

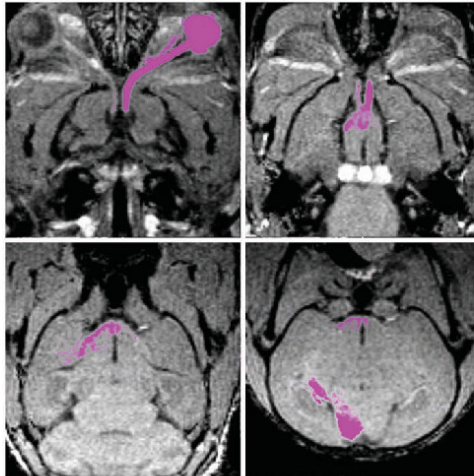


Oliver Natt (Autor)

Entwicklung von Verfahren für *in vivo* NMR-Untersuchungen des Gehirns der Maus

Oliver Natt

Entwicklung von Verfahren für *in vivo* NMR-Untersuchungen des Gehirns der Maus



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3407>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

1

Einleitung

Durch die in den vergangenen Jahren erzielten Fortschritte in der Neurogenetik haben sich neue Wege eröffnet, spezifische Aspekte der Entwicklung und Funktion des zentralen Nervensystems von Säugetieren zu untersuchen. Insbesondere wurde eine Vielzahl von Tiermodellen für unterschiedliche Erkrankungen des Menschen in Form mutanter Mausstämmen entwickelt. Demzufolge wächst der Bedarf an nichtinvasiven Verfahren zur Charakterisierung des intakten, lebenden Gehirns genetisch manipulierter Tiere, insbesondere transgener Mäuse. Techniken, die auf der nuklearmagnetischen Resonanz (NMR) basieren, sind ein vielversprechender Ansatz, entsprechende Fragestellungen zu bearbeiten.

Bisherige tierexperimentelle Untersuchungen mit der Magnetresonanztomographie (MRT) beschränken sich zumeist auf Studien an größeren Tieren wie beispielsweise Ratten oder auf *post mortem* Messungen, bei denen Organe entnommen und fixiert werden, um sie in einem Hochfeld-System bei Feldstärken von 7-11 Tesla zu untersuchen. Da viele neurowissenschaftliche Fragestellungen jedoch einerseits aufgrund vorhandener neurogenetischer Modelle an Mäusen bearbeitet werden und andererseits die mehrfache Untersuchung eines Tieres erfordern, besteht ein entsprechend großes Interesse an nichtinvasiven MRT-Verfahren für kleine Labortiere [1–3].

Die besondere technische Herausforderung der MRT am Gehirn der Maus besteht in der Kleinheit des Untersuchungsobjektes (typische Abmessungen eines Mäusehirns: Länge 14 mm, Breite 9 mm, Höhe 6 mm) und der Tatsache, daß zur Darstellung relevanter Hirnstrukturen wie beispielsweise des Hippocampus, der unter anderem für Gedächtnisleistungen verantwortlich ist, eine hohe räumliche Auflösung benötigt wird.

Die bisher in der Literatur angeführten MRT Studien am Gehirn von normalen beziehungsweise mutanten Mäusen lassen sich grob in zwei Kategorien – *post mortem* und *in vivo* – einteilen (einen guten Überblick über die verfügbare Literatur geben [1, 2, 4–6]).

Post mortem MRT Studien an operativ entfernten Gehirnen oder Hirnteilen werden heute bei Feldstärken von 9.4 T oder darüber durchgeführt [7–9] und erreichen beinahe mikroskopische räumliche Auflösungen von $15 \times 15 \times 15 \mu\text{m}^3$. Derartige Untersuchungen erlauben zwar dreidimensionale Rekonstruktionen des Gehirns oder ausgewählter Strukturen ohne die bei histologischen Verfahren auftretenden geometrischen Störungen wie Schrumpfung während der Fixierung oder Verzerrungen und Gewebeverlust beim Schneiden der Probe, aber ein wesentlicher Vorteil der MRT gegenüber histologischen Verfahren – die Möglichkeit, Tiere nichtinvasiv zu untersuchen – wird in diesen Studien nicht ausgenutzt. Insbesondere sind longitudinale Studien, also wiederholte Messungen während eines Krankheitsverlaufes oder unter therapeutischen Maßnahmen ausgeschlossen.

Im Gegensatz dazu wurde bisher nur von relativ wenigen *in vivo* MRT Studien des Gehirns der Maus berichtet. Entsprechende Arbeiten wurden bei zum Teil sehr unterschiedlichen Feldstärken durchgeführt und decken einen weiten Bereich von räumlichen Auflösungen ab, wie beispielsweise $98 \times 156 \times 1500 \mu\text{m}^3$ bei 11.7 T [10], $140 \times 140 \times 1200 \mu\text{m}^3$ bei 4.7 T [11], $156 \times 156 \times 1000 \mu\text{m}^3$ bei 14 T [12], $100 \times 200 \times 900 \mu\text{m}^3$ bei 2.39 T [13], $78 \times 156 \times 343 \mu\text{m}^3$ bei 7 T [14] und $150 \times 150 \times 150 \mu\text{m}^3$ bei 4.7 T [15]. Besonders erwähnenswert ist die Tatsache, daß die meisten Arbeiten eine hohe Auflösung in der Bildebene auf Kosten einer relativ großen Schichtdicke, also anisotrope Bildelemente, favorisieren.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Verfahren für *in vivo* MRT Untersuchungen des Gehirns der Maus bei einer relativ geringen Feldstärke von 2.35 T entwickelt. Dies umfaßte im einzelnen:

1. Entwicklung eines experimentellen Aufbaus zur Lagerung des Tieres im Magneten sowohl unter Berücksichtigung der physikalischen Anforderungen der entsprechenden Magnetresonanz-Verfahren als auch der physiologischen Anforderungen des Tieres.
2. Auswahl und Implementierung geeigneter Hochfrequenzspulen für anatomische Bildgebung und lokalisierte Protonen-NMR-Spektroskopie.
3. Entwicklung und Anpassung von Meßsequenzen zur anatomischen Bildgebung mit unterschiedlichen Kontrastmechanismen wie T_1 - und T_2 -Kontrast sowie Magnetisierungs-Transfer-Techniken.
4. Entwicklung von MRT Verfahren, die es erlauben, funktionelle Prozesse wie synaptische Aktivität oder axonalen Transport im Gehirn der Maus anzusprechen.

2

Grundlagen der NMR

In diesem Kapitel sollen die Grundlagen der magnetischen Kernspinresonanz behandelt werden soweit sie zum Verständnis der vorliegenden Arbeit notwendig sind. Es werden zunächst die physikalischen Grundgleichungen für das Verhalten eines Spinensembles in einem äußeren Magnetfeld dargestellt. Im Anschluß an einen Abschnitt über Gradientenfelder werden die in der Magnetresonanz-Tomographie und -Spektroskopie verwendeten Signalfamilien, die sogenannten Echos, vorgestellt. Der darauf folgende Abschnitt widmet sich der räumlichen Zuordnung dieser Signale, der sogenannten Ortskodierung, die erstmals 1973 von LAUTERBUR vorgeschlagen wurde [16].

2.1 Kernmagnetismus

Aufgrund des fermionischen Charakters von Neutron und Proton haben Atomkerne mit ungerader Massenzahl oder gerader Massenzahl aber ungerader Kernladungszahl eine von Null verschiedene Spinquantenzahl j . Der quantenmechanische Drehimpuls \mathbf{I} ist im allgemeinen über das gyromagnetische

Tab. 2.1: Eigenschaften einiger NMR-aktiver Kerne. Die hier angegebene relative Empfindlichkeit eines Kernes ist proportional zu $\varphi^3 j(j+1)$ und der natürlichen Häufigkeit des Kernes. Berücksichtigt man zusätzlich die unterschiedliche Eindringtiefe des Stromes in der Empfangsspule bei unterschiedlichen Frequenzen (Skineneffekt), so ergibt sich eine Proportionalität von $\varphi^{11/4} j(j+1)$ [17].

Kern	Spin j	φ / MHz T ⁻¹	Häufigkeit / %	Empfindlichkeit
¹ H	1/2	42.58	99.98	1.0
¹⁹ F	1/2	40.05	100	0.83
²³ Na	3/2	11.26	100	$9.25 \cdot 10^{-2}$
³¹ P	1/2	17.23	100	$6.63 \cdot 10^{-2}$
¹³ C	1/2	10.71	1.108	$1.76 \cdot 10^{-4}$

Verhältnis γ gemäß

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \mathbf{I} \quad (2.1)$$

mit einem magnetischen Moment $\boldsymbol{\mu}$ verknüpft. Häufig verwendet man anstelle von γ auch die Konstante

$$\varphi = \frac{\gamma}{2\pi} . \quad (2.2)$$

Die Zahlenwerte von φ für einige Kerne, die in der Magnetresonanz relevant sind, sind in Tabelle 2.1 aufgelistet. Dem Sprachgebrauch in der Magnetresonanz folgend wird der Begriff „Spin“ synonym für den Eigendrehimpuls eines Kernes als auch für den Kern selber verwendet.

2.2 Magnetisierung eines Spinensembles

Befindet sich ein Ensemble von Spins in einem statischen Magnetfeld der Flußdichte $\mathbf{B}_0 = B_0 \mathbf{e}_z$, so ist unter Vernachlässigung der Wechselwirkung der Spins untereinander der Hamilton-Operator gegeben durch

$$\mathcal{H} = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B}_0 = -\gamma \mathbf{I} \cdot \mathbf{B}_0 = -\gamma I_z B_0 \quad (2.3)$$

Die Eigenzustände dieses Hamilton-Operators werden durch die Magnetquantenzahl m charakterisiert, die bei gegebener Spinquantenzahl j genau die $2j+1$ Werte $-j, -j+1, \dots, j-1, j$ annehmen kann. Die z -Komponente des Drehimpulses im Eigenzustand mit der Quantenzahl m ist dabei durch $I_{z,m} = \hbar m$