828.
- **55.** Li F, Silva MD, Liu KF, et al. Secondary decline in apparent diffusion coefficient and neurological outcomes after a short period of focal brain ischemia in rats. *Ann Neurol.* Aug 2000;48(2):236-244.
- 56. Neumann-Haefelin T, Kastrup A, de Crespigny A, et al. Serial MRI after transient focal cerebral ischemia in rats: dynamics of tissue injury, blood-brain barrier damage, and edema formation. *Stroke*. Aug 2000;31(8):1965-1972; discussion 1972-1963.
- 57. Miyasaka N, Kuroiwa T, Zhao FY, et al. Cerebral ischemic hypoxia: discrepancy between apparent diffusion coefficients and histologic changes in rats. *Radiology*. Apr 2000;215(1):199-204.

- **58.** van Lookeren Campagne M, Thomas GR, Thibodeaux H, et al. Secondary reduction in the apparent diffusion coefficient of water, increase in cerebral blood volume, and delayed neuronal death after middle cerebral artery occlusion and early reperfusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.* Dec 1999;19(12):1354-1364.
- **59.** Dijkhuizen RM, Knollema S, van der Worp HB, et al. Dynamics of cerebral tissue injury and perfusion after temporary hypoxia-ischemia in the rat: evidence for region-specific sensitivity and delayed damage. *Stroke*. Mar 1998;29(3):695-704.
- 60. Thornton JS, Ordidge RJ, Penrice J, et al. Temporal and anatomical variations of brain water apparent diffusion coefficient in perinatal cerebral hypoxic-ischemic injury: relationships to cerebral energy metabolism. *Magn Reson Med.* Jun 1998;39(6):920-927.
- **61.** Kucinski T, Naumann D, Knab R, et al. Tissue at risk is overestimated in perfusion-weighted imaging: MR imaging in acute stroke patients without vessel recanalization. *AJNR Am J Neuroradiol*. Apr 2005;26(4):815-819.
- **62.** Schaefer PW, Copen WA, Lev MH, Gonzalez RG. Diffusion-weighted imaging in acute stroke. *Magn Reson Imaging Clin N Am.* May 2006;14(2):141-168.
- **63.** Pulsinelli WA, Duffy TE. Regional energy balance in rat brain after transient forebrain ischemia. *J Neurochem.* May 1983;40(5):1500-1503.
- **64.** Kohno K, Hoehn-Berlage M, Mies G, Back T, Hossmann KA. Relationship between diffusion-weighted MR images, cerebral blood flow, and energy state in experimental brain infarction. *Magn Reson Imaging*. 1995;13(1):73-80.
- **65.** Mancuso A, Karibe H, Rooney WD, et al. Correlation of early reduction in the apparent diffusion coefficient of water with blood flow reduction during middle cerebral artery occlusion in rats. *Magn Reson Med.* Sep 1995;34(3):368-377.
- 66. Kwong KK, Belliveau JW, Chesler DA, et al. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jun 15 1992;89(12):5675-5679.
- **67.** Fox PT, Raichle ME. Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Feb 1986;83(4):1140-1144.
- 68. Ogawa S, Lee TM, Nayak AS, Glynn P. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Magn Reson Med.* Apr 1990;14(1):68-78.
- 69. Turner R, Le Bihan D, Moonen CT, Despres D, Frank J. Echo-planar time course MRI of cat brain oxygenation changes. *Magn Reson Med.* Nov 1991;22(1):159-166.
- 70. Heiss WD, Graf R, Wienhard K, et al. Dynamic penumbra demonstrated by sequential multitracer PET after middle cerebral artery occlusion in cats. J Cereb Blood Flow Metab. Nov 1994;14(6):892-902.
- Kavec M, Grohn OH, Kettunen MI, Silvennoinen MJ, Penttonen M, Kauppinen RA. Use of spin echo T(2) BOLD in assessment of cerebral misery perfusion at 1.5 T. *MAGMA*. Mar 2001;12(1):32-39.
- 72. Roussel SA, van Bruggen N, King MD, Gadian DG. Identification of collaterally perfused areas following focal cerebral ischemia in the rat by comparison of gradient echo and diffusion-weighted MRI. *J Cereb Blood Flow Metab.* Jul 1995;15(4):578-586.
- **73.** Geisler BS, Brandhoff F, Fiehler J, et al. Blood-oxygen-level-dependent MRI allows metabolic description of tissue at risk in acute stroke patients. *Stroke*. Jul 2006;37(7):1778-1784.
- 74. Furlan M, Marchal G, Viader F, Derlon JM, Baron JC. Spontaneous neurological recovery after stroke and the fate of the ischemic penumbra. *Ann Neurol.* Aug 1996;40(2):216-226.
- **75.** Dani KA, Santosh C, Brennan D, et al. T2*-weighted magnetic resonance imaging with hyperoxia in acute ischemic stroke. *Ann Neurol.* Jul 2010;68(1):37-47.
- 76. Zhang J, Chen YM, Zhang YT. Blood-oxygenation-level-dependent-(BOLD-) based R2' MRI study in monkey model of reversible middle cerebral artery occlusion. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:318346.
- 77. Rovira A, Orellana P, Alvarez-Sabin J, et al. Hyperacute ischemic stroke: middle cerebral artery susceptibility sign at echo-planar gradient-echo MR imaging. *Radiology*. Aug 2004;232(2):466-473.
- 78. van den Kerckhoff W, Hossmann KA, Hossmann V. No effect of prostacyclin on blood flow, regulation of blood flow and blood coagulation following global cerebral ischemia. *Stroke*. Sep-Oct 1983;14(5):724-730.
- **79.** Warach S, Dashe JF, Edelman RR. Clinical outcome in ischemic stroke predicted by early diffusion-weighted and perfusion magnetic resonance imaging: a preliminary analysis. *J Cereb Blood Flow Metab.* Jan 1996;16(1):53-59.

- Kidwell CS, Alger JR, Saver JL. Beyond mismatch: evolving paradigms in imaging the ischemic penumbra with multimodal magnetic resonance imaging. *Stroke*. Nov 2003;34(11):2729-2735.
- **81.** Jensen UR, Liu JR, Eschenfelder C, et al. The correlation between quantitative T2' and regional cerebral blood flow after acute brain ischemia in early reperfusion as demonstrated in a middle cerebral artery occlusion/reperfusion model of the rat. *J Neurosci Methods*. Mar 30 2009;178(1):55-58.
- **82.** Christoforidis GA, Rink C, Kontzialis MS, et al. An endovascular canine middle cerebral artery occlusion model for the study of leptomeningeal collateral recruitment. *Invest Radiol.* Jan 2011;46(1):34-40.
- **83.** Speck O, Ernst T, Chang L. Biexponential modeling of multigradient-echo MRI data of the brain. *Magn Reson Med.* Jun 2001;45(6):1116-1121.
- 84. Zhang K, Sejnowski TJ. A universal scaling law between gray matter and white matter of cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. May 9 2000;97(10):5621-5626.

9. Danksagung

Besonderer Dank gebührt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Jens Fiehler, der mir dieses Thema überlassen hat und durch seine stetige Unterstützung und Motivation diese Dissertation ermöglicht hat. Seine fachliche Forderung und wissenschaftliche Förderung haben mich an diesem Thema wachsen lassen, auch über die Dissertation hinaus.

Danken möchte ich auch Dr. Frank Leypoldt, dessen fachliche Unterstützung und interdisziplinäre Zusammenarbeit zu der Vollendung dieses Projektes geführt haben. Ebenso viel Dank gilt auch dem gesamten Team von PD Dr. Tim Magnus, das mich hilfsbereit angelernt und zu jeder Zeit kompetent, unterstützt hat.

Dr. Andrea Eisenbeis möchte ich für ihre Betreuung und Unterstützung bei dieser Arbeit danken. Sie hat mir viel Zeit gewidmet und stand jederzeit beratend zur Verfügung.

Den Abteilungen für Neuroradiologie und Neurologie sowie der interdisziplinären Stroke-Arbeitsgruppe möchte ich danken für die hervorragende Zusammenarbeit und fachliche Expertise.

Auf radiologischer Seite möchte ich v.a. Dipl. Phys. Michael Kaul danken, der mit seiner Erfahrung und viel Einsatz wesentlich zur Verwirklichung unseres Vorhabens beigetragen hat.

Des Weiteren bedanke ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden für ihren stetigen und unterstützenden Beistand.

Vielen Dank.

10. Lebenslauf

11. Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quelle und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Hamburg, den _____

Unterschrift