

# INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Naturwissenschaftlich-Mathematischen

Gesamtfakultät

der

Ruprecht-Karls-Universität

Heidelberg

vorgelegt von

Dominik Ludwig, M.Sc.

geboren in Ellwangen (Jagst)

Tag der mündlichen Prüfung: 28.4.2021



Diffusions-Porenbildgebung und  
Austauschraten-Messungen  
mittels kernmagnetischer Resonanz

Gutachter: Prof. Dr. Peter Bachert  
Prof. Dr. Lothar Schad



## **Diffusions-Porenbildgebung und Austauschraten-Messungen mittels kernmagnetischer Resonanz**

Diffusionsmessungen mittels Magnetresonanztomographie ermöglichen tiefe Einblicke in die mikroskopische Zellstruktur und deren funktionale Eigenschaften. In dieser Arbeit wurde einerseits die Diffusions-Porenbildgebung weiterentwickelt, welche es prinzipiell ermöglicht nicht-invasiv histologieähnliche Parameter wie Zellgrößenverteilungen zu bestimmen. Andererseits wurden Techniken zur Ermittlung der Permeabilität von Zellmembranen mittels doppelter Diffusionswichtung untersucht.

Die Diffusions-Porenbildgebung mit ultrahohen Gradienten wurde erfolgreich an einem 14.1 T-Spektrometer implementiert. Dabei konnte die Porenfunktion von Glaskapillaren ( $d_{\text{innen}} = 10 - 25 \mu\text{m}$ ) bestimmt werden. Der neuentwickelte Filteransatz ermöglicht durch Unterdrückung unerwünschter Signalanteile eine direkte Messung der Porenfunktion in Gegenwart einer extraporalen Flüssigkeit. Ultrahohe Gradienten ( $G = 12.06 \text{ T/m}$ ) ermöglichten die Bestimmung der Porenfunktion von polymerisierten Hohlkugeln ( $d_{\text{außen}} = 3.3 \mu\text{m}$ ). Für üblicherweise vorherrschende Austauschraten ist die Porenbildgebung auch für permeable Poren möglich, sodass eine Übertragung auf Zellen erfolgsversprechend ist.

Im zweiten Teil wurden theoretische, experimentelle sowie Monte-Carlo-Simulations-basierte Analysen zu Austauschraten-Messungen (*Apparent Exchange Rate Mapping*) durchgeführt. Hierzu wurden unterschiedliche Geometrien, Packungsdichten, Permeabilitäts- und Größenverteilungen, Signal-zu-Rausch-Verhältnisse sowie Axon-Orientierungsdispersionsmodelle betrachtet. Mit Ausnahme von sehr schnellem Austausch ( $AXR \geq 20 - 30 \text{ s}^{-1}$ ) und sehr kleinen Packungsdichten gilt die erwartete Proportionalität zur Membranpermeabilität in allen betrachteten Systemen, sofern  $\text{SNR} > 150$  erreicht wird. Ohne weitere Kenntnisse über die Gewebestruktur ist keine absolute Quantifizierung der Zellmembranpermeabilität möglich. Permeabilitätsänderungen in Pathologien könnten jedoch prinzipiell detektiert werden.

## **Diffusion Pore Imaging and Exchange Measurements by means of Nuclear Magnetic Resonance**

Diffusion measurements by magnetic resonance yield deep insights into microscopic cell structures and their functional properties. In this thesis, diffusion pore imaging, which in principle allows the non-invasive determination of histology-like parameters like cell size distributions, was advanced. Furthermore, methods used for the measurement of cell permeabilities via double diffusion encoding were probed.

Diffusion pore imaging with ultra-high gradients was successfully implemented on a 14.1 T-spectrometer. It was possible to determine the pore space function of glass capillaries ( $d_{\text{innen}} = 10 - 25 \mu\text{m}$ ). The proposed filter approach enables the direct measurement of pore space functions in the presence of extraporal fluids by suppressing unwanted signal contributions. Using ultra-high gradients ( $G = 12.06 \text{ T/m}$ ) measuring the pore space function of polymerized hollow spheres ( $d_{\text{außen}} = 3.3 \mu\text{m}$ ) was possible. For typical exchange rates, pore imaging is possible for permeable membranes, enabling a translation to actual cells.

In the second part, Apparent Exchange Rate Mapping was analyzed theoretically, experimentally and using Monte-Carlo simulations involving different geometries, packing densities, permeability and size distributions, signal-to-noise-ratios and axon orientation dispersion models. Except for very fast exchange ( $AXR \geq 20 - 30 \text{ s}^{-1}$ ) and small packing densities, the expected connection to permeability is valid for  $\text{SNR} > 150$ . Without further knowledge about the tissue, absolute permeability quantification is not possible. However, changes in permeability due to pathologies could be detected in principal.



Nicht das Beginnen wird belohnt,  
sondern einzig und allein das Durchhalten.

*Katharina von Siena*



# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	v
Abbildungsverzeichnis	vii
Tabellenverzeichnis	ix
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2 Grundlagen</b>	<b>5</b>
2.1 Magnetische Kernresonanz . . . . .	5
2.2 Grundlagen der Magnetresonanzbildgebung . . . . .	11
2.2.1 Gradientenfelder . . . . .	11
2.3 Grundlagen der Diffusionsbildgebung . . . . .	13
2.3.1 Freie Diffusion . . . . .	13
2.3.2 Diffusionsbildgebung . . . . .	14
2.3.3 Apparent Diffusion Coefficient . . . . .	17
2.4 q-Raum-Bildgebung . . . . .	17
2.5 Porenbildgebung . . . . .	18
2.6 Austauschraten . . . . .	21
2.6.1 Echte Austauschrate . . . . .	21
2.6.2 Apparent Exchange Rate und Filter Exchange Imaging . . . . .	22
2.6.3 Herleitung der Austauschraten für Zellgrößen- und Permeabilitätsverteilungen . . . . .	24
<b>3 Material und Methoden</b>	<b>27</b>
3.1 Monte-Carlo-Simulations-Tool . . . . .	27
3.1.1 Geometrien . . . . .	28
3.1.2 Generalisierung von zweidimensionalen Simulationsdaten auf 3D und Axondispersion . . . . .	29
3.1.3 Berechnung von Signalwerten bei Kompartimenten mit unterschiedlichen $T_1$ -Relaxationszeiten . . . . .	31
3.1.4 Simulationsparameter . . . . .	32
3.1.5 Implementierung der FEXI-Sequenz am Spektrometer . . . . .	36
3.2 Verwendete Hardware . . . . .	36
3.2.1 Bruker Ultrashield AV600 . . . . .	36
3.3 Gradientenkalibrierungsphantom . . . . .	40

3.4	Glaskapillaren . . . . .	42
3.4.1	Fluorinert™FC-770 . . . . .	43
3.4.2	Kapillaren-Phantome . . . . .	43
3.4.3	Suszeptibilitätsanpassung . . . . .	43
3.5	Porenbildgebungs-Sequenzen . . . . .	45
3.6	Kompensation von Gradientenimperfektionen . . . . .	47
3.7	Polymerisierte Hohlkugeln . . . . .	49
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>51</b>
4.1	Porenbildgebung . . . . .	51
4.1.1	Charakterisierung der Gradienteneigenschaften . . . . .	51
4.1.2	Kapillarenphantome parallel zum Hauptmagnetfeld . . . . .	53
4.1.3	Suszeptibilitätseinflüsse bei Verwendung von Kapillarenphantomen orthogonal zum Hauptmagnetfeld . . . . .	57
4.1.4	Porenbildgebung mit ultrahohen Gradienten und orthogonal zum Hauptmagnetfeld ausgerichteten Kapillarenphantomen . . . . .	60
4.1.5	Kapillarenphantome mit extraporialem Fluid . . . . .	60
4.1.6	Polymerisierte Hohlkugeln als Porenphantome . . . . .	66
4.2	Einfluss der Membranpermeabilität auf die Porenfunktion . . . . .	67
4.2.1	Auswirkung der gewählten Filterlänge . . . . .	67
4.2.2	Einfluss der Gradientenlänge . . . . .	68
4.3	Monte-Carlo-Simulationstool . . . . .	70
4.3.1	Schrittweiten-Abhängigkeit der Austauschrate . . . . .	70
4.3.2	Verwendung von GPU-Beschleunigung zur Reduzierung der Rechenzeit . . . . .	71
4.3.3	Generalisierung von 2D-Simulationsdaten auf 3D . . . . .	72
4.4	Apparent Exchange Rate-Simulationen . . . . .	73
4.4.1	Vergleich der Fitmethoden zur Bestimmung der Apparent Exchange Rate . . . . .	73
4.4.2	Apparent Exchange Rate und die echte Austauschrate . . . . .	74
4.4.3	Geometrie- und Permeabilitätseinfluss auf die Apparent Exchange Rate . . . . .	76
4.4.4	Apparent Exchange Rate in Zellverteilungen und Axonmodellen . . . . .	78
4.4.5	Diskrepanz des Gleichgewichts-ADC ( $ADC_{eq}$ ) für Axonmodelle in der Gegenwart von Dispersion . . . . .	80
4.4.6	Einfluss des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses auf die Apparent Exchange Rate . . . . .	81
4.4.7	Abhängigkeit von intra- und extrazellulären Diffusionskoeffizienten . . . . .	85
4.4.8	Einfluss der Länge der Diffusionswichtungen . . . . .	85
4.4.9	Auswirkung unterschiedlicher $T_1$ Relaxationszeiten und Permeabilitätsverteilungen . . . . .	88
4.4.10	Apparent Exchange Rate im Hefezellen-Modell . . . . .	89
4.5	Apparent Exchange Rate Verifizierungsmessungen . . . . .	90
4.5.1	Apparent Exchange Rate in Hefezellen . . . . .	90

<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>93</b>
5.1	Porenbildgebung . . . . .	93
5.2	Monte-Carlo-Simulationstool . . . . .	97
5.3	Apparent Exchange Rate Imaging . . . . .	98
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>103</b>
<b>A</b>	<b>Anhang</b>	<b>I</b>
A.1	AXR-Gradientenrichtungen . . . . .	I
A.2	AXR-Messparameter . . . . .	III
<b>B</b>	<b>Wissenschaftliche Publikationen</b>	<b>V</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>VII</b>



# Abkürzungsverzeichnis

$T_1$ .....	Longitudinale Relaxationszeit
$T_2$ .....	Transversale Relaxationszeit
$T_2^*$ .....	Effektive transversale Relaxationszeit
$t_m$ .....	Mischzeit
$TE$ .....	Echozeit
$TR$ .....	Repetitionszeit ( <i>Repetition Time</i> )
ADC .....	<i>Apparent Diffusion Coefficient</i>
AXR .....	<i>Apparent Exchange Rate</i>
CPMG .....	Carr-Purcell-Meiboom-Gill
CT .....	Computertomographie
DKI .....	Diffusions-Kurtosis-Bildgebung
DTI .....	Diffusionstensor-Bildgebung
DWI .....	Diffusionsgewichtete Bildgebung
FEXI .....	<i>Filter Exchange Imaging</i>
FID .....	Freier Induktionszerfall ( <i>Free Induction Decay</i> )
fMRT .....	funktionelle Magnetresonanztomographie
FT .....	Fouriertransformation
FWHM .....	Halbwertsbreite ( <i>Full Width Half Maximum</i> )
MR .....	Magnetresonanz
MRA .....	Magnetresonanzangiographie
MRS .....	Magnetresonanzspektroskopie
MRT .....	Magnetresonanztomographie
PET .....	Positronen-Emissions-Tomographie
SE .....	Spinecho
SNR .....	Signal-zu-Rausch-Verhältnis ( <i>Signal to Noise Ratio</i> )
STEAM .....	<i>Stimulated Echo Acquisition Mode</i>



# Abbildungsverzeichnis

2.1	FID-Experiment. . . . .	10
2.2	Signalverlauf des Spinecho Experiments. . . . .	11
2.3	Ursache der Signalabnahme bei Diffusionswichtungen. . . . .	15
2.4	q-Raum-Bildgebung bei geschlossenen Poren. . . . .	18
2.5	Lang-Kurz-Gradientenschema zur Messung der Porenfunktion . . . . .	19
2.6	Schematische Darstellung der Austauschprozesse. . . . .	21
2.7	Schematische Darstellung der <i>Filter Exchange Imaging</i> (FEXI)-Sequenz. . . . .	23
3.1	Schematische Darstellung der elastischen Reflexion. . . . .	28
3.2	Schematische Darstellung der Simulations-Geometrien. . . . .	29
3.3	Wahrscheinlichkeitsverteilung für die Axondurchmesser $d$ . . . . .	31
3.4	Implementierung der FEXI-Sequenz am 600 MHz Spektrometer. . . . .	36
3.5	Bruker 600 Ultrashield™ Spektrometer. . . . .	37
3.6	Bruker diff30 Diffusion-Probe und BCU-20 Wasserkühlungseinheit . . . . .	37
3.7	Bruker TXO-Probe und TBI-Probe. . . . .	39
3.8	Gradientenkalibrierungsphantome. . . . .	40
3.9	Sequenz zur Bestimmung der Gradientenamplitude. . . . .	41
3.10	Schematischer Aufbau der Glaskapillaren. . . . .	42
3.11	Strukturformel von Fluorinert™ (FC-770) . . . . .	43
3.12	Aufbau der Porenphantome. . . . .	44
3.13	Schematische Darstellung der Spinecho-Lang-Kurz-Implementierung. . . . .	46
3.14	Schematische Darstellung der CPMG-Lang-Kurz-Implementierung. . . . .	47
3.15	Schematische Darstellung der CPMG-Lang-Kurz-Implementierung mit vorgeschaltetem Filter. . . . .	47
3.16	Kompensation von Gradientenimperfektionen. . . . .	48
3.17	Lichtmikroskop-Aufnahme der Hohlkugeln mit $d_{\text{außen}} = 3.3 \mu\text{m}$ . . . . .	50
4.1	Charakterisierung der verwendeten Probenköpfe. . . . .	52
4.2	Schematische Darstellung des xy-Porenphantoms. . . . .	54
4.3	Diffusions-Porenbildgebung mit $15 \mu\text{m}$ Glaskapillaren parallel zum Hauptmagnetfeld mit $G_{x,y,\text{max}} = 0.5 \text{ T/m}$ und Spinecho-Lang-Kurz. . . . .	55
4.4	Sequenzvergleich zwischen der Spinecho- und CPMG-Lang-kurz-Implementierung. . . . .	56
4.5	Schematische Darstellung des z-Porenphantoms. . . . .	58
4.6	Feldverschiebungen für orthogonal zum Hauptmagnetfeld ausgerichtete Glaskapillaren. . . . .	59
4.7	Signalverbreiterungen auf Grund der Suszeptibilitäts sprünge. . . . .	59

4.8	Porenbildgebung mit suszeptibilitätsangepassten, orthogonal orientierten, Kapillaren. . . . .	61
4.9	Porenbildgebung mit extraporaler Flüssigkeit: Extrapolationsansatz. . . .	63
4.10	Vergleich möglicher Filtermethoden für die Porenbildgebung. . . . .	64
4.11	Porenbildgebung mit extraporaler Flüssigkeit und Filterimplementierung bei Glaskapillaren mit einem Innendurchmesser von 10 $\mu\text{m}$ . . . . .	65
4.12	Porenbildgebung an polymerisierten Hohlkugeln ( $d_{\text{au\ss}en}$ ). . . . .	66
4.13	Abhängigkeit der Porenfunktion von der Diffusionszeit des Filters bei Poren mit permeabler Membran. . . . .	68
4.14	Abhängigkeit der Porenfunktion von der Länge des langen Gradienten $\delta_L$ für verschiedene Permeabilitätswerte bei Poren mit permeabler Membran. . . . .	69
4.15	Schrittweitenabhängigkeit der Austauschrate. . . . .	70
4.16	Vergleich der Simulationsdauer zwischen CPU- und GPU-Berechnung. . . .	71
4.17	Vergleich von echten 3D-Simulationen und generalisierten 3D-Datensätzen. . . . .	72
4.18	Vergleich zwischen AXR-Wert und echter Austauschrate . . . . .	75
4.19	AXR-Werte in Abhängigkeit der Membranpermeabilität für 3D-Axon(Hex)- und 3D-Fcc-Geometrien . . . . .	77
4.20	AXR-Werte in Zellgrößenverteilungen und in Axonmodellen. . . . .	79
4.21	Abweichung des Gleichgewichts-ADC ( $ADC_{\text{eq}}$ ) bei Dispersionsdatensätzen. . . . .	81
4.22	Exemplarisches FEXI- $b_f = b_d = 0$ -Bild zur Bestimmung des SNR. . . . .	82
4.23	AXR-Werte in Abhängigkeit des Signal-zu-Rausch Verhältnisses für verschiedene Geometrien. . . . .	84
4.24	AXR-Werte in Abhängigkeit von unterschiedlichen Kombinationen aus intra- und extrazellulären Diffusionskoeffizienten für unterschiedliche Permeabilitätswerte und Faserbündel. . . . .	86
4.25	AXR-Werte in Abhängigkeit der Länge des Filterblocks für verschiedene Geometrien und Permeabilitätswerte. . . . .	87
4.26	AXR-Werte in Abhängigkeit von unterschiedlichen intra- und extrazellulären $T_1$ -Relaxationszeiten und Permeabilitätsverteilungen. . . . .	88
4.27	Austauschraten im Hefezellen-Modell. . . . .	89
4.28	Hefe-Verifizierungsmessungen am 14.1 T Bruker Spektrometer . . . . .	91

# Tabellenverzeichnis

3.1	Simulationsparameter für die Apparent Exchange Rate-Simulationen. . . . .	35
3.2	Datenblatt der Diffusion-Probe. . . . .	38
3.3	Datenblatt der TXO-Probe. . . . .	39
3.4	Datenblatt der TBI-Probe. . . . .	39
3.5	Verwendete Glaskapillaren. . . . .	42
3.6	Suszeptibilitätswerte der verwendeten Materialien. . . . .	45
3.7	Verwendetes Phasecycling für die CPMG-Lang-Kurz-Sequenzen. . . . .	46
4.1	Bestimmung der Gradientenkonstanten für die Diffusion- und TBI-Probe. . . . .	53
4.2	Vergleich zwischen arithmetischer und geometrischer Signalmittelung. . . . .	74
4.3	Vergleich der AXR-Ergebnisse für verschiedene Hefekonzentrationen. . . . .	92
A.1	3 Gradientenrichtungen . . . . .	I
A.2	6 Gradientenrichtungen . . . . .	I
A.3	30 Gradientenrichtungen . . . . .	II
A.4	AXR-Messparameter der Hefe-Messungen am Spektrometer. . . . .	III



# 1 Einleitung

In tiefem Dunkel liegt die Welt,  
bis die Physik sie schwach erhellt.

*Ulrich Erckenbrecht, deutscher Schriftsteller*

Im Jahre 1945 haben die Arbeitsgruppen von Edward Mills Purcell [PTP46] und Felix Bloch [Blo46] unabhängig voneinander das Phänomen der Magnetischen-Kernspinresonanz experimentell nachweisen können. Für ihre Erkenntnisse erhielten sie 1952 den Nobelpreis in Physik.

Die Abhängigkeit der Resonanzfrequenz der Kernspins von ihrer chemischen Umgebung wurde einige Jahre später von den Gruppen von Knight, Proctor und Dickinson [Kni49; PY50; Dic50] nachgewiesen. Durch diese Abhängigkeit kann mit Hilfe der Magnetresonanztomographie (MRS) eine Analyse der Zusammensetzung von chemischen Proben durchgeführt werden, welche bis heute einen Goldstandard bei Messungen in der analytischen Chemie und der Biochemie darstellen.

Im Jahre 1973 konnte Lauterbur [Lau73] durch Anwendung von zusätzlichen Gradientenfeldern die Ortsinformation der Kernspins rekonstruieren. Diese Technik ist die Grundlage für die Magnetresonanztomographie (MRT). Durch Beschleunigung der Bildaufnahme durch Mansfield [Man+78] waren schließlich erste klinische Aufnahmen möglich. Im Gegensatz zur Computertomographie (CT) und Positronen-Emissions-Tomographie (PET) stellt die MRT eine Möglichkeit dar, nicht-invasiv, d.h. ohne Einsatz von ionisierender Strahlung oder radioaktiven Substanzen, Licht ins Dunkel zu bringen, um hier das Eingangszitat aufzugreifen. Zusätzlich besitzt die MRT im Vergleich zu den anderen Methoden einen deutlich höheren Weichteilkontrast. Neben der strukturellen  $T_1$ - und  $T_2$ -Bildgebung umfassen die Anwendungen heutzutage beispielsweise die Magnetresonanztomographie (MRA), die Diffusions-Tensor-Bildgebung (DTI) und funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT). 2003 wurde Lauterbur und Mansfield für ihre Errenschaften auf diesem Gebiet der Nobelpreis für Physiologie und Medizin verliehen.

Die Selbstdiffusion von Wasser stellt einen besonderen Parameter in der Magnetresonanztomographie dar. Die diffusionsgewichtete Bildgebung (DWI) kann dabei Einblicke in die mikroskopische Struktur von biologischem Gewebe oder porösen Medien liefern [Ste65; Sen04; Gre07; Jon10; Cal11]. Die DTI kann dazu verwendet werden, um die Verläufe von Fasersträngen in der weißen Nervensubstanz zu rekonstruieren [Mor+00; Sti+01; Jon10]. Zudem kann durch die Diffusions-Kurtosis-Bildgebung (DKI) die Heterogenität der Diffusionskoeffizienten im Gewebe untersucht werden [Jen+05; Kud+12; Ros+12]. Die Untersuchung des kapillaren Blutflusses [Le +86] ist ebenso möglich wie die Messung von

## 1 Einleitung

Größenverteilungen von Axonen auf Basis des zeitabhängigen Diffusions-Signal [AB05; Ass+08]. In der klinischen Routine wird die Diffusions-Bildgebung vor allem zur Detektion von Tumoren [CMR97; Tam+08; Roe+15] und in der Schlaganfall-Diagnostik [Mos+90; Muk+00; Hui03] verwendet, wobei hier zumeist nur der *Apparent Diffusion Coefficient* (ADC) gemessen wird.

Während der ADC nur indirekt mit der Struktur der Diffusionshindernisse verbunden ist und keine direkten Rückschlüsse auf deren Geometrie zulässt, erlaubt die sogenannte Diffusions-Porenbildgebung [Lau+11] die direkte Ermittlung der Form von geschlossenen Poren oder Zellen, welche mit einem MR-sichtbaren diffundierenden Medium gefüllt sind. Da hierbei alle Poren in einem Volumenelement zum Signal beitragen, bestehen die üblichen Limitationen durch das begrenzte Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) in sehr viel geringerem Umfang als bei der konventionellen MRT, sodass Auflösungen erreichbar sind, welche den Zellgrößen entsprechen. Neben Anwendung in der Industrie, etwa bei der Zementherstellung oder der Ölförderung ist letztlich die direkte und nicht-invasive Messung von Zellgrößenverteilungen prinzipiell denkbar. Somit könnten histologieähnlichen Parametern gewonnen werden. Die bisherigen Implementierungen der Porenbildgebung sind aber vor allem bei hyperpolarisiertem Xenon [Kud+13; Dem+17; Dem+18; Dem+19] sowie unter dem Ausschluss von extraporialem Wasser durchgeführt worden [Kom+11; HHG13; Her+15; HHG15]. Der Einfluss von extraporalen Flüssigkeiten und Einflüsse durch die Zellmembranpermeabilität auf die Porenfunktion wurden bisher nicht genauer betrachtet, was eine Anwendung auf echte Zellsysteme bisher ausschloss. Des Weiteren sind für die Durchführung der Porenbildgebung ultrahohe Gradienten von entscheidender Bedeutung, welche beispielsweise auf Spektrometern durch spezielle Diffusionsprobenköpfe erreichbar sind aber bisher nicht für diese Anwendung eingesetzt wurden.

Während die Permeabilität von Zellen für die Diffusions-Porenbildgebung einen potentiellen Störfaktor darstellt, kann sie interessante Einblicke zur Charakterisierung des Zellzustandes liefern. Die Permeabilität ändert sich dabei oftmals im Verlauf von Pathologien [Hu+06; Tai+08] und Tumoren [Las+16] und könnte auch im Zusammenhang mit der Genexpression stehen [Sch+17]. Der Austauschprozess kann dabei entweder direkt durch die Zellmembran [Reu12] oder über Aquaporine erfolgen [Agr+02; Cas05].

Neben der DWI können Messungen mit Gadolinium-Kontrastmitteln zur Untersuchung von Austauschprozessen verwendet werden. Durch modellbasierte Methoden können mit Hilfe der Zeitabhängigkeit des Diffusionskoeffizienten in restriktiven Strukturen [Pri+98; Suh+03] mit der Permeabilität verknüpfte Informationen gewonnen werden. Eine neuere Möglichkeit zur Bestimmung der Permeabilität basiert auf einer Messung mit doppelter Diffusionsrichtung [Mit95; She+10], welche stimulierte Echos [Hah50] zur Singalspeicherung verwendet. Diese Methode wird als *Filter Exchange Imaging* (FEXI) beziehungsweise *Apparent Exchange Rate Imaging* (AXR) bezeichnet [Las+11; Nil+13; KF11].

Ziel dieser Arbeit war es zum einen, die Porenbildgebung am 14.1 T-Spektrometer mit ultrahohen Gradienten zu implementieren sowie deren Messung in Gegenwart von extraporalen Flüssigkeiten zu ermöglichen. Außerdem wurde untersucht, inwiefern die Porenbildgebung bei Vorliegen von permeablen Membranen durchgeführt werden kann. In diesem Zusammenhang könnten Informationen hinsichtlich der Permeabilität zur Bewertung

der Ergebnisse der Porenbildgebung von besonderem Interesse sein. Des Weiteren stellt sich die Frage, inwiefern der eigentlich für die Porenbildgebung störende Effekt des Wasseraustauschs zu einem Messprinzip bei typischen klinischen Parametern erhoben werden könnte. Daher wurden die zugrundeliegenden Annahmen bezüglich der Verknüpfung des AXR mit der echten Austauschrate mit Hilfe von Simulationen und Verifikationsmessungen überprüft. Hierzu wurden verschiedene Geometrien, Permeabilitätswerte, Größenverteilungen, unterschiedliche Diffusionskoeffizienten in den Kompartimenten, Relaxationsprozesse, Axon-Orientierungsdispersion und der Einfluss des SNR betrachtet. Zur Verifikation wurden zudem AXR-Messungen mit einer FEXI-Sequenz am 14.1 T-Spektrometer durchgeführt.



## 2 Grundlagen

Eine gute Theorie ist das Praktischste, was es gibt.

*Gustav Robert Kirchhoff*

### 2.1 Magnetische Kernresonanz

Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die der Kernspinresonanz und deren Grundlagen gegeben werden. Detailliertere Darstellungen finden sich zum Beispiel in [Abr61], [Haa+99] und [Sli13]. Die hier gezeigte Einführung orientiert sich an [Lud17].

#### Zeeman-Effekt

Kerne mit einer ungeraden Protonen- und oder Neutronenzahl weisen einen Spin  $I \neq 0$  auf. Da es sich beim Spin um eine intrinsische Form des Drehimpuls handelt, folgt der Spin-Operator  $\hat{I}$  den folgenden Kommutatorrelationen:

$$[\hat{I}_i, \hat{I}_j] = i\hbar \varepsilon_{ijk} \hat{I}_k \quad (2.1)$$

und

$$[\hat{I}^2, \hat{I}_i] = 0. \quad (2.2)$$

Anhand dieser Relationen lassen sich die Eigenzustände  $|I, m\rangle$  des Spins konstruieren. Für diese gelten die folgenden Eigenwertgleichungen:

$$\hat{I}^2 |I, m\rangle = I(I+1) \hbar^2 |I, m\rangle \quad (2.3)$$

$$\hat{I}_z |I, m\rangle = m\hbar |I, m\rangle \quad (2.4)$$

Das magnetische Moment lässt sich mit dem Kernspin über das gyromagnetischen Verhältnis verknüpfen:

$$\hat{\mu} = \gamma \cdot \hat{I}. \quad (2.5)$$

Das gyromagnetische Verhältnis stellt dabei eine kernspezifische Größe dar. Für Protonen beträgt dieses  $\gamma = 2.6752218744(11) \cdot 10^8 \text{ (sT)}^{-1}$ .

## 2 Grundlagen

Die Wechselwirkung des Kernspins mit einem äußeren, statischen Magnetfeld<sup>1</sup>, welches in z-Richtung ausgerichtet ist,  $\vec{B}_0 = B_0 \cdot \hat{e}_z$ , lässt sich durch den folgenden Hamilton-Operator beschreiben:

$$\hat{H} = -\hat{\vec{\mu}} \cdot \vec{B} = -\gamma \cdot \hat{I}_z \cdot B_0. \quad (2.6)$$

Die erlaubten Energielevel dieser Interaktion resultieren aus den Eigenwerten des Hamilton-Operators. Durch Anwenden von  $\hat{H}$  auf die Eigenwerte des Spin-Zustands  $|I, m\rangle$  können diese Energien berechnet werden:

$$\hat{H} |I, m\rangle = E_m |I, m\rangle. \quad (2.7)$$

Mit  $\hat{I}_z |I, m\rangle = m\hbar |I, m\rangle$  finden sich  $2I + 1$  äquidistante Energieniveaus. Dies ist auch als Zeeman-Effekt bekannt:

$$E_m = -\gamma\hbar m B_0. \quad (2.8)$$

Da es sich bei Protonen um Spin-1/2-Kerne handelt, unterscheiden sich zwei benachbarte Energieniveaus um den folgenden Wert:

$$\Delta E = \gamma\hbar B_0 = \hbar\omega_0, \quad (2.9)$$

wobei  $\omega_0$  als Larmor-Frequenz definiert wird.

### Makroskopische Magnetisierung

Die Energiedifferenz in Gleichung 2.9 resultiert in unterschiedlichen Besetzungszahlen für die Energieniveaus  $|\uparrow\rangle$  und  $|\downarrow\rangle$ . Im Hochtemperaturlimit können diese mit Hilfe der Boltzmannstatistik beschrieben werden:

$$N_{|\uparrow\rangle} = \frac{1}{Z} e^{-E_{|\uparrow\rangle}/k_B T}, \quad N_{|\downarrow\rangle} = \frac{1}{Z} e^{-E_{|\downarrow\rangle}/k_B T} \quad (2.10)$$

wobei  $Z$  die Zustandsumme beschreibt:

$$Z = e^{-E_{|\uparrow\rangle}/k_B T} + e^{-E_{|\downarrow\rangle}/k_B T}. \quad (2.11)$$

Die relative Besetzungzahldifferenz  $\Delta N/N$ , wobei  $\Delta N = N_{|\uparrow\rangle} - N_{|\downarrow\rangle}$  und  $N$  die Gesamtzahl der Spins darstellt, kann wie folgt berechnet werden:

---

<sup>1</sup>Die magnetische Flussdichte  $\vec{B}$  wird, wie auf dem Gebiet der Kernspinresonanz üblich, im Folgenden vereinfachend als Magnetfeld bezeichnet.

$$\frac{\Delta N}{N} = \tanh\left(\frac{\gamma\hbar B_0}{2k_B T}\right). \quad (2.12)$$

Die Besetzungszahldifferenz liegt bei Körpertemperatur  $T = 310$  K und einem Magnetfeld von  $B_0 = 1.5$  T in der Größenordnung von  $10^{-6}$ . Auf Grund der hohen Teilchenzahl im Körper ( $10^{28} \text{ m}^{-3}$ ) ist es dennoch möglich, eine makroskopische Magnetisierung zu messen, welche sich wie folgt darstellen lässt:

$$M_0 = \frac{N_{|\uparrow\rangle} - N_{|\downarrow\rangle}}{V} \langle \hat{\mu} \rangle = \frac{N}{V} \frac{\gamma^2 \hbar^2}{4k_B T} B_0. \quad (2.13)$$

Die Stärke der Magnetisierung ist also proportional zum gyromagnetischen Verhältnis  $\gamma$  des betrachteten Kerns, zum Hauptmagnetfeld sowie zur Temperatur des zu untersuchenden Objekts.

### Magnetische Resonanz

Im folgenden findet, wie in der MRT üblich, eine klassische Betrachtung der makroskopischen Magnetisierung statt. Befindet sich ein magnetisches Moment  $\vec{\mu}$  in einem externen Magnetfeld  $B_0$ , dann wirkt auf das magnetische Moment ein Drehmoment, welches proportional zur zeitlichen Ableitung des Drehimpulses ist. Da die Magnetisierung  $\vec{M}$  die Summe aller magnetischer Momente in einem Volumenelement darstellt, wirkt auch auf sie dieses Drehmoment. Für die Bewegungsgleichung der Magnetisierung gilt folglich:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{M} \times \gamma\vec{B}. \quad (2.14)$$

Wird nun zusätzlich zum statischen externen Magnetfeld ein senkrecht dazu stehendes Hochfrequenz(HF)-Feld angelegt, welches wie folgt beschrieben werden kann:

$$\vec{B}_1 = B_1 \begin{pmatrix} \cos(\omega_{\text{HF}} t) \\ \sin(\omega_{\text{HF}} t) \\ 0 \end{pmatrix}, \quad (2.15)$$

wobei  $B_1$  dessen Amplitude beschreibt und  $\omega_{\text{HF}}$  die Frequenz, kommt es zu einer Rotation der Magnetisierung um die Superposition der beiden magnetischen Felder  $\vec{B} = \vec{B}_0 + \vec{B}_1$ . Zur Vereinfachung der Betrachtung, wird das System in das rotierende Koordinatensystem von  $\vec{B}_1$  transformiert:

$$\frac{d\vec{M}'}{dt} = \vec{M}' \times \gamma\vec{B}_{\text{eff}}, \quad (2.16)$$

mit  $\vec{B}_{\text{eff}}$ :

$$\vec{B}_{\text{eff}} = \begin{pmatrix} B_1 \\ 0 \\ B_0 - \frac{\omega_{\text{HF}}}{\gamma} \end{pmatrix}. \quad (2.17)$$

Sofern das angelegte Magnetfeld resonant ist, d.h.  $\omega_{\text{HF}} = \gamma B_0$ , verfügt das effektive Magnetfeld  $\vec{B}_{\text{eff}}$  nur noch über eine Komponente in  $x'$ -Richtung. Dies führt zu einer Präzession der Magnetisierung  $\vec{M}_0$  um die  $x'$ -Achse mit der Frequenz:

$$\omega_1 = \gamma B_1. \quad (2.18)$$

Wird nun solch ein Feld für eine Zeit  $t_p$  angelegt, resultiert daraus der Flipwinkel  $\alpha$ , welcher die Auslenkung der Magnetisierung aus dem Gleichgewichtszustand beschreibt:

$$\alpha = \int_0^{t_p} \gamma B_1(t) dt = \int_0^{t_p} \omega_1(t) dt. \quad (2.19)$$

Nach der Auslenkung präzediert die Magnetisierung  $\vec{M}$  mit der Larmorfrequenz  $\omega_0$  um das Magnetfeld  $\vec{B}_0$ . Daher resultiert die Auslenkung mit einem entsprechend gewählten Hochfrequenzfeld in der Anregung der makroskopischen Magnetisierung  $\vec{M}$ .

### Blochgleichungen

Nach der Anregung durch das Hochfrequenzfeld kommt es auf Grund von Wechselwirkungen der Kernspins mit ihrer Umgebung zu einer Rückkehr der Magnetisierung  $\vec{M}_0$  in ihr thermisches Gleichgewicht. Dieser Prozess kann durch einen Zerfall der transversalen Komponente  $M_{xy}$  und einer Zunahme der longitudinalen Komponente  $M_z$  beschrieben werden. Zur Charakterisierung dieser Prozesse hat Felix Bloch die beiden Zeitkonstanten  $T_1$  und  $T_2$  eingeführt, und die so genannten Blochgleichungen [Blo53] als Erweiterung der Bewegungsgleichungen der Magnetisierung formuliert:

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma (\vec{M} \times \vec{B})_x - \frac{M_x}{T_2} \quad (2.20)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \gamma (\vec{M} \times \vec{B})_y - \frac{M_y}{T_2} \quad (2.21)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma (\vec{M} \times \vec{B})_z - \frac{M_0 - M_z}{T_1} \quad (2.22)$$

Die beiden Relaxationskonstanten können dabei wie folgt beschrieben werden: Die Spin-Spin-Relaxation ( $T_2$ ) beschreibt die Interaktion mit benachbarten Spins, wobei diese zu einem Verlust der Phasenkohärenz der Spinpakete führt und dadurch zu einem Verlust der transversalen Magnetisierung  $M_{xy}$ .

Die Spin-Gitter-Relaxation ( $T_1$ ) beschreibt die Rückkehr zum thermischen Gleichgewicht nach einer Auslenkung der Magnetisierung. Dieser Prozess ist durch die Wechselwirkung der Spinpakete mit ihrer Umgebung, dem Gitter, gegeben. Die Bezeichnung Gitter entstammt der Ursprungszeit der Magnetresonanz, da dort die Eigenschaften von Kristallgittern untersucht wurden.

### FID-Experiment

Das FID-Experiment stellt das einfachste NMR-Experiment dar, und soll deshalb kurz betrachtet werden. Nach einem HF-Puls, mit  $\alpha = 90^\circ$ , befindet sich die Magnetisierung  $M_0$  in der Transversalebene. Die resultierende Magnetisierung  $M_{xy}$  präzediert dann mit der Frequenz  $\omega_0$  um das statische Feld  $B_0$ . Dieser Prozess kann als elektromotorische Kraft in einem Empfangselement gemessen werden. Dabei wird eine Spannung  $U_{\text{ind}}(t)$  gemessen, welche das gemessene NMR-Signal darstellt und direkte Proportionalität zur präzedierenden Magnetisierung in einem Volumen  $V$  zeigt:

$$S(t) = U_{\text{ind}}(t) \propto \int \rho(\vec{r}) e^{i\omega_0 t} dV, \quad (2.23)$$

wobei  $\rho(\vec{r})$  die räumliche Verteilung der Spinpakete, welche zum NMR-Signal beitragen, beschreibt. Durch die  $T_2$ -Relaxation der transversalen Magnetisierung zerfällt auch die elektromotorische Kraft, welche als Free Induction Decay (FID) gemessen werden kann. Die Inhomogenität des externen Magnetfelds  $B_0$  resultiert in einer Verteilung von Larmor-Frequenzen, was sich in einem schnelleren Verlust der transversalen Magnetisierung niederschlägt. Diese Verteilung kann durch eine effektive Relaxationszeit  $T_2^*$  beschrieben werden:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2'}, \quad (2.24)$$

wobei  $T_2'$  den Verlust der Phasenkohärenz auf Grund der Inhomogenitäten beschreibt. Das Signal des in Abbildung 2.1 dargestellten FIDs kann dann wie folgt beschrieben werden:

$$S(t) = S_0 e^{i\omega_0 t} e^{-\frac{t}{T_2^*}}, \quad (2.25)$$

wobei  $S_0$  die Amplitude der gemessenen induzierten Spannung darstellt. Durch Anwendung der Fouriertransformation (FT) auf das gemessene Signal erhält man ein NMR-Spektrum. Die Halbwertsbreite (FWHM, *Full Width Half Maximum*) der Resonanz wird dabei durch  $2/T_2^*$  bestimmt. Da in Messungen das Signal diskret abgetastet wird, wird die höchstmögliche messbare Frequenz über den zeitlichen Abstand zweier Messpunkte,  $\Delta t$ , definiert. Diese Zeit wird auch als *dwell time* bezeichnet. Sofern das Nyquist-Shannon-Theorem beachtet wird, gilt für die ohne Aliasing im Spektrum gespeicherte Information:

$$\Delta f = \frac{1}{\Delta t} \quad (2.26)$$

## 2 Grundlagen

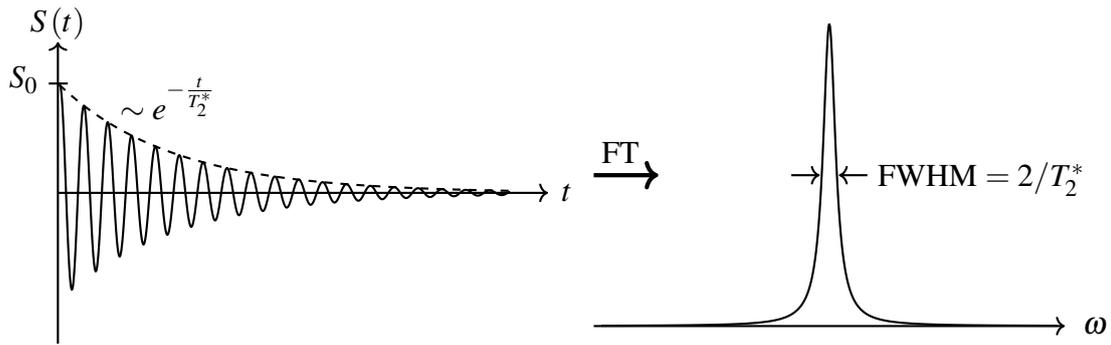


Abbildung 2.1: Gemessenes Signal  $S(t)$  als Funktion der Zeit  $t$ , sowie die Fouriertransformierte  $S(\omega)$  im Frequenzraum. Entnommen aus [Lud17].

$$\Delta\nu = \frac{1}{T_{\text{aq}}} = \frac{1}{N \cdot \Delta t}, \quad (2.27)$$

wobei  $\Delta f$  die spektrale Bandbreite und  $\Delta\nu$  die spektrale Auflösung definieren.  $N$  ist die Anzahl der aufgenommenen Datenpunkte und  $T_{\text{aq}}$  die Aufnahmezeit.

### Spinecho

Das Spinecho-Experiment wurde zuerst von Erwin Hahn im Jahre 1950 durchgeführt [Hah50]. Mit dessen Hilfe ist es möglich, die Spin-Spin Relaxationszeit  $T_2$  direkt zu messen. Der Signalverlauf für ein solches Experiment ist in Abbildung 2.2 dargestellt. Nach dem  $90^\circ$ -Puls befindet sich die Magnetisierung wie beim FID-Experiment in der transversalen Ebene und zerfällt mit  $T_2^*$ . Durch die Feldinhomogenitäten dephasieren die einzelnen Spinpakete. Der  $180^\circ$ -Puls nach der Zeit  $\tau = TE/2$  invertiert diese Phase, und da die Inhomogenitäten als zeitlich konstant betrachtet werden, sind die Spinpakete zur Zeit  $TE = 2\tau$  daher wieder in Phase und resultieren in einem sogenannten Spinecho (siehe Abb. 2.2). Durch Messung des Spinechos zu unterschiedlichen Echozeiten kann mit Hilfe der folgenden Gleichung:

$$S(TE) = S_0 e^{-TE/T_2}, \quad (2.28)$$

die  $T_2$ -Relaxationszeit bestimmt werden.

### Stimuliertes Echo

Neben dem Spinecho-Experiment lässt sich durch Anwendung von drei  $90^\circ$ -Pulsen auch ein sogenanntes Stimuliertes Echo (STEAM) erzeugen. Dabei lenkt der erste  $90^\circ$ -Puls die Magnetisierung in die transversale Ebene aus. Nach  $TE/2$  folgt der zweite  $90^\circ$ -Puls, welcher die Magnetisierung in die Vertikalebene dreht. Die longitudinale Magnetisierung entspricht dabei nur der Projektion der einzelnen Komponenten auf die z-Achse, da die

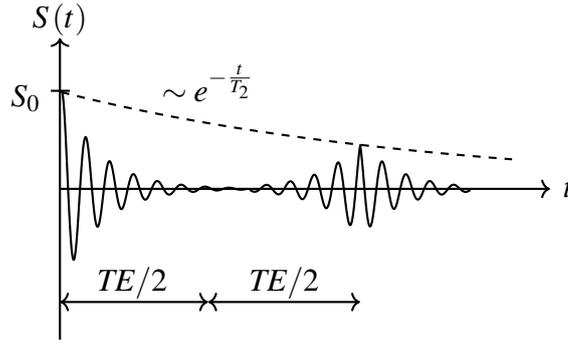


Abbildung 2.2: Signalverlauf für ein Spinecho-Experiment. Nach der Anregung durch den  $90^\circ$ -Puls zerfällt das Signal wie beim FID, durch den  $180^\circ$ -Puls nach  $\tau = TE/2$  kommt es zu einer Rephasierung und dem resultierenden Spinecho bei  $TE = 2\tau$ . Die Signalabnahme der Spinechos für verschiedene  $TE$  ist proportional zu  $\exp(-t/T_2)$ .

Magnetisierung zuvor dephasiert war. Nach dem dritten  $90^\circ$ -Puls befindet sich die Magnetisierung wieder in der Transversalebene. Nach  $TE/2$  sind die Spinpakete wieder in Phase und formen ein stimuliertes Echo. Auf Grund von  $T_2^*$ -Relaxation und der notwendigen Zerstörung der transversalen Magnetisierung durch einen Spoiler-Gradienten, während der longitudinalen Speicherung zwischen dem zweiten und dritten Puls, kommt es zu einem Signalverlust von einem Faktor 2 gegenüber einem Spinecho-Experiment. Auf Grund der möglichen Varianz der Speicherzeit, welche auch als Mischzeit  $t_m$  bezeichnet wird, finden STEAM-Sequenzen in vielen Bereichen Anwendung.

## 2.2 Grundlagen der Magnetresonanzbildung

Um tatsächliche Bildgebungsexperimente ermöglichen zu können, ist es notwendig das NMR-Signal mit einer Ortsabhängigkeit zu verknüpfen. Lauterbur gelang diese Verknüpfung 1973 mit Hilfe von zusätzlichen Magnetfeldgradienten [Lau73].

### 2.2.1 Gradientenfelder

Durch das lineare Gradientenfeld

$$\vec{G} = (G_x, G_y, G_z) = \left( \frac{\partial B_z}{\partial x}, \frac{\partial B_z}{\partial y}, \frac{\partial B_z}{\partial z} \right), \quad (2.29)$$

welches mit dem statischen Magnetfeld  $\vec{B}_0$  überlagert wird, entsteht eine Ortsabhängigkeit der Larmor-Frequenz, welche wie folgt dargestellt werden kann:

$$\omega(\vec{x}, t) = \gamma B_z(\vec{x}, t) = \gamma \left( B_0 + \vec{x} \cdot \vec{G}(t) \right). \quad (2.30)$$

## 2 Grundlagen

Die Phase  $\phi(\vec{x})$ , welche ein Spinpaket durch Anwenden des Gradienten akkumuliert, kann wie folgt berechnet werden:

$$\phi(\vec{x}, t) = \gamma \int_0^t dt' \vec{x} \cdot \vec{G}(t') = \vec{k}(t) \cdot \vec{x}, \quad (2.31)$$

wobei hier der Wellenvektor  $\vec{k}(t)$  eingeführt wurde:

$$\vec{k}(t) = \gamma \int_0^t \vec{G}(t') dt' \quad (2.32)$$

Das ortskodierte NMR-Signal kann dann wie folgt beschrieben werden:

$$S(\vec{k}(t)) \propto \int_V M_{xy}(\vec{x}, 0) e^{-i\vec{k} \cdot \vec{x}} d\vec{x}, \quad (2.33)$$

wobei  $M_{xy}(\vec{x}, 0)$  die Magnetisierung am Ort  $\vec{x}$  sei, welche zur Zeit  $t = 0$  von einem Spinpaket nach einem HF-Puls erzeugt wird. Diese Magnetisierung lässt sich durch die Fouriertransformation direkt aus dem gemessenen Signal  $S(\vec{k}(t))$  berechnen. Durch Abtasten des  $k$ -Raums, durch Schichtselektion und Frequenz- und Phasenkodierung und anschließender Fouriertransformation, kann so eine orts aufgelöste Darstellung der Magnetisierung erreicht werden. Es bestehen vielfältige Ansätze, sogenannte MR-Sequenzen, um den  $k$ -Raum zu füllen. Für genauere Informationen hinsichtlich der Standardverfahren sei an dieser Stelle auf die Bücher von Haacke [Haa+99] und Bernstein [BKZ04] verwiesen.

## 2.3 Grundlagen der Diffusionsbildung

In diesem Abschnitt werden kurz die Grundlagen der Diffusionsgewichteten Bildgebung dargestellt. Die Darstellung der Grundlagen orientiert sich dabei an [Kud14]. Zusätzliche und tiefer greifende Informationen finden sich in [Van92; Jon10; Mor+13].

### 2.3.1 Freie Diffusion

Die zufällige Bewegung von Teilchen, wie Atomen, Molekülen aber auch anderen Teilchen, auf Grund ihrer thermischen Energie wird als Diffusion bezeichnet. Mit der Diffusion wird üblicherweise ein Konzentrationsgradient assoziiert, welchem die Diffusion entgegenwirkt. Der so entstehende Teilchenfluss  $\vec{j}$  wird durch das 1. Ficksche Gesetz beschrieben:

$$\vec{j}(\vec{x}, t) = -D\nabla C(\vec{x}, t), \quad (2.34)$$

wobei  $\nabla C(\vec{x}, t)$  den Konzentrationsgradienten beschreibt. Der Proportionalitätsfaktor  $D$  wird als Diffusionskoeffizient bezeichnet. Zusammen mit der Kontinuitätsgleichung

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -\operatorname{div} \vec{j}(\vec{x}, t), \quad (2.35)$$

erhält man das 2. Ficksche Gesetz:

$$\frac{\partial C(\vec{x}, t)}{\partial t} = \nabla(D\nabla C(\vec{x}, t)). \quad (2.36)$$

Während die Gesetze formuliert wurden, um die Bewegung von Teilchen mit einem Konzentrationsgradienten in Lösungen zu beschreiben, hat Einstein gezeigt [Ein05], dass dieselben Gesetze auch bei der Selbstdiffusion ohne Konzentrationsgradienten gültig sind. Die Propagatorfunktion  $P(\vec{x}, t)$  für freie Diffusion wird dabei durch eine Gaußkurve beschrieben. Im eindimensionalen Fall lässt sich die zurückgelegte zufällige Strecke mit dem zentralen Grenzwertsatz wie folgt beschreiben:

$$P(x, t) = \frac{1}{\sqrt{4\pi Dt}} e^{-\frac{x^2}{4Dt}}. \quad (2.37)$$

Da die Wahrscheinlichkeit für die beiden Bewegungsrichtungen identisch ist, gilt für den Erwartungswert der zurückgelegten Strecke:

$$\langle x \rangle = \int_{-\infty}^{\infty} xP(x) dx = 0. \quad (2.38)$$

Betrachtet man jedoch die Varianz  $\sigma^2$  von Gleichung 2.37 erhält man die Einstein-Smoluchowski Beziehung [Ein05; Smo06] für isotrope Diffusion:

$$\sigma^2(t) = \langle x^2 \rangle = 2Dt. \quad (2.39)$$

Die Gleichungen 2.37 und 2.39 können auch für den dreidimensionalen Fall hergeleitet werden:

$$P(\vec{x}, t) = \frac{1}{\sqrt{4\pi Dt}^3} e^{-\frac{\vec{x}^2}{4Dt}} \quad (2.40)$$

$$\sigma^2(t) = \langle \vec{x}^2 \rangle = 6Dt. \quad (2.41)$$

### 2.3.2 Diffusionsbildgebung

In Abbildung 2.3a ist eine modifizierte Spinecho-Sequenz dargestellt, welche durch das zusätzliche Gradientenpaar (hier in grau dargestellt) zur Diffusionsbildgebung verwendet werden kann. Der  $90^\circ$ -Puls lenkt dabei die Magnetisierung aus dem Gleichgewichtszustand in die Transversalebene aus. Anschließend kommt es zu einer Dephasierung, welche durch den  $180^\circ$ -Puls umgekehrt wird. Vor der Rephasierung wird den Spinpaketen auf Grund des ersten Diffusionsgradienten eine ortsabhängige, zusätzliche Phase aufgeprägt. Der zweite Diffusionsgradient hebt diese Phase nach dem  $180^\circ$ -Puls wieder auf, sofern sich die Spinpakete während der Messung nicht bewegen. Das resultierende Signal weist dann dieselbe Stärke wie bei einem reinen Spinecho-Experiment auf (obere Reihe).

Falls die Spinpakete während der Messung der Diffusion unterliegen (untere Reihe), wird die während des ersten Diffusionsgradienten aufgeprägte Phase nicht mehr kompensiert, da die Spinpakete nun einem abweichenden resultierenden Magnetfeld ausgesetzt sind. Diese zurückbleibende Phase führt zu einer Verringerung der resultierenden Magnetisierung, welches aus der Summe aller magnetischer Momente entsteht. Daher wird bei einer Diffusionsmessung mit existierender Diffusion das Signal niedriger als bei einem reinen Spinecho-Experiment sein.

#### Blochgleichungen für freie Diffusion

Die Blochgleichungen können durch einen zusätzlichen Term erweitert werden, welcher die Diffusion in Verbindung zum korrespondierenden Signal setzt [Tor56]. Diese Gleichungen werden als Bloch-Torrey-Gleichungen bezeichnet:

$$\frac{\partial \vec{M}}{\partial t} = \gamma \vec{M} \times \vec{B} - \begin{pmatrix} M_x/T_2 \\ M_y/T_2 \\ (M_z - M_0)/T_1 \end{pmatrix} + \nabla (D \nabla \vec{M}), \quad (2.42)$$

wobei  $\nabla (D \nabla \vec{M})$  den Diffusionsterm darstellt und der rechten Seite des 2. Fickschen Gesetzes entspricht. Das statische Magnetfeld  $B_0$  weist in dieser Darstellung in z-Richtung. Stellt man nun die transversale Magnetisierung als komplexe Zahl dar:

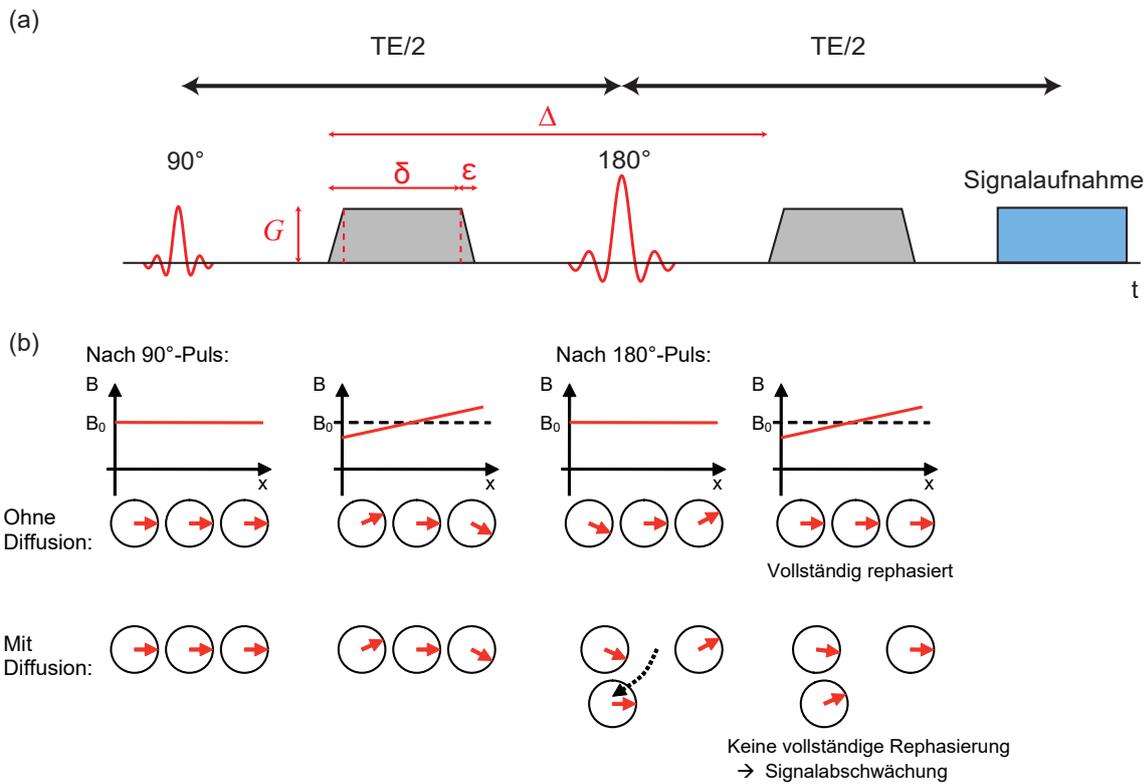


Abbildung 2.3: Darstellung einer diffusionsgewichteten Spinecho-Sequenz (a), mit in grau dargestellten Diffusionsgradienten. In (b) ist der Grund für die Signalabnahme dargestellt. Die roten Pfeile repräsentieren Spinpakete an verschiedenen Orten im rotierenden Bezugssystem. Das Magnetfeld  $B$  stellt die Superposition aus Hauptmagnetfeld  $B_0$  und, falls angewendet, der Gradienten dar. Mit Diffusion wird die während des ersten Diffusionsgradienten akkumulierte Phase auf Grund von Änderungen der Position der Spinpakete während des zweiten Diffusionsgradienten nicht vollständig rephasiert und es kommt zu einer Signalabnahme. Entnommen aus [Kud14].

## 2 Grundlagen

$$M_{xy} = M_x + iM_y, \quad (2.43)$$

und wählt  $\vec{B} = (0, 0, B_0 + \vec{x}\vec{G}(t))$ , lässt sich die Zeitabhängigkeit der transversalen Magnetisierung wie folgt darstellen:

$$\frac{\partial M_{xy}}{\partial t} = -i\gamma M_{xy} (B_0 + \vec{x}\vec{G}(t)) - \frac{M_{xy}}{T_2} + \nabla(D\nabla M_{xy}). \quad (2.44)$$

Mit dem Ansatz  $m_{xy}(\vec{x}, t) = M_{xy}(\vec{x}, t) e^{i\gamma B_0 t + t/T_2}$  kann Gleichung 2.44 noch vereinfacht werden:

$$\frac{\partial m_{xy}(\vec{x}, t)}{\partial t} = -i\gamma \vec{x}\vec{G}(t) m_{xy}(\vec{x}, t) + \nabla(Dm_{xy}(\vec{x}, t)) \quad (2.45)$$

Betrachtet man nun ein Volumenelement mit konstanter transversaler Magnetisierung, indem die Diffusion stattfindet, kann  $m_{xy}$  in einen ortsunabhängigen Magnitudenanteil  $M(t)$  und einen Phasenanteil:

$$m_{xy}(\vec{x}, t) = M(t) e^{-i\vec{x}\vec{k}(t)}, \quad (2.46)$$

wobei  $\vec{k}(t) = \gamma \int_0^t dt' \vec{G}(t')$ , (vgl. Gl. 2.32), gilt, aufgeteilt werden.

Durch Integration der Differentialgleichung  $\partial M(t)/\partial t$  erhält man den Signalabfall zur Echozeit  $TE$ , welcher auf Grund der Diffusion auftritt:

$$\frac{M(TE)}{M(0)} = e^{-D \int_0^{TE} \vec{k}(t') \cdot \vec{k}(t') dt'} = e^{-bD}, \quad (2.47)$$

wobei

$$b = \int_0^{TE} \vec{k}^2(t') dt', \quad (2.48)$$

der in der Literatur als  $b$ -Wert bezeichnet wird und ein Maß für die Stärke, beziehungsweise der Länge der Diffusionswichtung darstellt. Unter Verwendung der Gleichungen 2.32 und 2.48 lässt sich der  $b$ -Wert für die in Abbildung 2.3a dargestellten trapezförmigen Diffusionsgradienten wie folgt berechnen:

$$b = \gamma^2 G^2 (\delta^2 (\Delta - \delta/3) + \varepsilon^3/30 - \delta\varepsilon^2/6). \quad (2.49)$$

### Bestimmung des Diffusionskoeffizienten

Im Allgemeinen ist die Diffusion in biologischen Geweben je nach Richtung unterschiedlich stark eingeschränkt. Im Fall von anisotroper Diffusion muss daher der einzelne Diffusionskoeffizient durch einen  $3 \times 3$ -Diffusionstensor ersetzt werden.

Betrachtet man aber isotrope Diffusion, d.h.  $D_{xx} = D_{yy} = D_{zz}$ , lässt sich nach Gleichung 2.47 das Signal in Abhängigkeit des  $b$ -Wertes wie folgt beschreiben:

$$S(b) = S_0 e^{-bD}, \quad (2.50)$$

wobei  $S_0$  das Signal einer Messung mit  $b = 0$  darstellt. Durch Logarithmierung des normierten gemessenen Signals kann so der Diffusionskoeffizient bestimmt werden:

$$\ln \frac{S(b)}{S_0} = -bD, \quad (2.51)$$

beziehungsweise bei Messungen mit zwei unterschiedlichen  $b$ -Werten gilt im Allgemeinen:

$$D = \frac{1}{b_1 - b_2} \ln \frac{S(b_2)}{S(b_1)} \quad (2.52)$$

### 2.3.3 Apparent Diffusion Coefficient

In typischen DWI-Experimenten im biologischen Gewebe erhält man üblicherweise aus einer Messung nicht den freien Diffusionskoeffizienten  $D$ , sondern den *Apparent Diffusion Coefficient* (ADC). Dieser reflektiert zusätzlich zur Viskosität des Mediums auch räumliche Restriktionen.

In der Gegenwart von räumlichen Restriktionen ist der ADC daher niedriger als der freie Diffusionskoeffizient. Es muss berücksichtigt werden, dass der ADC wie alle Parameter, welche aus Bildern, welche mit der Magnetresonanztomographie aufgenommen wurden, auf Grund seiner Größe einen Mittelwert verschiedener Mikroumgebungen darstellt.

## 2.4 q-Raum-Bildgebung

Zunächst soll die in Abbildung 2.4a dargestellte, geschlossene Pore betrachtet werden, welche mit einem NMR-detektierbaren Medium gefüllt ist. Die Pore lässt sich wie folgt charakterisieren:

$$\rho(\vec{x}) = \begin{cases} \frac{1}{V} & \text{falls } \vec{x} \text{ in der Pore liegt,} \\ 0 & \text{sonst.} \end{cases} \quad (2.53)$$

Das mittels der q-Raum Bildgebung erzeugte Signal der Pore lässt sich wie folgt beschreiben:

## 2 Grundlagen

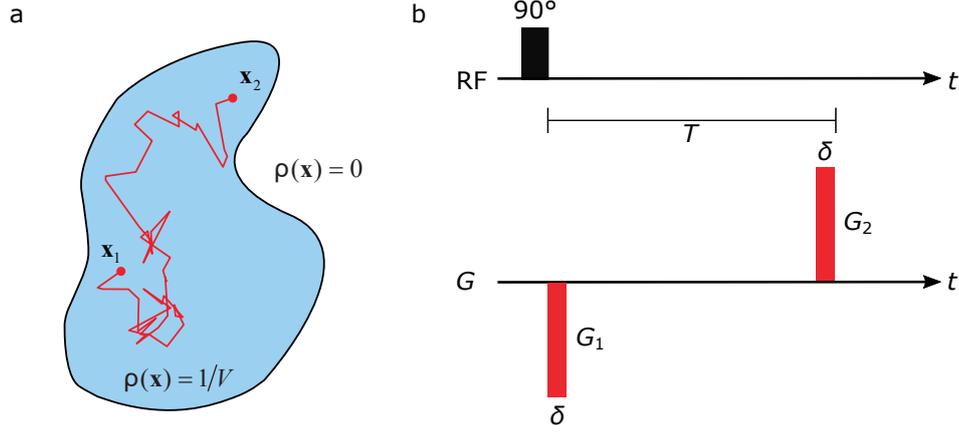


Abbildung 2.4: Geschlossene Pore (a) mit q-Raum Bildgebung (b). Durch die zwei kurzen Gradienten der q-Raum-Bildgebung (rot, in (b)) wird die akkumulierte Phase ausschließlich durch den Start- und Endpunkt der Trajektorie ( $\vec{x}_1, \vec{x}_2$ ) definiert. Die Gradienten erzeugen dabei den q-Raum-Vektor  $\vec{q} = \gamma \vec{G} \delta$ , welcher dem Wellenvektor  $k$  entspricht. Modifizierte Darstellung nach [Kud14].

$$\begin{aligned} S(\vec{q}) &= \int \rho(\vec{x}_2) e^{-i\vec{q} \cdot \vec{x}_2} d\vec{x}_2 \int \rho(\vec{x}_1) e^{i\vec{q} \cdot \vec{x}_1} d\vec{x}_1 \\ &= \tilde{\rho}(\vec{q}) \tilde{\rho}^*(\vec{q}) = |\tilde{\rho}(\vec{q})|^2, \end{aligned} \quad (2.54)$$

wobei  $\tilde{\rho}(\vec{q})$  die Fouriertransformierte der Porenfunktion beschreibt:

$$\tilde{\rho}(\vec{q}) = \int \rho(\vec{x}) e^{-i\vec{q} \cdot \vec{x}} d\vec{x}. \quad (2.55)$$

Mit Hilfe der q-Raum-Bildgebung lässt sich also lediglich das Betragsquadrat  $|\tilde{\rho}(\vec{q})|^2$  der Fouriertransformierten der Porenfunktion bestimmen. Durch Verlust der Phaseninformation ist es nicht möglich, die Porenfunktion direkt mit Hilfe der inversen Fouriertransformation zu bestimmen. Es existieren aber Ansätze, die dieses Problem durch weitere Messungen oder Rekonstruktion der Phase umgehen können [Dem+17; Dem+18; Dem+19].

## 2.5 Porenbildgebung

Im Folgenden wird kurz dargestellt, dass sich die Form geschlossener Poren mittels DWI direkt ermitteln lässt. Die Darstellung der Grundlagen orientiert sich dabei an [Lau+12] und [Kud14]. Hierzu wird die in Abbildung 2.5a dargestellte geschlossene Pore betrachtet. Die Pore soll wie bereits zuvor durch  $\rho(\vec{x})$  beschrieben werden, und ihr Schwerpunkt  $\vec{x}_{\text{cm}}$  soll im Ursprung liegen:

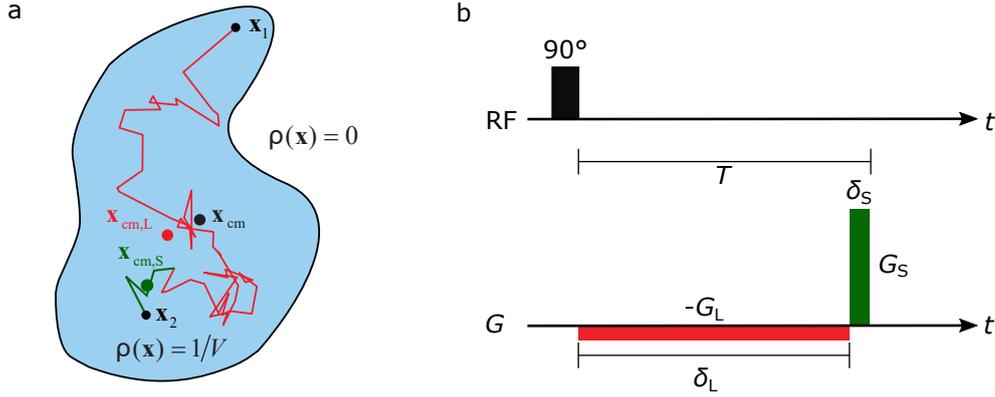


Abbildung 2.5: Messung der Porenfunktion der in (a) dargestellten, geschlossenen Pore mit dem Lang-Kurz-Gradientenschema (b). Der Schwerpunkt der Trajektorie (rot) des langen Gradienten  $\vec{x}_{cm,L}$  geht für  $T \rightarrow \infty$  in den Schwerpunkt der Pore  $\vec{x}_{cm}$  über und führt damit nur zu einer zusätzlichen Phase  $e^{i\vec{q} \cdot \vec{x}_{cm}}$ . Für einen kurzen Gradienten (grün) mit  $\delta_S \rightarrow 0$ , geht der Trajektorien-schwerpunkt  $\vec{x}_{cm,S}$  in den Endpunkt der Trajektorie  $\vec{x}_2$  über. Somit lässt sich die Porenfunktion direkt aus der inversen Fouriertransformation des gemessenen Signals bestimmen. Modifizierte Darstellung nach [Kud14].

$$\vec{x}_{cm} = \int \vec{x} \rho(\vec{x}) d\vec{x} = 0 \quad (2.56)$$

Das in Abbildung 2.5b dargestellte asymmetrische Gradientenschema wird im Folgenden als Lang-Kurz-Schema bezeichnet. Dabei bezieht der Index „L“ jeweils auf den langen Gradienten (rot) und der Index „S“ jeweils auf den kurzen Gradienten (grün, wegen engl. *short*). Der zeitliche Verlauf des Schemas kann wie folgt charakterisiert werden:

$$\vec{G}_{\delta_S, \delta_L}(t) = \begin{cases} G_L = -\frac{\delta_S}{\delta_L} G_S & \text{für } 0 \leq t \leq \delta_L \\ G_S & \text{für } \delta_L < t \leq T \\ 0 & \text{sonst,} \end{cases} \quad (2.57)$$

mit der Gesamtdauer  $T = \delta_L + \delta_S$  und  $\int_0^T \vec{G}_{\delta_L, \delta_S}(t) dt = 0$ . Der  $q$ -Wert für das Gradientenschema ist dabei wie folgt definiert:

$$\vec{q} = \gamma \vec{G}_S \delta_S \quad (2.58)$$

Für die Signalabnahme in Abhängigkeit des  $q$ -wertes, sowie der Längen der Gradienten gilt damit:

## 2 Grundlagen

$$\begin{aligned}
S_{\delta_L, \delta_S}(\vec{q}) &= \left\langle e^{-i\gamma \int_0^T \vec{G}_{\delta_L, \delta_S}(t) \cdot \vec{x}(t) dt} \right\rangle = \left\langle e^{-i\gamma \left( \int_0^{\delta_L} \vec{G}_L \cdot \vec{x}(t) dt + \int_{\delta_L}^T \vec{G}_S \cdot \vec{x}(t) dt \right)} \right\rangle \\
&= \left\langle \exp \left[ -i \left( -\gamma \frac{\delta_S}{\delta_L} \vec{G}_S \cdot \int_0^{\delta_L} \vec{x}(t) dt + \gamma \delta_S \vec{G}_S \cdot \frac{1}{\delta_S} \int_{\delta_L}^T \vec{x}(t) dt \right) \right] \right\rangle \quad (2.59) \\
&= \left\langle \exp \left[ -i \vec{q} \cdot \left( -\frac{1}{\delta_L} \int_0^{\delta_L} \vec{x}(t) dt + \frac{1}{\delta_S} \int_{\delta_L}^T \vec{x}(t) dt \right) \right] \right\rangle \\
&= \left\langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{x}_{cm,L} - \vec{x}_{cm,S})} \right\rangle,
\end{aligned}$$

wobei die Schwerpunkte der jeweiligen Bewegungen wie folgt definiert werden können:

$$\vec{x}_{cm,L} = \frac{1}{\delta_L} \int_0^{\delta_L} \vec{x}(t) dt \quad (2.60)$$

$$\vec{x}_{cm,S} = \frac{1}{\delta_S} \int_{\delta_L=T-\delta_L}^T \vec{x}(t) dt \quad (2.61)$$

Für den Grenzfall von  $\delta_L \rightarrow \infty$  und  $\delta_S \rightarrow 0$ , wobei weiterhin  $\vec{q} = \gamma \delta_S \vec{G}_S = -\gamma \delta_L \vec{G}_L = \text{const}$  gilt, geht der Trajektorien Schwerpunkt während des langen Gradienten, unter der Voraussetzung, dass während der Trajektorie  $\vec{x}(t)$  die komplette Pore durchlaufen wird, in den Schwerpunkt der Pore über. Für den kurzen Gradienten geht in diesem Szenario der Trajektorien Schwerpunkt in den Endpunkt über:  $\vec{x}_{cm,S} \rightarrow \vec{x}_S$ . Für das Signal in diesen Grenzwerten, bezeichnet mit  $S_{\infty,0}$  gilt dann:

$$S_{\infty,0}(\vec{q}) = e^{i\vec{q} \cdot \vec{x}_{cm}} \left\langle e^{-i\vec{q} \cdot \vec{x}_S} \right\rangle_{\vec{x}_{cm}=0} = \int_{\vec{x}_{cm}=0} \rho(\vec{x}_S) e^{-i\vec{q} \cdot \vec{x}_S} d\vec{x}_S = \tilde{\rho}(\vec{q}) \quad (2.62)$$

Durch die inverse Fouriertransformation ist es also möglich die Form der Pore direkt aus dem gemessenen Signal  $S_{\infty,0}(\vec{q})$  zu bestimmen. Im Langzeitlimit ( $T \rightarrow \infty$ ) führt der lange Gradient zu keiner Signalabschwächung sondern führt nur zu einer zusätzlichen Phase  $e^{i\vec{q} \cdot \vec{x}_{cm}}$  im normierten Signal, da diese für alle Spinpakete identisch ist.

Werden mehrere Poren im Volumen  $V$  mit der Porenfunktionen  $\rho_{n,0} = \rho_n(\vec{x}' + \vec{x}_{n,cm})$ , deren Schwerpunkte auf den Ursprung verschoben sind, betrachtet, berechnet sich das Signal wie folgt [KL15]:

$$S_{\infty,0}(\vec{q}) = \sum_{n=1}^M f_n \int \rho_{n,0}(\vec{x}) e^{-i\vec{q} \cdot \vec{x}} = \sum_{n=1}^M f_n \tilde{\rho}_{n,0}(\vec{q}), \quad (2.63)$$

wobei  $f_n = V_n/V$  der Volumenanteil der Pore am Gesamtvolumen darstellt und  $\tilde{\rho}_{n,0}(\vec{q})$  die Fouriertransformierte der verschobenen Porenfunktion  $\rho_{n,0}(\vec{x})$ .

Durch Anwenden der inversen Fouriertransformation auf  $S_{\infty,0}(\vec{q})$  lässt sich die arithmetisch gemittelte Porenfunktion rekonstruieren:

$$\rho_{\text{mittel}}(\vec{x}) = iFT(S_{\infty,0}(\vec{x})) = \sum_{n=1}^M f_n \rho_{n,0}(\vec{x}), \quad (2.64)$$

was bedeutet, dass alle Poren im Volumen  $V$  zum Signal beitragen, und somit im Vergleich zur konventionellen Magnetresonanztomographie, zu einem wesentlich höheren Signal-zu-Rausch-Verhältnis führen.

## 2.6 Austauschraten

Im Folgenden soll der Austausch von Wassermolekülen oder, allgemeiner von Teilchen durch die Zellmembran betrachtet werden. Eine schematische Darstellung dieses Vorgangs findet sich in Abbildung 2.6.

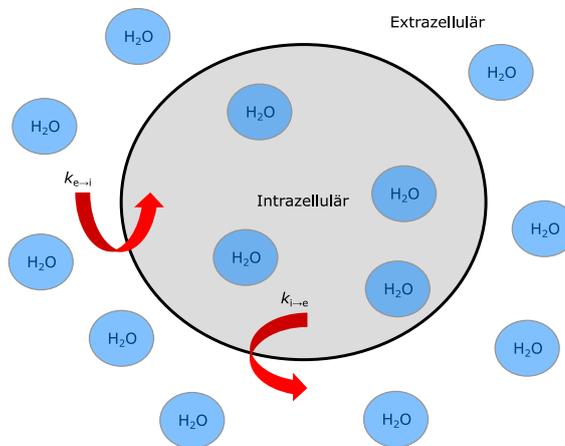


Abbildung 2.6: Schematische Darstellung der Austauschprozesse zwischen intra- und extrazellulärem Kompartiment.

### 2.6.1 Echte Austauschrate

Zur theoretischen Betrachtung der Verknüpfung zwischen *Apparent Exchange Rate* (AXR), echter Austauschrate und Permeabilität werden zunächst die grundlegenden Gleichungen nach [Las+11; Tia+17] wiedergegeben. Die Darstellung der Formeln orientiert sich an [Lud+21]. Wir betrachten hierfür ein System, welches aus einem intrazellulären und einem extrazellulären Kompartiment besteht. Die Austauschrate für solch ein System kann im Limit von guter Durchmischung [KPH88; JPS05] durch das Oberflächen-zu-Volumen Verhältnis der Zelle  $S_{\text{Zelle}}/V_i$ , mit der Oberfläche der Zelle  $S_{\text{Zelle}}$ , dem Volumen  $V_i$  und der Membranpermeabilität  $\rho$ , beschrieben werden. Für die Austauschrate für Teilchen, die innerhalb der Zelle starten, gilt dann:

$$k_{i \rightarrow e} = \rho \cdot \frac{S_{\text{Zelle}}}{V_i}. \quad (2.65)$$

## 2 Grundlagen

Für die durchschnittliche Aufenthaltsdauer in den jeweiligen Kompartimenten, welche als das inverse der korrespondierenden Austauschrate dargestellt werden kann, gilt dann:

$$\tau_i = \frac{1}{k_{i \rightarrow e}}, \tau_e = \frac{1}{k_{e \rightarrow i}} = \tau_i \frac{f_e}{f_i}, \quad (2.66)$$

wobei  $f_e$  und  $f_i$  den Volumenanteil des extrazellulären beziehungsweise intrazellulären Kompartiments beschreiben. Der Volumenanteil  $f_e$  ist für den ungestörten Gleichgewichtszustand ohne Filter der *Filter Exchange Imaging* (FEXI)-Sequenz, bei konstanter Protodendichte und identischen  $T_1$  und  $T_2$  Zeiten zudem identisch zum extrazellulären Signalanteil:

$$f_e = \frac{V_{\text{Total}} - V_i}{V_{\text{Total}}}, f_i = 1 - f_e. \quad (2.67)$$

$f_i$  kann dabei auch als die Packungsdichte des Systems bezeichnet werden. Bei einer homogenen Wasserverteilung über das gesamte Volumen kann die echte Austauschrate für ein solches System aus zwei Kompartimenten durch die individuellen Austauschraten, gewichtet mit dem jeweiligen Volumenanteil, beschrieben werden:

$$k_{\leftrightarrow} = \frac{1}{\tau_{\leftrightarrow}} = k_{i \rightarrow e} \cdot f_i + k_{e \rightarrow i} \cdot f_e = \rho \cdot \frac{2S_{\text{Zelle}}}{V_{\text{total}}}, \quad (2.68)$$

wobei  $\tau_{\leftrightarrow}$  der mittleren Aufenthaltszeit in einem Kompartiment entspricht, was gleichbedeutend zur Zeit zwischen zwei Austauschprozessen ist. In Abhängigkeit der tatsächlichen Austauschprozesse aus der ( $N_{i \rightarrow e}$ ) oder in ( $N_{e \rightarrow i}$ ) die Zelle, in einer gegebenen Zeit  $t$ , kann Gleichung 2.68 zudem wie folgt dargestellt werden:

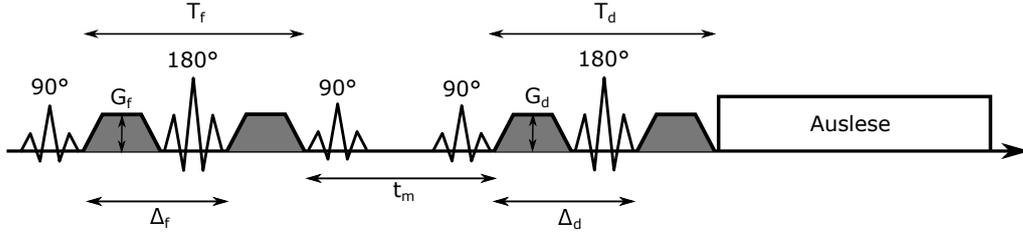
$$k_{\leftrightarrow} = \frac{N_{i \rightarrow e}}{tN_i} \cdot f_i + \frac{N_{e \rightarrow i}}{tN_e} \cdot f_e = \frac{N_{\leftrightarrow}}{tN}, \quad (2.69)$$

mit der Summe der individuellen Austauschprozesse  $N_{\leftrightarrow} = N_{i \rightarrow e} + N_{e \rightarrow i}$  und der gesamten Teilchenzahl  $N = N_i + N_e$ . Auf Grund der Massenerhaltung muss  $N_{i \rightarrow e} = N_{e \rightarrow i}$  gelten, was wiederum der Gleichgewichtsbedingung  $k_{i \rightarrow e} f_i = k_{e \rightarrow i} f_e$  zugrunde liegt. Die Volumenanteile in dieser Darstellung können auch in Abhängigkeit der Teilchenzahl im jeweiligen Kompartiment dargestellt werden:

$$f_i = \frac{N_i}{N}, f_e = \frac{N_e}{N}. \quad (2.70)$$

### 2.6.2 Apparent Exchange Rate und Filter Exchange Imaging

AXR-Messungen können mit Hilfe einer doppelt-diffusionsgewichteten Sequenz, bei der das erste Gradientenpaar als Filter und das zweite als Detektionsblock definiert ist, durchgeführt werden. Eine schematische Darstellung der FEXI-Sequenz ist in Abbildung

Abbildung 2.7: Schematische Darstellung der *Filter Exchange Imaging*(FEXI)-Sequenz.

2.7 zeigt. Die beiden Diffusionswichtungen erzeugen dabei die  $b$ -Werte,  $b_f$  und  $b_d$ . Während der Mischzeit wird die Magnetisierung longitudinal gespeichert. Der Einfachheit halber wurde in der schematischen Darstellung von der Verwendung von „Crusher“- und Spoiler-Gradienten abgesehen. Auf Grund der unterschiedlichen intra- und extrazellulären scheinbaren Diffusionskoeffizienten (ADC) resultiert der Filterblock in den geänderten Signalanteilen  $f_E(t_m = 0)$  und  $f_I(t_m = 0)$ , wobei diese im Gegensatz zu den Volumenanteilen mit großen Indizes bezeichnet werden. Die Rückkehr der gestörten Signalanteile zum Gleichgewichtszustand kann nach Lasic et al. [Las+11] wie folgt beschrieben werden:

$$f_E(t_m = 0) = f_e - (f_e - f_E(0)) \exp(-t_m \tilde{k}), \quad (2.71)$$

mit der Summe der individuellen Austauschraten:

$$\tilde{k} = k_{i \rightarrow e} + k_{e \rightarrow i} = \frac{k_{i \rightarrow e}}{f_e}. \quad (2.72)$$

Es gilt hierbei zu beachten, dass hier im Gegensatz zu Gleichung 2.68, nicht die volumengewichtete Summe der Austauschraten, sondern lediglich die Summe derer gebildet wird. Die Signalgleichung für ein solches System lässt sich wie folgt repräsentieren:

$$I(b_d, t_m) = I_f(t_m) [f_I(t_m) \exp(-b_d D_i) + f_E(t_m) \exp(-b_d D_e)], \quad (2.73)$$

wobei  $I_f(t_m)$  die Signalintensität für eine Messung mit  $G_f = 0$  beschreibt. Dieser Gleichung liegt die Annahme zu Grunde, dass die Gaußsche Phasennäherung für beide Kompartimente gilt, und somit Filter- und Detektionsblock unabhängig voneinander betrachtet werden können. Von Lasic et al. [Las+11] wurde gezeigt, dass der ADC für solch ein System, bei einer FEXI-Messung, wie folgt beschrieben werden kann:

$$ADC(t_m) = ADC_{eq} (1 - \sigma \exp(-t_m AXR)), \quad (2.74)$$

mit der Filtereffektivität  $\sigma = 1 - ADC(0)/ADC_{eq}$ . Für ein System aus zwei Kompartimenten ist der AXR-Wert äquivalent zur Summe der Austauschraten:

## 2 Grundlagen

$$AXR = k_{i \rightarrow e} + k_{e \rightarrow i} = k_{i \rightarrow e} \frac{1}{f_e} = \rho \cdot \frac{S_{Zelle} V}{V_i V_e} = \frac{1}{\tau_{AXR}}. \quad (2.75)$$

Verglichen mit Gleichung 2.72 zeigt sich, dass  $AXR$  und  $\tilde{k}$  identisch sind. Im Allgemeinen lässt sich die Apparent Exchange Rate und die echte Austauschrate aber folgendermaßen verknüpfen:

$$AXR = \frac{k_{\leftrightarrow}}{2(f_e - f_e^2)} > k_{\leftrightarrow}, \quad (2.76)$$

da  $2(f_e - f_e^2) < 1$  für alle  $f_e \in (0, 1)$  gilt, wird der gemessene  $AXR$ -Wert immer größer als die echte Austauschrate sein. Interessanterweise können somit für die  $AXR$ -Werte im Gegensatz zur echten Austauschrate auch Divergenzen für den Fall von sehr hohen oder kleinen Packungsdichten auftreten. Die Verknüpfung zwischen echter Austauschrate und  $AXR$  in Gleichung 2.76, sowie das Auftreten von Divergenzen, gelten für alle Geometrien, sowie deren Dimensionalität.

### 2.6.3 Herleitung der Austauschraten für Zellgrößen- und Permeabilitätsverteilungen

In der Literatur galt bisher stets die Annahme, dass nur eine Zellgröße und ein Permeabilitätswert vorliegt. Für realistischere Betrachtungen und mögliche Einschränkungen war es daher notwendig den theoretischen Einfluss einer Verteilungen dieser Parameter auf die echte Austauschrate und den  $AXR$ -Wert zu betrachten. Für die allgemeine Herleitung sollen  $N_{Zellen}$  Zellen mit der Permeabilität  $\rho_m$ , Teilchenkonzentration  $c_m$  und dem intrazellulären Volumen  $V_m$  betrachtet werden. Für den Teilchenfluss pro Zeiteinheit aus Zelle  $m$  in das extrazelluläre Volumen gilt dann:

$$\frac{dN_m}{dt} = k_{i \rightarrow e, m} \cdot c_m \cdot V_m, \quad (2.77)$$

wobei  $c_m = N_{i, m} / V_m$  gilt. Mit Hilfe von Gleichung 2.65 kann dies wie folgt umgeformt werden:

$$\frac{dN_m}{dt} = \rho_m \frac{S_m}{V_m} c_m V_m = \rho_m S_m c_m, \quad (2.78)$$

mit der Oberfläche  $S_m$  der Zelle. Für die Wahrscheinlichkeit für ein Teilchen, eine der Zellen verlassen zu können (vgl. Gleichung 2.66), gilt dann:

$$\frac{1}{\tau_i} = k_{i \rightarrow e} = \frac{\sum_k \frac{dN_k}{dt}}{N_{intra}} = \frac{\sum_m \rho_m S_m c_m}{\sum_m c_m V_m}. \quad (2.79)$$

Für die echte Austauschrate gilt in dieser Darstellung:

$$k_{\leftrightarrow} = \frac{1}{\tau_i} \frac{N_{\text{intra}}}{N} + \frac{1}{\tau_e} \frac{N_{\text{extra}}}{N} = \frac{2}{\tau_i} \frac{N_{\text{intra}}}{N}, \quad (2.80)$$

wobei  $N$ ,  $N_{\text{extra}}$  und  $N_{\text{intra}}$ , die gesamte, die intrazelluläre und die extrazelluläre Teilchenzahl beschreiben. Durch Verwendung von Gleichung 2.79 kann Gleichung 2.80 weiter vereinfacht werden:

$$k_{\leftrightarrow} = 2 \frac{\sum_m \rho_m S_m c_m}{\sum_m c_m V_m} \cdot \frac{N_{\text{intra}}}{N} = \frac{2}{N} \sum_m \rho_m S_m c_m = 2 \frac{N_{\text{Zelle}}}{N} \overline{\rho_m S_m c_m}. \quad (2.81)$$

Durch den Überstrich wird das Mittel über alle  $m$  Zellen repräsentiert. Die echte Austauschrate kann nun in Abhängigkeit der mittleren Permeabilität, Teilchenkonzentration und Oberfläche der Zelle ausgedrückt werden. Für den Fall von konstanter Teilchenkonzentration kann die Austauschrate auch wie folgt ausgedrückt werden:

$$k_{\leftrightarrow} = \frac{2c}{V_{\text{Total}} c} \sum_m \rho_m S_m = \frac{2}{V_{\text{Total}}} \sum_m \rho_m S_m = \frac{2N_{\text{Zelle}}}{V_{\text{Total}}} \overline{\rho_m S_m}. \quad (2.82)$$

Mit Hilfe von Gleichung 2.79 und der gleichen Argumentation kann man die AXR wie folgt ausdrücken:

$$\begin{aligned} AXR &= k_{i \rightarrow e} + k_{e \rightarrow i} = \frac{1}{\tau_i} + \frac{1}{\tau_e} = \frac{1}{\tau_i} \left( 1 + \frac{N_{\text{intra}}}{N_{\text{extra}}} \right) = \dots \\ &= \frac{\sum_m \rho_m S_m c_m}{\sum_m c_m V_m} \left( 1 + \frac{N_{\text{intra}}}{N_{\text{extra}}} \right) = \frac{\sum_m \rho_m S_m c_m}{\sum_m c_m V_m} \frac{N}{N_{\text{extra}}} = \frac{N}{N_{\text{extra}}} \frac{\overline{\rho_m S_m c_m}}{c_m V_m}. \end{aligned} \quad (2.83)$$

Analog zur echten Austauschrate lässt sich der AXR-Wert so in Abhängigkeit der mittleren Permeabilität, Teilchenzahl und Oberfläche ausdrücken. Bei konstanter Teilchendichte ergibt sich:

$$AXR = \frac{c \sum_m \rho_m S_m}{c \sum_m V_m} \frac{N}{N_{\text{extra}}} = \frac{\sum_m \rho_m S_m}{\sum_m V_m} \frac{1}{f_e} = \frac{1}{f_e} \frac{\overline{\rho_m S_m}}{\overline{V_m}} \quad (2.84)$$

Somit hängt der AXR-Wert bei konstanter Konzentration und Permeabilität nur von dem Verhältnis der mittleren Oberfläche und des mittleren Volumen ab.



## 3 Material und Methoden

Große Gedanken brauchen nicht nur Flügel,  
sondern auch ein Fahrgestell zum Landen.

*Neil Armstrong*

### 3.1 Monte-Carlo-Simulations-Tool

Das Monte-Carlo-Simulationstool wurde in MATLAB (The MathWorks, Natick, Massachusetts, USA) unter der Verwendung von CUDA-basierter [NVF20] GPU-Beschleunigung implementiert. Das Tool ermöglicht die Simulation von Zufallspfaden in verschiedenen Geometrien, welche zur Berechnung des Diffusionssignals bei Austauschraten-Messungen oder auch für die Porenbildgebung benutzt werden kann. Die Schrittweite der Teilchen beträgt  $dr = \sqrt{6Ddt}$  und wird mit Hilfe von gleichverteilten Zufallszahlen zwischen -1 und 1 für alle verwendeten Raumrichtungen skaliert. Teilchen, welche während ihrer Trajektorie auf eine Membran treffen, werden im Gegensatz zu den üblichen Implementierungen der Rejection-Methode (zu deutsch: Ablehnungsmethode), bei der solange neue Zufallszahlen generiert werden, bis der Schritt erlaubt ist, elastisch an der Membran reflektiert. Die Wahrscheinlichkeiten für einen Durchgang durch die Membran nach außen  $P_{i \rightarrow e}$  oder nach innen  $P_{e \rightarrow i}$ , werden dabei wie folgt berechnet [Fie+10; Pow+92]:

$$\begin{aligned} P_{i \rightarrow e} &= 2ds \frac{\rho}{D_i}, \\ P_{e \rightarrow i} &= 2ds \frac{\rho}{D_e}, \end{aligned} \tag{3.1}$$

$ds$  beschreibt den Abstand des Teilchens zur Membran im eindimensionalen Fall. Da die Herleitung der Wahrscheinlichkeit in [Pow+92] nur für den eindimensionalen Fall sowie für ungekrümmte Membranen gilt, muss für mehrdimensionale Geometrien nicht der Abstand zwischen dem Startpunkt der Trajektorie und dem Schnittpunkt mit der Membran, sondern der Abstand zur Tangentialebene, welche am Schnittpunkt konstruiert wird, berechnet werden. Diesem Ansatz liegt die Annahme zugrunde, dass die Schrittweite  $dr$  klein gegen die Krümmung der Geometrie ist, so dass die Membran als näherungsweise flach angesehen werden kann. Die Abstandsberechnung, sowie die Reflexion sind zum einfacheren Verständnis in Abbildung 3.1 (a) und (b) dargestellt. Für dreidimensionale

### 3 Material und Methoden

Geometrien muss im Vergleich zur Tangente für die beispielhaft gewählten Kreise in Abbildung 3.1a, die Tangentialebene konstruiert werden, um den Abstand und die Reflexion berechnen zu können. Zur Signaleberechnung wird die Position und die Schwerpunktsverschiebung für jedes Teilchen für die vier Gradienten und die Mischzeit gespeichert. Mit Hilfe dieser Schwerpunktsverschiebung lässt sich nach [MH95] das Signal berechnen. Um die echte Austauschrate mit den Theoriewerten vergleichen zu können, wurden zudem die Membranübergänge für jedes Teilchen aufgezeichnet. Die Teilchen wurden zu Beginn der Simulation zufällig über das gesamte Volumen verteilt.

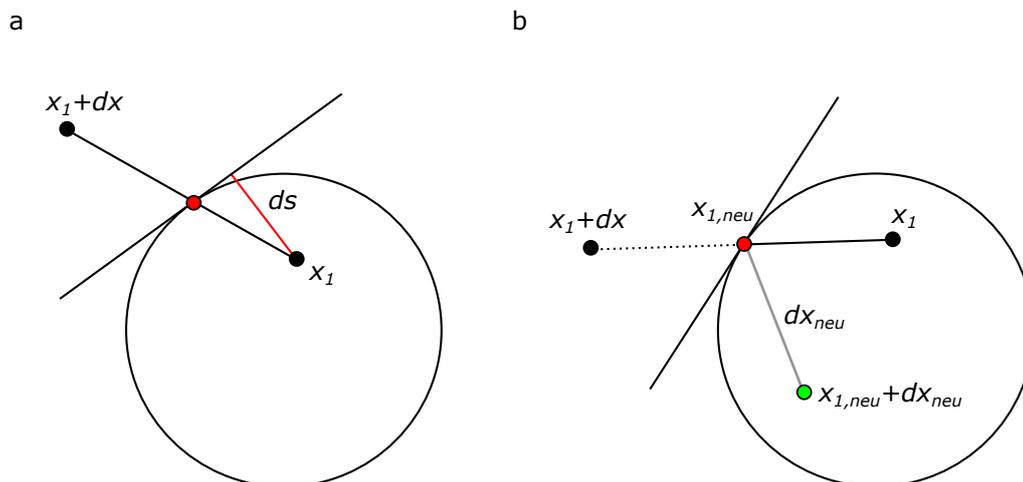


Abbildung 3.1: (a) Berechnung des Abstands  $ds$  für den mehrdimensionalen Fall und (b) schematische Darstellung der elastischen Reflexion.

#### 3.1.1 Geometrien

Die für die Simulationen verwendeten Geometrien sind in Abbildung 3.2 dargestellt. Als einfachstes Zwei-Kompartiment System wurde eine eindimensionale bi-slab-Geometrie, bei welcher sich zwischen zwei Wänden eine permeable Membran befindet, verwendet. Die Position dieser Membran kann beliebig verschoben werden und so unterschiedliche intra- und extrazelluläre Volumenanteile  $f_i$  und  $f_e$  erzeugt werden. Eine schematische Darstellung der Geometrie findet sich in Abbildung 3.2a.

Als weitere Geometrie wurden dreidimensionale, hexagonal angeordnete parallelen Zylinder (3D-Axon(Hex)) verwendet, welche mit unterschiedlichen Durchmessern der Zylinder zur groben Repräsentation von Axonen verwendet werden können. Die verwendete Einheitszelle für diese Geometrie ist in Abbildung 3.2b dargestellt.

Als vereinfachte Repräsentation von Hefezellen wurde ein dreidimensionales kubisch-flächenzentriertes Gitter mit Kugeln verwendet. Diese Geometrie findet sich in Abbildung 3.2c.

In Abbildung 3.2(d-g) sind ebenfalls parallele Zylinder aber mit zufälliger Anordnung und diskreten Zellgrößen (d-f) und einer gamma-modulierten Zellgrößenverteilung (g), bei der 95% der Durchmesser zwischen  $0.3 \mu\text{m}$  und  $1.5 \mu\text{m}$  lagen, dargestellt.

Als verbesserte Darstellung von Hefezellen wurde zudem pseudozufällig verteilte Ellipsoide verwendet (h). Dabei wird die Längsachse des Ellipsoids zufällig auf eine der Hauptachsen des Koordinatensystems gelegt.

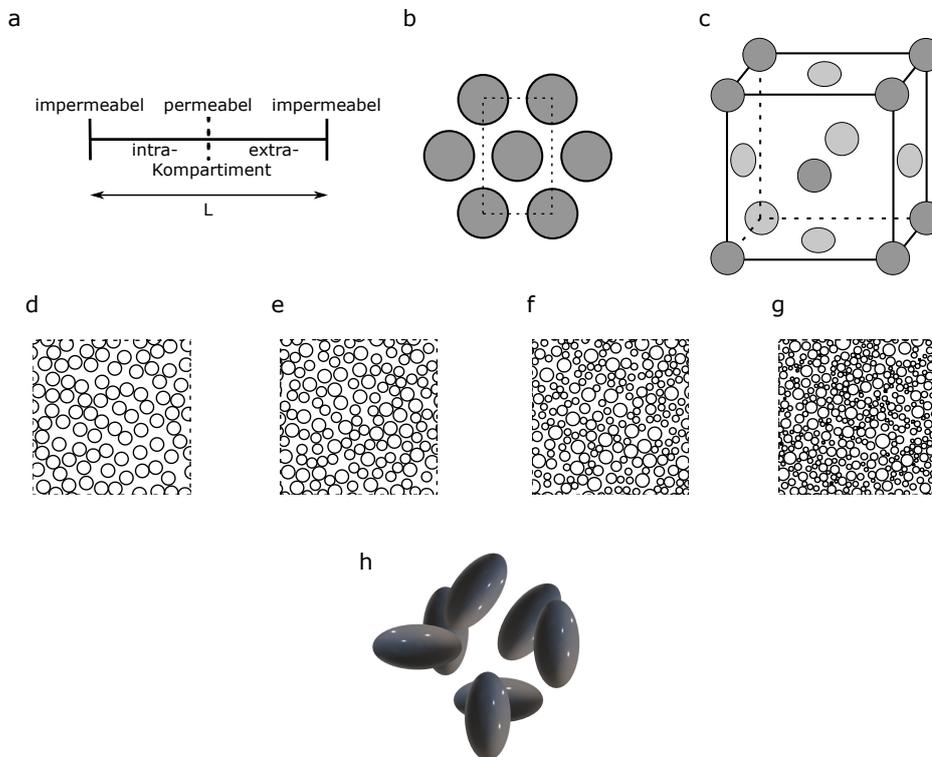


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung der Geometrien, welche für die AXR-Simulationen verwendet wurden. (a) eindimensionales 2-Kompartiment-Modell. (b) Dreidimensionale, hexagonal angeordnete Zylinder (3D-Axon(Hex)). (c) Dreidimensionale, kubisch-flächenzentrierte Kugeln (3D-Fcc). (d-g) Beispiele für zufällig angeordnete Zylinder mit ein bis drei Durchmessern (d-f) und gamma-modulierter Größenverteilung (e). (h) Pseudozufällige Verteilung von Ellipsoiden. Die gestrichelten Linien (b,c) repräsentieren jeweils eine Einheitszelle.

### 3.1.2 Generalisierung von zweidimensionalen Simulationsdaten auf 3D und Axondispersion

#### Generalisierung

Um die Rechenzeit und die Belegung von Arbeits- beziehungsweise GPU-Speicher reduzieren zu können, wurden die Simulationen bezüglich der Zylindergeometrien in dieser Arbeit nur zweidimensional ausgeführt. Um jedoch dennoch die Berechnung des Signals für beliebige dreidimensionale Gradientenrichtungen und Axondispersion zu ermöglichen

### 3 Material und Methoden

wurden diese Daten generalisiert.

Für eine dreidimensionale Zufallspfad-Simulation kann die Signalabschwächung nach [MH95] wie folgt berechnet werden:

$$S(\vec{q}_f, \vec{q}) = \left\langle e^{-i\vec{q}_f \cdot \Delta \vec{x}_{\text{cm},f}} e^{-i\vec{q} \cdot \Delta \vec{x}_{\text{cm}}} \right\rangle, \quad (3.2)$$

wobei  $\vec{q}_f$  und  $\vec{q}$  die  $q$ -Werte des Filterblocks und Ausleseblocks beschreiben.  $\Delta \vec{x}_{\text{cm},f}$  ist die Differenz der Schwerpunkte der Teiltrajektorien während der zwei Gradienten des Filterblocks.  $\vec{x}_{\text{cm}}$  ist die äquivalente Verschiebung während des Ausleseblocks. Die  $\langle \cdot \rangle$ -Notation, beschreibt die Mittelung über alle Teilchen.

Für parallele Zylinder gilt entlang der  $z$ -Achse die Annahme, dass hier freie Diffusion vorliegt. Da die Zufallsbewegungen entlang der  $z$ -Achse und der  $x$ - $y$ -Ebene für diese Geometrie unabhängig von einander sind, kann die Diffusion entlang der  $z$ -Achse durch die Gleichungen für freie Diffusion beschrieben werden:

$$S_{\text{Zylinder}}(\vec{q}_f, \vec{q}) = \left\langle e^{-i(q_{f,x}\Delta x_{\text{cm},f} + q_{f,y}\Delta y_{\text{cm},f})} e^{-i(q_x\Delta x_{\text{cm}} + q_y\Delta y_{\text{cm}})} \right\rangle e^{-\frac{q_{f,x}^2}{|\vec{q}_f|^2} b_f D_{\parallel}} e^{-\frac{q_x^2}{|\vec{q}|^2} b D_{\parallel}}, \quad (3.3)$$

wobei  $D_{\parallel}$  der freie Diffusionskoeffizient entlang der Fasern ist und  $b_f$  und  $b = b_d$  die  $b$ -Werte der beiden Diffusionswichtungen.

#### Größenverteilung

Die Größenverteilung der Axone wurde durch eine Gamma Funktion [Ass+08] moduliert:

$$w_i = \frac{a_i^{\alpha-1} e^{-\frac{a_i}{\beta}}}{\beta^{\alpha} \Gamma(\alpha)}. \quad (3.4)$$

Für die Parameter wurde  $\alpha = 8$  und  $\beta = 0.037$  gewählt, was in der in Abbildung 3.3 dargestellten Verteilung resultiert. 95% der Durchmesser liegen dabei zwischen 0.3 und 1.5  $\mu\text{m}$  [Lie+14].

#### Axon-Orientierungsdispersion

Die Signalberechnung für die Axongrößenverteilungen mit unterschiedlich ausgeprägter Dispersion (Winkelverteilung der Axonbündel) wurde mit Hilfe der von Zhang et al. im Kontext von NODDI [Zha+11; Zha+12] vorgeschlagenen Methode durchgeführt. Dabei wird das Signal von individuellen Faserbündeln über die Winkelverteilung integriert:

$$S(\vec{q}, \vec{q}_f, \kappa, \vec{\mu}) = \int \varepsilon(\vec{n}, \kappa, \vec{\mu}) S_{\text{Zylinder}}(\vec{q}_f, \vec{q}, \vec{n}) d\vec{n}. \quad (3.5)$$

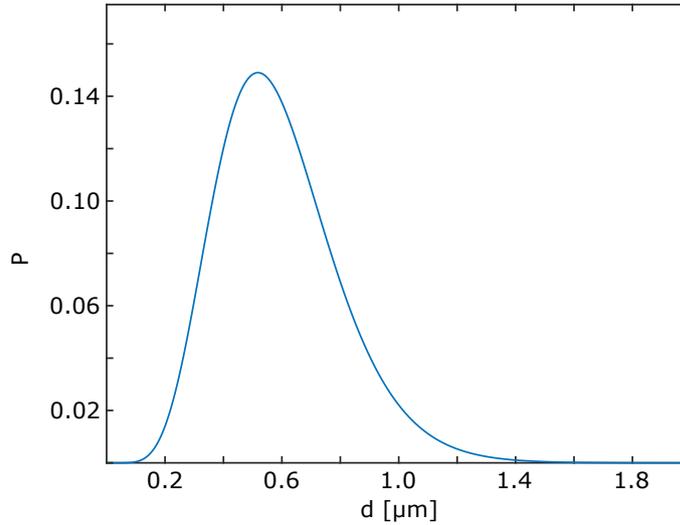


Abbildung 3.3: Wahrscheinlichkeitsverteilung für die Axondurchmesser  $d$ , welche für die 3D-Axon(Gamma)-Geometrie verwendet wurden.

$S_{\text{Zylinder}}(\vec{q}_f, \vec{q}, \vec{\mu})$  beschreibt dabei das simulierte Signal eines Bündels von parallelen Zylindern, deren Längsachse nach  $\vec{n}$  ausgerichtet ist. Durch passende Anwendung von Rotationsmatrizen kann eine numerische Integration über alle Richtungen  $\vec{n}$  durchgeführt werden. Die Winkelverteilung wird dabei über eine Watsonverteilung moduliert:

$$\varepsilon(\vec{n}, \kappa, \vec{\mu}) = M\left(\frac{1}{2}, \frac{3}{2}, \kappa\right)^{-1} e^{\kappa(\vec{\mu} \cdot \vec{n})^2}, \quad (3.6)$$

wobei  $\kappa$  die Stärke der Orientierungsdispersion beschreibt. Hohe  $\kappa$ -Werte beschreiben dabei eine geringe Dispersion (parallele Zylinder) und kleine  $\kappa$ -Werte können als Faserkreuzung betrachtet werden.  $\vec{\mu}$  bezeichnet die Hauptorientierung des Faserbündels und  $M$  ist eine Funktion, welche die Normierung gewährleistet (siehe [Zha+11], Gleichung 3). Die Generalisierung gilt nur für den Fall, dass der intra- und extrazelluläre Diffusionskoeffizient identisch ist.

### 3.1.3 Berechnung von Signalwerten bei Kompartimenten mit unterschiedlichen $T_1$ -Relaxationszeiten

Um die Berechnung der Auswirkung von unterschiedlichen intra- und extrazellulären Relaxationszeiten zu realisieren, wurden Simulationen ausgeführt, bei denen zusätzlich zur Schwerpunktsbewegung während der Gradienten und Mischzeiten auch die Aufenthaltsdauern in den jeweiligen Kompartimenten gespeichert wurden. Mit den Aufenthaltsdauern  $\xi_{\text{intra}}$  und  $\xi_{\text{extra}}$  für ein Teilchen in den jeweiligen Kompartimenten, wurde die Veränderung des Signalbeitrags der einzelnen Teilchen durch  $T_1$ -Relaxation wie folgt berücksichtigt:

$$S_{T_1}(t) = S_0 e^{-\xi_{\text{intra}}/T_{1,\text{intra}}} e^{-\xi_{\text{extra}}/T_{1,\text{extra}}}, \quad (3.7)$$

wobei  $t = \xi_{\text{intra}} + \xi_{\text{extra}}$  der Gesamtdauer, der longitudinalen Speicherung des NMR-Signals entspricht.

#### 3.1.4 Simulationsparameter

Die allgemein verwendeten und gleichbleibenden Simulationsparameter sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst. Die Anzahl der Teilchen wurde so gewählt, dass der ADC zumindest mit einer Präzision von  $10^{-3}$  bestimmt werden kann. Dies sollte sicherstellen, dass die zugrundeliegenden Simulation präzise genug sind, um eventuelle Abweichungen, der AXR-Theorie sichtbar zu machen. Durch künstliches Rician-Rauschen konnten zudem exakt einstellbare Signal-zu-Rausch Werte aus den originalen Daten erzeugt werden. Die Schrittweite  $dt$  wurde für alle Geometrien individuell gewählt, so dass die simulierte Austauschrate und somit auch der ADC für die jeweilige Geometrie das Plateaubereich erreicht hat. Die Limitierung der Mischzeiten nach unten hin wurde so gewählt, um genug Zeit für etwaige Spoilergradienten zu lassen. Nach oben wird die Mischzeit hauptsächlich durch  $T_1$ -Relaxation, sowie die zur Verfügung stehende Messzeit limitiert. Die notwendigen Zeiten für weitere Gradienten und die Refokussierungspulse wurden in der Simulation nicht berücksichtigt. Die Membranpermeabilitäten wurden so gewählt, dass sie einen breiten Bereich der bisher in der Literatur verfügbaren Werte [Iba+11; Lat+94; And+00] abdecken. Die Gleichgewichts-ADC-Werte ( $ADC_{\text{eq}}$ ) wurden durch eine Messung mit  $G_f = 0$  und mit der minimalen Mischzeit  $t_m = 10$  ms bestimmt. Es gilt zudem zu berücksichtigen, dass die angegebenen SNR-Werte sich auf eine Messung mit minimalen  $t_m$  und  $b_f = b_d = 0$  beziehen. Im Folgenden werden für die einzelnen Simulationen lediglich die Abweichungen von Tabelle 3.1 beziehungsweise zusätzliche Parameter beschrieben.

#### Apparent Exchange Rate und die echte Austauschrate

Für die eindimensionale bi-slab-Geometrie wurde eine Länge von  $L = 10 \mu\text{m}$ ,  $10^7$  Teilchen,  $D_i = 1 \mu\text{m}^2/\text{ms}$ ,  $D_e = 2 \mu\text{m}^2/\text{ms}$  und  $\rho = 0.02 \mu\text{m}/\text{ms}$  verwendet. Für 3D-Axon(Hex) und 3D-Fcc wurden Durchmesser von 2.6 beziehungsweise  $4 \mu\text{m}$  verwendet. Bei allen drei Geometrien wurde das Signal nur für eine Gradientenrichtung berechnet (x-Gradient).  $k_{\text{simuliert}}$  wurde durch Auswertung der tatsächlichen Membranübergänge der Teilchen evaluiert.

#### Geometrie- und Permeabilitätseinfluss auf die Apparent Exchange Rate

Die 3D-Axon(Hex,  $\kappa = \infty$ )- und 3D-Fcc-Geometrien wurden mit den in Tabelle 3.1 beschriebenen Simulationsparametern simuliert.

### Apparent Exchange Rate in Zellverteilungen und Axonmodellen

Die Zellgrößenverteilungen mit ein bis drei diskreten Größen 3D-Axon(Rand), sowie die gamma modulierte Größenverteilung 3D-Axon(Gamma) wurde mit den Werten aus Tabelle 3.1 simuliert. Für die Betrachtung des Effekts der Hauptorientierung des Faserbündels wurden 250 gleichmäßig verteilte Richtungen relativ zu den Gradientenrichtungen (3,6 und 30), sowie unterschiedliche Dispersionsgrade betrachtet.

### Diskrepanz des Gleichgewichts ADC ( $ADC_{eq}$ ) für Axonmodelle in der Gegenwart von Dispersion

Die 3D-Axon(Gamma,  $\kappa = 0.25$ )-Geometrie wurde mit  $f_i = 0.7$  und  $\rho = 0.0005 \mu\text{m}/\text{ms}$  und die 3D-Fcc-Geometrie mit  $f_i = 0.7$  und  $\rho = 0.0180 \mu\text{m}/\text{ms}$  simuliert.

### Einfluss des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses auf die Apparent Exchange Rate

Das hier betrachtete SNR ist für ein Bild mit  $b_f = b_d = 0$  und ohne  $T_1$ -Relaxation definiert. SNR-Werte von 75 bis 250 wurden hierfür für die 3D-Axon(Gamma) mit  $\kappa = 4$  und  $\kappa = 16$  ausgewertet.  $T_1$ -Relaxation wurde retrospektiv durch Multiplikation des Signals mit  $\exp(-t_m/T_1)$  und  $T_1 = 1 \text{ s}$  berücksichtigt. Anschließend wurde Rician-Rauschen mit dem spezifizierten SNR auf das Signal addiert.

### Abhängigkeit von intra- und extrazellulären Diffusionskoeffizienten

Die 3D-Axon(Hex)-Geometrie wurde mit  $\rho = [0.0008, 0.0023, 0.0065] \mu\text{m}/\text{ms}$ ,  $f_i = 0.6$ ,  $\kappa = \infty$  und  $\kappa = 4$  simuliert. Die unterschiedlichen intra- und extrazellulären Diffusionskoeffizienten sind innerhalb der Abbildung angegeben.

### Einfluss der Länge der Diffusionswichtungen

Die Simulationen für die 3D-Axon(Hex,  $\kappa = \infty$ )-Geometrie wurde mit  $\rho = [0.0008, 0.0023, 0.0065] \mu\text{m}/\text{ms}$  und  $f_i = 0.6$  durchgeführt. Bei der 3D-Axon(Gamma,  $\kappa = 4$ )-Geometrie wurde  $\rho = [0.0005, 0.0008, 0.0014] \mu\text{m}/\text{ms}$  und  $f_i = 0.5$  verwendet. Die AXR-Werte in Abhängigkeit der Länge der Wichtungen wurde für den Bereich  $T_f \cdot AXR = [1, \dots, 7]$  evaluiert, wobei  $T_f = T_d - 4 \text{ ms}$  beibehalten wurde.

### Auswirkung unterschiedlicher $T_1$ -Relaxationszeiten und Permeabilitätsverteilungen

Für den Einfluss der Relaxationszeiten wurden Simulationen mit  $T_1 = [0.5, 1, 2] \text{ s}$  für die 3D-Axon(Rand,  $\kappa = \infty$ )-Geometrie mit  $f_i = 0.5$  durchgeführt. Bei den Simulationen bezüglich des Einflusses von Permeabilitätsverteilungen wurde bei 0%, 50% oder 75 % der Zellen die Permeabilität auf  $\rho_{neu} = 2\rho = 0.0016 \mu\text{m}/\text{ms}$  geändert. Die erwarteten AXR- und Austauschraten-Werte wurden mit Gleichung 2.84 und 2.82 berechnet.

### *3 Material und Methoden*

#### **Apparent Exchange Rate im Hefezellen-Modell**

Die 3D-Hefe-Geometrie wurde wie in Tabelle 3.1 beschrieben simuliert.

$N_{\text{Teilchen}}$	$10^6$
$dt$ [ $\mu\text{s}$ ]	3D-Axon(Hex & Rand), 3D-Fcc: $3.2 \cdot 10^{-8}$
	1D-bi-slab: $5 \cdot 10^{-6}$
	3D-Axon(Gamma): $10^{-8}$
$t_m$ [ms]	10, 17, 28, 46, 77, 129, 215, 359, 599, 1000
$D_i = D_e$ [ $\mu\text{m}^2/\text{ms}$ ]	2.5
Mittelungen	4 (Auch für die Referenzmessungen)
$T_f$ [ms]	28
$\delta_f$ [ms]	14
$T_d$ [ms]	32
$\delta_d$ [ms]	16
$G_{f,\text{max}} = G_{d,\text{max}}$ [mT/m]	80
$b_f$ [ms/ $\mu\text{m}^2$ ]	0.840
$b_d$ [ms/ $\mu\text{m}^2$ ]	1.251
Gradientenrichtungen	30 (siehe Anhang Tabelle A.3)
$\rho$ [ $\mu\text{m}/\text{ms}$ ]	0.0005, 0.0008, 0.0014, 0.0023, 0.0039, 0.0065, 0.0108, 0.0180, 0.0300, 0.0500
Durchmesser 3D-Axon(Hex) [ $\mu\text{m}$ ]	1
Durchmesser 3D-Fcc [ $\mu\text{m}$ ]	4
Durchmesser 3D-Axon(Rand) [ $\mu\text{m}$ ]	[2], [1.05,2.4], [0.9,1.75,2.6]
Durchmesser 3D-Axon(Gamma) [ $\mu\text{m}$ ]	95% der Durchmesser zwischen 0.3 und 1.5
Achsenlänge 3D-Hefe [ $\mu\text{m}$ ]	2.725, 1.875, 1.875
Dispersionsgrade $\kappa$ für 3D-Axon(Gamma)	0.25, 1, 4, 16, 128
Packungsdichten $f_i$	
3D-Axon(Hex)	0.8, 0.6, 0.4, 0.2
3D-Fcc	0.7, 0.5, 0.3, 0.1
3D-Axon(Rand)	0.5
3D-Axon(Gamma)	0.9, 0.7, 0.5, 0.3
3D-Hefe	0.32, 0.27, 0.22, 0.17, 0.12, 0.07

Tabelle 3.1: Simulationsparameter für die Apparent Exchange Rate-Simulationen.

### 3.1.5 Implementierung der FEXI-Sequenz am Spektrometer

Für die tatsächliche Implementierung der FEXI-Sequenz am Spektrometer mussten im Vergleich zur schematischen Darstellung der Sequenz in Abbildung 2.7 ein zusätzlicher Spoiler-Gradient während der Mischzeit, sowie sogenannte „Chooser“-Gradienten (deutsch: Auswahlgradienten) zur Auswahl des korrekten Echopfades implementiert werden. Die resultierende Sequenz ist in Abbildung 3.4 dargestellt. Für den „Chooser“-Gradienten wurde bei allen Experimenten  $G_{\text{Chooser}} = 48 \text{ mT/m}$  und  $\delta_{\text{Chooser}} = 1.3 \text{ ms}$ , und für den Spoiler-Gradienten  $G_{\text{Spoiler}} = 68 \text{ mT/m}$  und  $\delta_{\text{Spoiler}} = 5.3 \text{ ms}$ , verwendet.

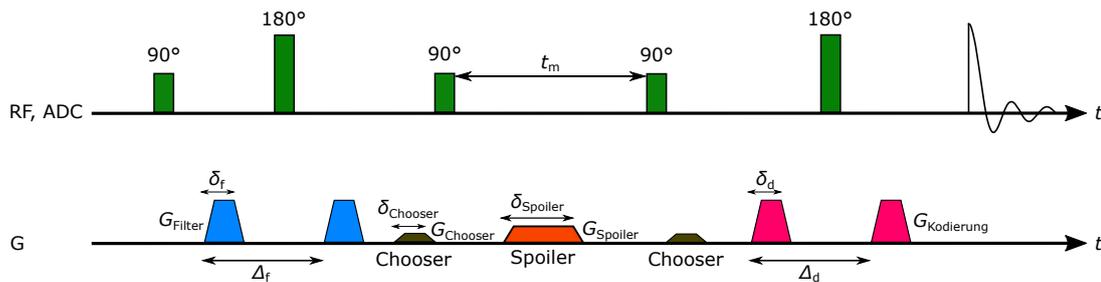


Abbildung 3.4: Implementierung der FEXI-Sequenz am 600 MHz Spektrometer.

## 3.2 Verwendete Hardware

### 3.2.1 Bruker Ultrashield AV600

Alle in dieser Arbeit durchgeführten Messungen wurden an einem Bruker 600 Ultrashield (Bruker Biospec, Ettlingen, Deutschland) durchgeführt. Die Feldstärke beträgt bei diesem Gerät 14.1 T, was in einer Protonfrequenz von  $f = 600.13 \text{ MHz}$  resultiert. Das Spektrometer, welches in Abbildung 3.5 dargestellt ist, kann mit unterschiedlichen Probenköpfen bestückt werden. Insgesamt wurden drei verschiedene Probenköpfe verwendet. Deren Eigenschaften werden im Folgenden jeweils kurz in einer Tabelle zusammen gefasst. Zur Bezeichnung der verwendeten Probenköpfe im Folgenden, sowie im Rest der Arbeit wird die kürzere, englische Variante „-Probe“ verwendet.

#### Diffusion-Probe

Eine Besonderheit der Diffusion-Probe stellt die auf Grund der hohen Gradientenamplitude notwendige Wasserkühlung des Gradienten dar. Die Diffusion-Probe, sowie die Wasserkühlungseinheit sind in Abbildung 3.6(a-b) dargestellt. Die Diffusion-Probe verfügt nur über einen z-Achsen-Gradienten mit einer maximalen Gradientenamplitude von  $G_{z,\text{max}} = 18 \text{ T/m}$ . Im Gegensatz zu den anderen Probenköpfen wird zudem die Proben temperatur nicht über das Zusammenspiel von Heizelement und temperierter Luft gesteuert, sondern direkt über die Temperatur des zur Kühlung verwendeten Wassers. Änderungen



Abbildung 3.5: Bruker 600 Ultrashield™ Spektrometer.

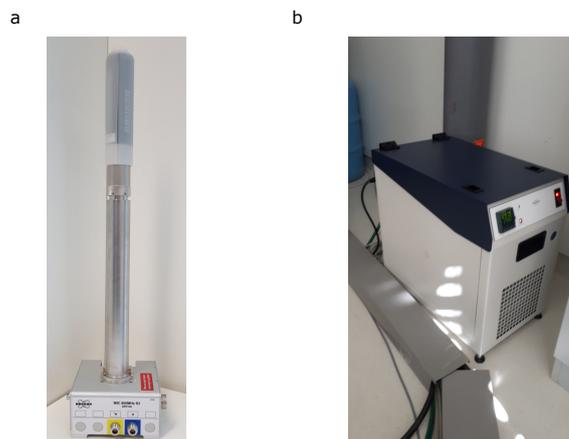


Abbildung 3.6: (a) Bruker diff30 Diffusion-Probe und (b) BCU-20 Wasserkühlungseinheit.

### 3 Material und Methoden

sind daher deutlich träger und zudem wird hierdurch der mögliche Einstellbereich limitiert. Die weiteren Eigenschaften der Diffusion-Probe finden sich in Tabelle 3.2.

HF Kanäle	1 ( $^1\text{H}$ )
Gradienten	z
Gradienten-Sensitivität [mT/Am]	300
Innen-/Außendurchmesser [mm]	19/40
Gradientenlänge [mm]	15
Induktivität [ $\mu\text{H}$ ]	250
Widerstand [ $\text{m}\Omega$ ]	1000
Gradienten-Anstiegszeit [ $\mu\text{s}$ ] von 10% auf 90% bei 40 A	< 200
Gradientenabklingzeit [ $\mu\text{s}$ ] @ Stromstärke [A]	500 @ 60
Maximale getestete Stromstärke [A]	60
Erwartete Gradientenamplitude [T/m] @ Stromstärke	12 @ 40, 18 @ 60
Maximale Belastbarkeit ( $R \cdot I^2$ ) [W]	40
Gemessene Gradientenamplitude bei 20 A	$6.3 \pm 0.3$ T/m
Maximaler Durchmesser des NMR-Röhrchens [mm]	5

Tabelle 3.2: Datenblatt der Diffusion-Probe. Entnommen aus [Zic16]

#### TXO-Probe

Eine Besonderheit der TXO-Probe gegenüber den anderen verwendeten Probenköpfen stellt die Möglichkeit der Verwendung von NMR-Röhrchen mit einem Außendurchmesser von 8 mm dar. Die TXO-Probe ist zudem mit einem z-Achsen Gradienten mit einer nominellen Amplitude von  $G_{z,\text{max}} = 0.55$  T/m ausgestattet. Die TXO-Probe ist in Abbildung 3.7a dargestellt.

#### TBI-Probe

Die TBI-Probe weist als einziger der verwendeten Probenköpfe ein Dreiachsen-Gradientensystem auf. Damit konnten mit der TBI auch zweidimensionale Porenbildgebungsexperimente durchgeführt werden. Die nominellen Amplituden für die x- und y-Achse betragen dabei  $G_{x,y,\text{max}} = 0.5$  T/m und für die z-Achse  $G_{z,\text{max}} = 0.65$  T/m. Eine Darstellung der TBI-Probe findet sich in Abbildung 3.7b.



Abbildung 3.7: (a) Bruker TXO-Probe und (b) Bruker TBI-Probe.

HF Kanäle	4 ( $^1\text{H}$ , $^2\text{H}$ , $^{31}\text{P}$ , $^{13}\text{C}$ )
Gradienten	x,y,z
Erwartete Gradientenstärke in z [T/m]	0.55
Gemessene Gradientenamplitude in z	$0.56 \pm 0.04$ T/m
Maximaler Durchmesser des NMR-Röhrchens [mm]	8

Tabelle 3.3: Datenblatt der TXO-Probe.

HF Kanäle	4 ( $^1\text{H}$ , $^2\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , BB)
Gradienten	x,y,z
Erwartete Gradientenstärke [T/m]	x: 0.5, y: 0.5, z 0.65
Gemessene Gradientenamplitude in x	$0.5 \pm 0.04$ T/m
Gemessene Gradientenamplitude in y	$0.5 \pm 0.04$ T/m
Gemessene Gradientenamplitude in z	$0.68 \pm 0.04$ T/m
Maximaler Durchmesser des NMR-Röhrchens [mm]	5

Tabelle 3.4: Datenblatt der TBI-Probe.

### 3.3 Gradientenkalibrierungsphantom

Zur Bestimmung der Gradientenamplitude in z-Richtung wurde eine frequenzkodierte, eindimensionale Spinecho-Aufnahme verwendet. In Abbildung 3.8 sind die verwendete Vorrichtung (a), welche einen möglichst genauen Abstand und Durchmesser der Bohrungen erlaubt, sowie die Phantome (b), dargestellt. Die Vorrichtung kann dazu verwendet werden um Phantome mit einem Lochdurchmesser von  $d = 1 \text{ mm}$  und  $d = 0.5 \text{ mm}$ , sowie einem Abstand zwischen den Löchern von  $\Delta x = 1 \text{ cm}$  und  $\Delta x = 0.5 \text{ cm}$  herzustellen. Dazu wird ein Acrylstab mit einem Durchmesser von 4 mm in der Vorrichtung arretiert und anschließend können die Löcher präzise mit einer Ständerbohrmaschine gebohrt werden. Nach erfolgter Messung mit der in Abbildung 3.9a schematisch dargestellten Sequenz kann mit Hilfe der folgenden Gleichung aus dem Frequenzabstand der beiden Peaks, welche mit den Bohrungen korrespondieren und schematisch in Abbildung 3.9b dargestellt sind, die maximale Gradientenamplitude wie folgt berechnet werden:

$$G_{\max} [\text{T/m}] = \frac{\Delta f [\text{kHz}]}{4.258 \cdot \Delta x [\text{cm}]} \frac{1}{G [\%]} \quad (3.8)$$

Das gleiche Verfahren kann auch für die Bestimmung der x- und y- Gradienten benutzt werden, hier muss lediglich für  $\Delta x$  der Innendurchmesser des verwendeten NMR-Röhrchens von  $\Delta = 0.4 \text{ cm}$  benutzt werden. Im Vergleich zur Bestimmung über den Diffusionskoeffizienten weist diese Messung keine starke Abhängigkeit von der Temperatur auf und wird nur durch die Genauigkeit des Abstandes und des Durchmessers der Bohrungen limitiert.

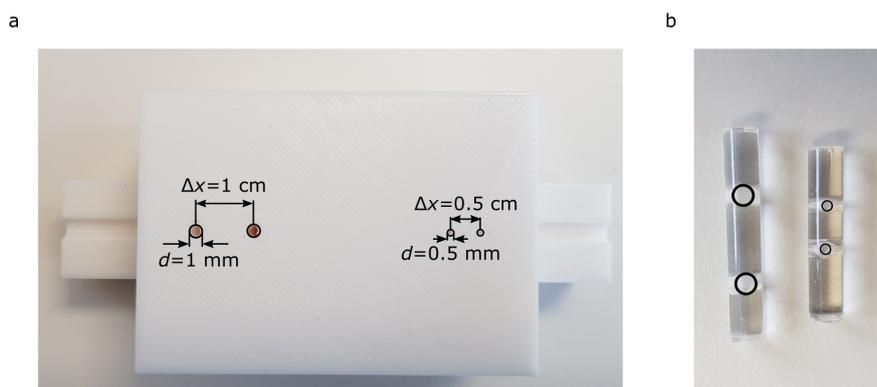


Abbildung 3.8: (a) Vorrichtung zur Herstellung der Gradientenkalibrierungsphantome mit unterschiedlichem Abstand und Durchmesser der Bohrungen. (b) Resultierende Phantome für beide Möglichkeiten.

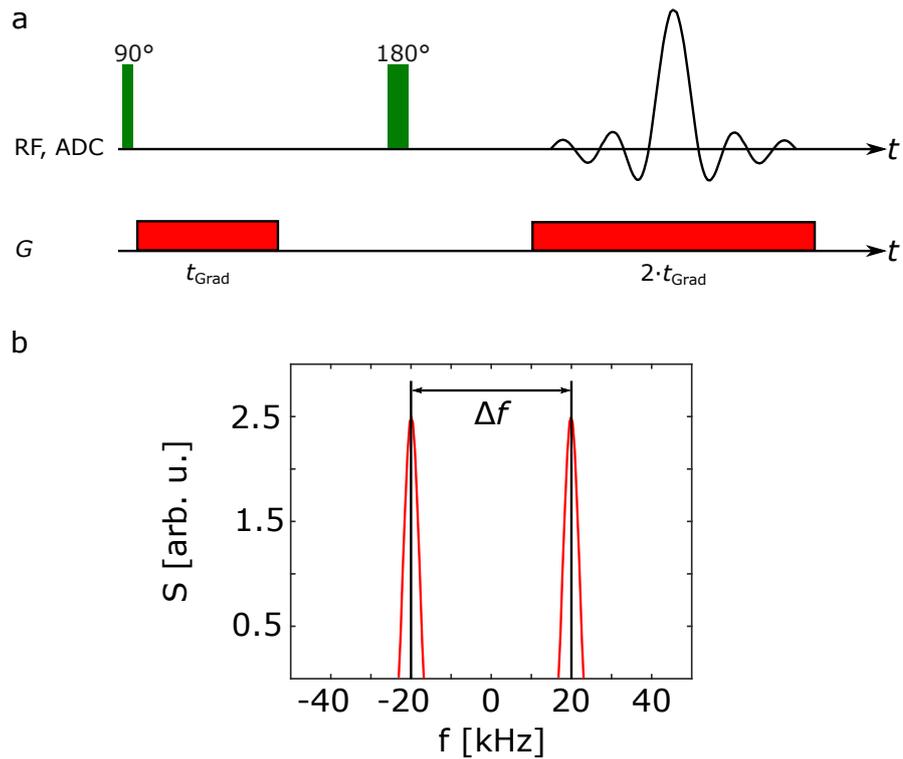


Abbildung 3.9: (a) Verwendete Spinecho-Sequenz zur Bestimmung der Gradientenamplitude. (b) Schematische Darstellung des für die Phantome resultierenden eindimensionalen Bildes.

### 3.4 Glaskapillaren

Für die Porenbildungs-Experimente wurden Silikatglaskapillaren von Polymicro (molex, Lisle, Vereinigte Staaten von Amerika), welche im Folgenden als Glaskapillaren bezeichnet werden, verwendet. In Abbildung 3.10a ist der schematische Aufbau der Glaskapillaren dargestellt. Eine exemplarische echte Glaskapillare im Größenvergleich mit einer 1-Cent Münze findet sich in Abbildung 3.10b. In dieser Arbeit wurden verschiedene Kombinationen aus  $d_{\text{außen}}$  und  $d_{\text{innen}}$  verwendet. Zur einfacheren Übersicht sind die verschiedenen Kapillaren in Tabelle 3.5 zusammengefasst. Durch Verwendung von Kapillaren mit einem Außendurchmesser  $d_{\text{außen}} = 150 \mu\text{m}$ , konnte das effektiv detektierbare Volumen deutlich erhöht werden, da etwa 5 mal so viele Kapillaren im gleichen Volumen untergebracht werden können. Allerdings wird die Handhabung der Kapillaren dadurch massiv erschwert, zudem sind nicht alle Innendurchmesser mit dem kleineren Außendurchmesser verfügbar.

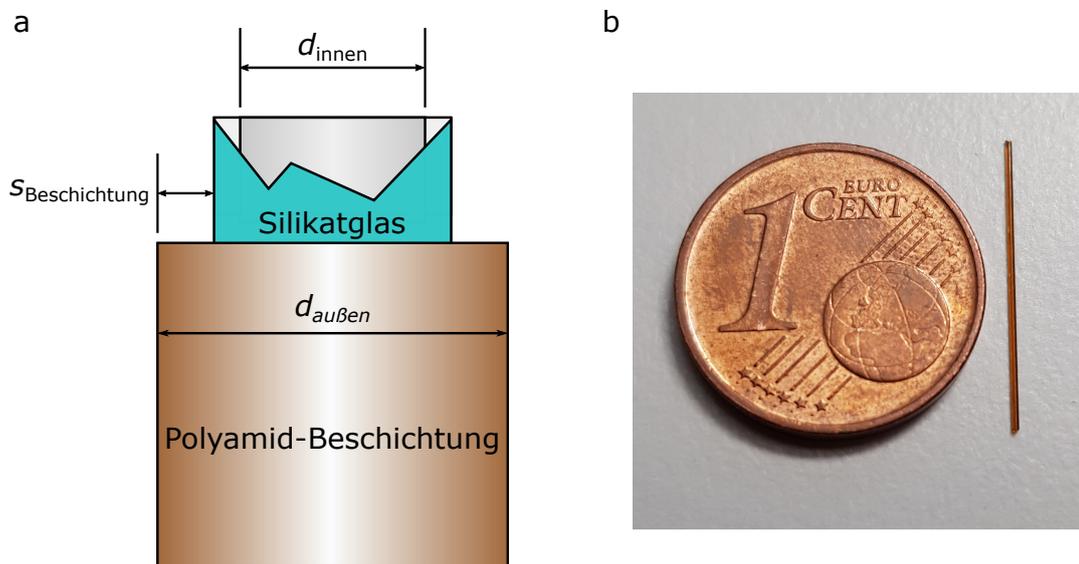


Abbildung 3.10: (a) Schematischer Aufbau der Glaskapillaren. (b) Größenvergleich einer Kapillare mit  $d_{\text{außen}} = 360 \mu\text{m}$  mit einer 1-Cent Münze.

$d_{\text{innen}} [\mu\text{m}]$	$25 \pm 2$	$25 \pm 2$	$15 \pm 2$	$15 \pm 2$	$10 \pm 2$
$d_{\text{außen}} [\mu\text{m}]$	$360 \pm 10$	$150 \pm 6$	$360 \pm 10$	$150 \pm 6$	$360 \pm 10$
$s_{\text{Beschichtung}} [\mu\text{m}]$	20	12	20	12	20

Tabelle 3.5: Verwendete Glaskapillaren.

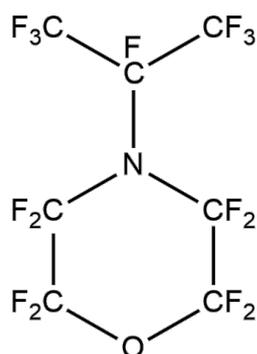


Abbildung 3.11: Strukturformel von Perfluoro(N-Iso-Propylmorpholin), Fluorinert™FC-770.

### 3.4.1 Fluorinert™FC-770

Fluorinert™ wurde zur Verdrängung des extraporalen Wasser verwendet, da dieses im Vergleich zu Wasser eine wesentlich höhere Dichte von  $\rho = 1.79 \text{ g/ml}$  aufweist. Des weiteren weist FC-770 kein Protonensignal auf, was für die Verwendung als extraporales Fluid in den Porenbildgebungs-Experimenten von Vorteil war. FC-770 wird auch als Perfluoro(N-Iso-Propylmorpholin) bezeichnet und weist die Summenformel  $\text{C}_7\text{F}_{15}\text{NO}$  auf. Die Strukturformel ist in Abbildung 3.11 dargestellt.

### 3.4.2 Kapillaren-Phantome

Wie auch die Gradientenkalibrierungsphantome, wurden die Halterungen für die Glaskapillaren aus Acrylglas hergestellt. Hierzu wurde in das Acrylglas ein Loch mit einem Durchmesser von  $d_{\text{Loch}} = 1 \text{ mm}$  gebohrt. In diese Aussparung können je nach verwendetem Außendurchmesser der Kapillaren entweder 20 oder 100 Kapillaren mit einer Länge von 3.5 mm gestapelt werden. Eine schematische Darstellung der Halterung ist in Abbildung 3.12a dargestellt. Eine tatsächlich verwendete Halterung, welche mit Kapillaren gefüllt ist, findet sich in Abbildung 3.12b. Hier wurde zusätzlich zur Acrylhalterung noch ein Teflonstopfen als Sicherung gegen Verrutschen eingesetzt. Das restliche Volumen wurde je nach Anwendungszweck entweder mit Fluorinert™(FC-770, Sigma-Aldrich) oder mit 5-molarer NaCl-Lösung aufgefüllt. Bei Messungen von Glaskapillaren in x- und y-Richtung wurden die Kapillaren auf eine Länge von 25 mm gekürzt und anschließend als bereits gepacktes Bündel in das NMR-Röhrchen geschoben. Eine schematische Darstellung der Kapillarenphantome mit paralleler Ausrichtung zum Hauptmagnetfeld findet sich in Abbildung 3.12c.

### 3.4.3 Suzeptibilitätsanpassung

Bei Verwendung der Kapillarenphantome für Experimente in z-Richtung treten auf Grund der unterschiedlichen magnetischen Suszeptibilität der verwendeten Materialien Sprünge im Magnetfeld auf. Während Wasser, Polyamid und Fluorinert™ähnliche magnetische

### 3 Material und Methoden

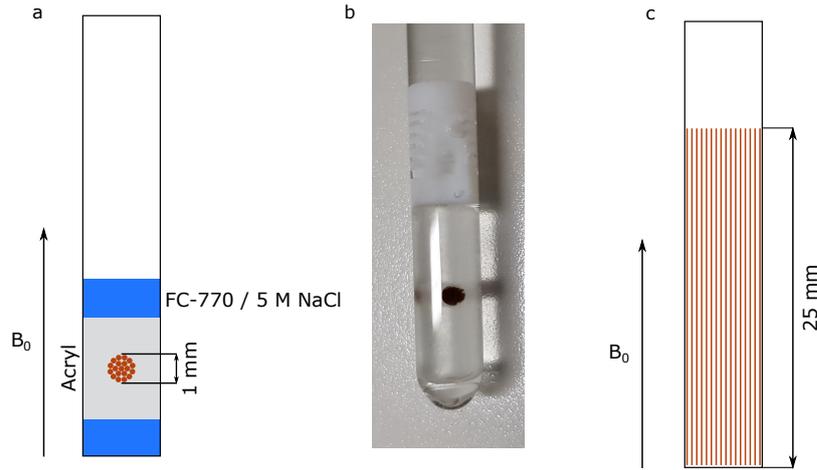


Abbildung 3.12: (a) Schematischer Aufbau der z-Porenphantome. (b) Exemplarisches echtes z-Porenphantom. (c) Schematische Darstellung der Porenphantome für die x- und y-Richtung.

Suszeptibilitäten aufweisen, liegt Quarzglas etwa eine Größenordnung darüber (siehe Tabelle 3.6). Für den Suszeptibilitätsunterschied zwischen Quarzglas und Wasser ergibt sich:

$$\Delta\chi' = \chi'_{\text{Glas}} - \chi'_{\text{Wasser}} = -2.2422 \times 10^{-6}. \quad (3.9)$$

Durch Verwendung einer Salzlösung kann die Suszeptibilität von Wasser an die von Glas angepasst werden. Die Suszeptibilität von Lösungen kann wie folgt berechnet werden:

$$\chi'_{\text{Lösung}} = \frac{m_{\text{NaCl}}}{m_{\text{NaCl}} + m_{\text{H}_2\text{O}}} \chi'_{\text{NaCl}} + \frac{m_{\text{H}_2\text{O}}}{m_{\text{NaCl}} + m_{\text{H}_2\text{O}}} \chi'_{\text{H}_2\text{O}}, \quad (3.10)$$

wobei  $\chi'_i$  die jeweilige Volumen-Suszeptibilität im SI-System wiedergibt. Durch Umstellen der Gleichung und Einsetzen der magnetischen Suszeptibilität von Glas kann die notwendige Masse  $m_{\text{NaCl}}$  berechnet werden:

$$m_{\text{NaCl}} = \frac{m_{\text{H}_2\text{O}} (\chi'_{\text{H}_2\text{O}} - \chi'_{\text{Glas}})}{\chi'_{\text{Glas}} - \chi'_{\text{H}_2\text{O}}}. \quad (3.11)$$

Mit den Werten aus Tabelle 3.6 erhält man für die Anpassung der Suszeptibilität mit Hilfe von NaCl die notwendige Masse  $m_{\text{NaCl}} = 81.6$  g für 100 ml Wasser. Die maximale Löslichkeit von NaCl bei 20°C liegt jedoch bei 359 g/l Wasser [Wes+10]. Zur Befüllung der Kapillaren wurde daher eine 5-molare NaCl Lösung, dies entspricht 350 g/l Wasser, verwendet. Der restliche Suszeptibilitätsunterschied beträgt dann:

$$\Delta\chi'_{\text{neu}} = \chi'_{\text{Glas}} - \chi'_{5 \text{ M NaCl}} = -9.4877 \times 10^{-7}. \quad (3.12)$$

Während sich die Suszeptibilitätsunterschiede durch die Anpassung nicht vollständig ausgleichen lassen, reduziert sich die Auswirkung im Vergleich zwischen Gleichung 3.9 und 3.12 zumindest um einen Faktor 2.3. Durch die erhöhte Leitfähigkeit der NaCl-Lösung kommt es aber zu einer Reduktion der effektiven Sensitivität der Empfangsspule und damit zu einem Signalverlust. Auf Grund des hohen Grundsignals, sowie nahezu unbegrenzter Messzeit am Spektrometer stellte diese Einschränkung bei den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen aber kein Problem dar.

Material	T [°C]	Volumen-Suszeptibilität (SI) $\chi'$
Wasser	20	$-9.035 \times 10^{-6}$
Quarzglas	22	$-1.128 \times 10^{-5}$
Polyamid	20	$-8.9189 \times 10^{-6}$
Fluorinert™	20	$-9.036 \times 10^{-6}$
NaCl	20	$-1.4027 \times 10^{-5}$

Tabelle 3.6: Suszeptibilitätswerte der verwendeten Materialien. Entnommen aus [Lid07].

### 3.5 Porenbildgebungs-Sequenzen

Zur Messung des Porensignals wurden in dieser Arbeit insgesamt drei verschiedenen Sequenzen verwendet. Auf Grund von magnetischen Inhomogenitäten, Gleichstromversätzen und  $T_2$ -Relaxation ist es im Allgemeinen nicht möglich, eine direkte Messung des Lang-Kurz-Gradientenschemas (vgl. Abb. 2.5) bei Wasser-Porenbildgebung zu verwenden. Aus diesem Grund wurden verschiedene Ansätze verfolgt, um diese Limitierung zu umgehen. Die Implementierungen sind grundsätzlich ähnlich zu denen in [HHG13; Her+15; HHG15; Ber+17], weisen aber spezifische Änderungen auf. Prinzipiell muss für die Implementierungen nur die Bedingung  $q_L = \gamma G_L \delta_L = \gamma G_S \delta_S = q_S$  (siehe Kapitel 2.5) erfüllt sein. In den folgenden Abbildungen werden die langen Gradienten jeweils in schwarz dargestellt und die kurzen in grau.

#### Spinecho-Lang-Kurz-Implementierung

Bei der ersten Variante wurden sowohl der lange, als auch der kurze Gradient um einen  $180^\circ$ -Puls herum aufgespalten. Durch diese Aufspaltung ist die Messung unanfällig gegenüber Gleichstromversätzen des Gradientenverstärkers. Eine schematische Darstellung des verwendeten Gradientenschemas ist in Abbildung 3.13 abgebildet. Sowohl für den langen, als auch den kurzen Gradienten wurde  $\varepsilon = 0.3$  ms gewählt. Die notwendigen Gradientenabklingzeiten, sowie die „unblanking“-Zeiten des Gradienten (hierbei handelt es um die Totzeit zwischen öffnen des Gradienten und der frühestmöglichen Ausgabe

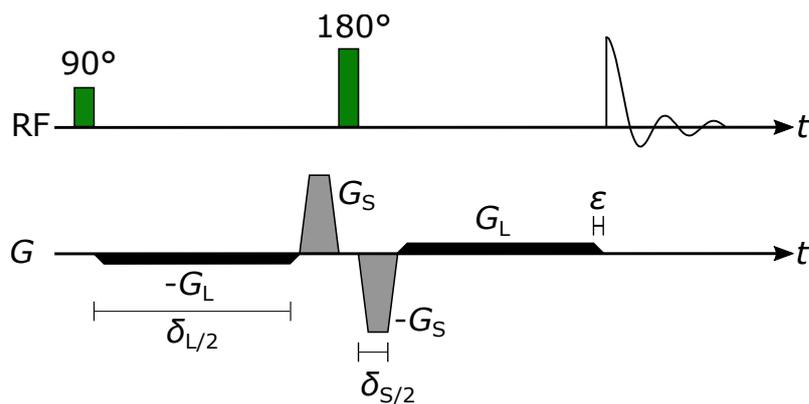


Abbildung 3.13: Schematische Darstellung der Spinecho-Lang-Kurz-Implementierung.

eines Gradientensignals) sind hierbei nicht eingezeichnet, bewirken aber eine effektive Verlängerung des kurzen Gradienten um etwa 1.2 ms.

### CPMG-Lang-Kurz-Implementierung

Als weitere Implementierung des Lang-Kurz-Schemas wurde eine CPMG-artige Sequenz gewählt [CP54; MG58]. Diese ist an die Version von [HHG13; Her+15; HHG15] angelehnt, verzichtet aber auf die Aufspaltung des kurzen Gradienten zugunsten einer kürzeren effektiven Gradientendauer. Eine schematische Darstellung des Gradientenschemas findet sich in Abbildung 3.14. Auf Grund der erhöhten Anzahl an 180°-Pulsen war es zudem notwendig, dass in Tabelle 3.7 aufgelistete Phasecycling zu verwenden, um unerwünschte Echopfade zu unterdrücken. Sowohl für den langen, als auch den kurzen Gradienten wurde  $\epsilon = 0.3$  ms gewählt. Für die effektive Gesamtlänge des langen Gradienten  $\Delta_L$  zur Berechnung des  $q$ -Wertes gilt:

$$\delta_L = (2n + 1)\delta_1. \quad (3.13)$$

ph <sub>1</sub> [°]	0	90	180	270	0	90	180	270	0	90	180	270	0	90	180	270
ph <sub>2</sub> [°]	90	0	90	0	270	180	270	180	90	0	90	0	270	180	270	180
ph <sub>3</sub> [°]	90	0	90	0	270	180	270	180	270	180	270	180	90	0	90	0
ph <sub>31</sub> [°]	180	270	0	90	180	270	0	90	180	270	0	90	180	270	0	90

Tabelle 3.7: Verwendetes Phasecycling für die CPMG-Lang-Kurz-Sequenzen.

### CPMG-Lang-Kurz-Implementierung mit Filter

Um Porenbildgebung in der Gegenwart von extraporialem Fluid zu ermöglichen, wurde vor der eigentlichen Lang-Kurz-Implementierung zusätzlich ein Filtergradient, welcher

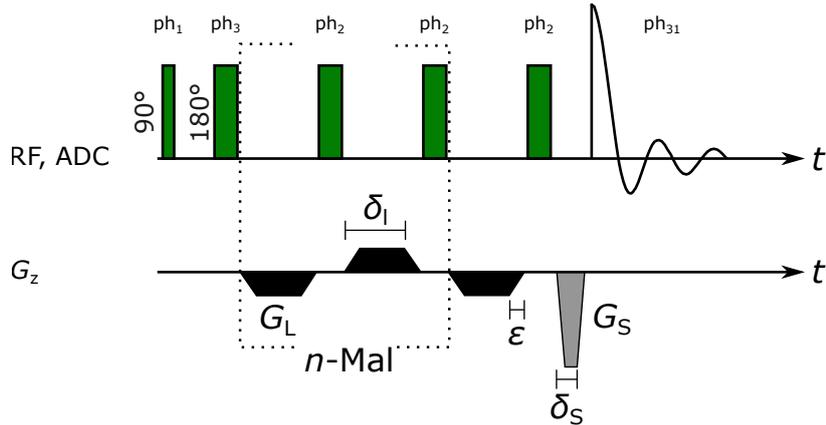


Abbildung 3.14: Schematische Darstellung der CPMG-Lang-Kurz-Implementierung.

das extraporiale Kompartiment unterdrücken soll, eingebaut. Eine schematische Darstellung findet sich in Abbildung 3.15. Es bestehen zwei mögliche Implementierungen des Filters, wobei Methode 2 (blaue Gradienten) in einer längeren effektiven Diffusionszeit  $\Delta_L$  im Vergleich zu Methode 1 (rote Gradienten) resultiert, und damit nach [DLK14] zu einem besseren Ergebnis führen sollte. Die Basis bildet auch hier die zuvor beschriebene CPMG-Lang-kurz-Implementierung.

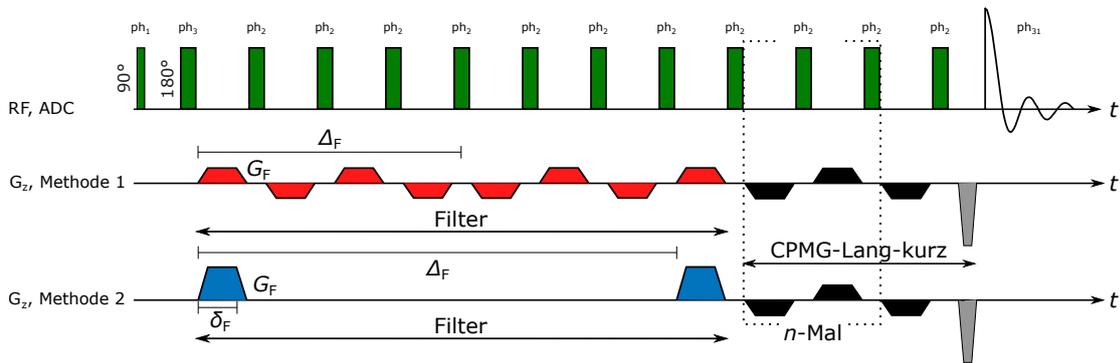


Abbildung 3.15: Schematische Darstellung der CPMG-Lang-Kurz-Implementierung mit vorgeschaltetem Filter.

### 3.6 Kompensation von Gradientenimperfektionen

Bei der Verwendung der Diffusion-Probe war es notwendig, eine Korrektur für Gradientenimperfektionen einzuführen, um eine vollständige Rephasierung des Signals zu ermöglichen. Diese Imperfektionen beinhalten Gleichstromversätze des Gradientenverstärkers, sowie das limitierte Raster des Gradientenverstärkers von 16 bit. Zudem konnten

### 3 Material und Methoden

bei Betrachtung der Ausgabe des Verstärkers mit Hilfe eines Oszilloskops, Oszillationen auf den eigentlichen flachen Bereichen der Gradienten festgestellt werden. Diese Oszillationen sind in Abbildung 3.16a dargestellt. Die Limitierung des Gradientenrasters ist vor allem von Belang, da zwischen dem kurzen und dem langen Gradienten ein deutlicher Unterschied in der Amplitude existiert. Die Anstiegszeit der Gradienten  $\varepsilon$  wurde für beide Gradienten gleich gewählt und die limitierte Abstufung resultiert dann in einer fehlerhaften Fläche unter dem Gradienten (siehe Abbildung 3.16b), was wiederum den  $q$ -Wert und damit die Rephasierung beeinflusst. Um die limitierte Auflösung und den Gleichstromversatz zu kompensieren wurde ein Skript erstellt, welches diese Abweichungen durch Veränderung der Länge des kurzen Gradienten theoretisch ausgleicht. Die resultierende Kurve für einen nominellen Gradienten mit  $\delta_s = 2.31$  ms ist in Abbildung 3.16c als blaue Kurve dargestellt. Anhand dieser Richtwerte wurde anschließend eine Optimierung der Signalintensität in einem Bereich von 0.1 ms um den berechneten Wert durchgeführt. Die so optimierten Längen in Abhängigkeit des  $q$ -Wertes sind ebenfalls in Abbildung 3.16c, als orange Kreise dargestellt.

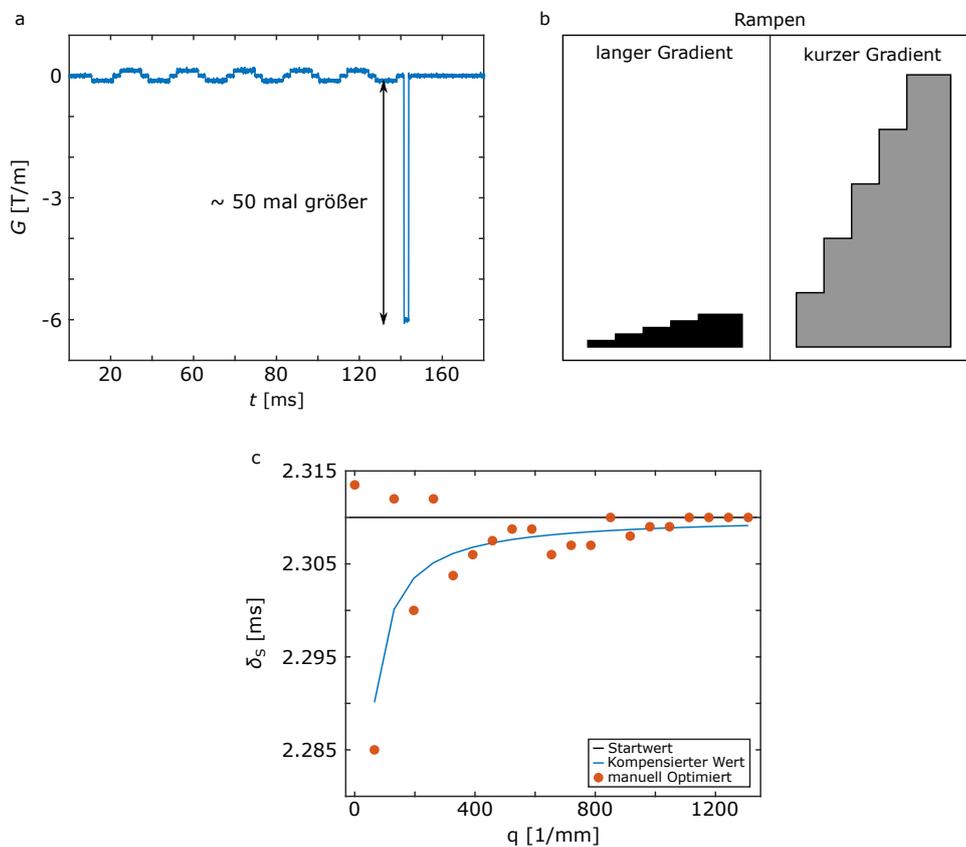


Abbildung 3.16: (a) Dynamischer Unterschied zwischen langem und kurzen Gradienten. (b) Auflösungsprobleme des langen Gradienten auf Grund der limitierten Gradientenrasters. (c) Optimierte Werte für  $\delta_s$  zur Kompensation dieser Probleme.

## 3.7 Polymerisierte Hohlkugeln

Als Alternative zu den Glaskapillaren als Porenbildgebungs-Phantome wurden in dieser Arbeit auch polymerisierte Hohlkugeln als realistischere Porenphantome verwendet. Eine genaue Anleitung zur Herstellung, sowie weiterreichende Informationen zu den chemischen Grundlagen und Prozessen finden sich in [Van+17; Mid+19; Sil+18; Sac+13]. Im Folgenden soll nur auf die schematische Herstellung der Hohlkugeln eingegangen werden.

### Herstellung

Zur Herstellung der polymerisierten Hohlkugeln werden folgende Reagenzien benötigt:

- TPM-Monomer (3-(Trimethoxysilyl)propylmethacrylat) ( $\geq 98\%$ , Sigma-Aldrich)
- Ammoniakwasser (25%)
- 83 mM NaOH
- 2-Hydroxy-2-methylpropiophenon (97%, Sigma-Aldrich)

Es gilt zu beachten, dass die Herstellung der Hohlkugeln starken Schwankungen unterlag und mitunter mehrmals wiederholt werden musste, um das gewünschte Ergebnis zu liefern. Die eigentliche Herstellung läuft wie folgt ab und orientiert sich an der in [Van+17] dargestellten Methode:

1. Zunächst wird eine Ammoniak-Lösung mit  $\text{pH} > 9$  benötigt. Hierzu werden 125  $\mu\text{l}$   $\text{NH}_3$  (25%) mit 100 ml deionisiertem Wasser gemischt. Anschließend werden 0.5 ml TPM-Monomer hinzugegeben und für eine Stunde bei 700 RPM gerührt. Nach jeweils einer Stunde werden 1 ml zusätzliches TPM-Monomer zur Lösung hinzugegeben. Dieser Schritt wird wiederholt bis die TPM-Tröpfchen die gewünschte Größe erreicht haben. Durch Verwendung von 5 ml TPM-Monomer lassen sich auf diese Art und Weise etwa 4  $\mu\text{m}$  große Tröpfchen herstellen.
2. Anschließend wird die Lösung bei 1500 RPM für 5 min zentrifugiert, um ein Absetzen der Tröpfchen aus der eigentlichen Lösung zu erreichen.
3. Die so gewonnenen TPM-Tröpfchen werden nun für 45 min in einer neu angesetzten Ammoniak-Lösung mit dem oben genannten pH-Wert gehärtet.
4. Durch erneutes Zentrifugieren bei 1500 RPM für 5 min werden erneut die Tröpfchen von der Lösung separiert.
5. Die gewonnenen TPM-Tröpfchen werden nun in 4.32 ml NaOH (23%) und 100 ml deionisiertem Wasser gelöst. Um die Polymerisierung zu beschleunigen, werden 100  $\mu\text{l}$  2-Hydroxy-2-methylpropiophenon (97%, Sigma-Aldrich) verwendet, welches unter UV-Licht als Katalysator für eine radikalische Polymerisation fungiert.

### 3 Material und Methoden

Die Lösung wurde anschließend für 30 min mit UV-Licht bestrahlt, um die Vernetzung der Kugelhülle zu ermöglichen. Bei zu langer Bestrahlung bilden sich jedoch unerwünschte solide Kugeln.

6. Anschließend wird die Lösung erneut zentrifugiert, um die polymerisierten Kugeln von der restlichen Lösung zu trennen. Durch wiederholtes Waschen mit Wasser und Zentrifugieren kann sichergestellt werden, dass außerhalb der Kugeln nur noch Wasser, beziehungsweise das gewünschte Medium zu finden ist. Die Kugeln setzen sich über Nacht innerhalb des NMR-Röhrchens mit einer sehr hohen Dichte ab [Sil+18], das überflüssige extraporiale Fluid kann dann mit Hilfe einer Spritze entfernt werden.

Die so hergestellten Kugeln haben eine feste Außenhülle und einen flüssigen Kern. Dieser besteht weitestgehend aus Wasser, TPM-Monomer,  $\text{NH}_3$  und  $\text{NaOH}$  und weißt daher einen geringen internen Diffusionskoeffizienten auf [Sil+18]. Eine Lichtmikroskop-Aufnahme der so polymerisierten Hohlkugeln mit einem Außendurchmesser von  $3.3 \mu\text{m}$  findet sich in Abbildung 3.17.

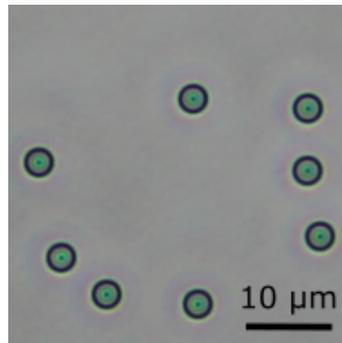


Abbildung 3.17: Lichtmikroskop-Aufnahme der polymerisierten Hohlkugeln mit  $d_{\text{außen}} = 3.3 \mu\text{m}$ .

## 4 Ergebnisse

Achtung! Jetzt gibt es nur zwei Möglichkeiten:  
Entweder es funktioniert oder es funktioniert nicht.

*Lukas der Lokomotivführer  
in Jim Knopf und Lukas der Lokomotivführer  
Michael Ende*

### 4.1 Porenbildgebung

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der Übertragung der Porenbildgebung auf mikroskopische Phantome am 14.1 T-Spektrometer unter Verwendung verschiedener Gradientensysteme vorgestellt.

#### 4.1.1 Charakterisierung der Gradienteneigenschaften

##### Bestimmung der Linearitätsgrenzen

Für die Diffusion-Probe ist eine Gesamtlänge des Gradienten von 15 mm seitens von Bruker angegeben. Der lineare Bereich der Diffusion-Probe beträgt laut Datenblatt 10 mm. Die Angaben wurden mit Hilfe eines NMR-Röhrchens, welches mit einer 30 mm hohen Wassersäule gefüllt wurde, überprüft. Unter- und oberhalb der Wassersäule wurden für eine scharfe Begrenzung Teflonscheiben verwendet. Die resultierenden eindimensionalen Bilder sind in Abbildung 4.1a, ebenfalls für die TBI-Probe, dargestellt. Das verwendete Phantom ist schematisch in Abbildung 4.1b abgebildet.

Der lineare Bereich der Diffusion-Probe zeigt einen minimalen Abfall der Gradientenstärke hin zu negativen z-Werten. Insgesamt zeigt sich jedoch eine sehr gute Gradientenlinearität über einen Bereich von mehr als 10 mm, welcher den Spezifikationen entspricht (siehe Tabelle 3.2). Der unscharf-begrenzte Abfall an den Seiten hängt mit dem Ende des Gradienten in diesen Bereichen zusammen, insbesondere in den Randbereichen des Phantoms. Dem gegenüber steht eine extreme Nichtlinearität der TBI-Probe über den gesamten Bereich. Insgesamt muss die Ausdehnung des Gradientensystems jedoch deutlich größer als diejenige des hier verwendeten Phantoms von 30 mm Länge sein. Die genauen Spezifikationen liegen hierfür leider nicht vor.

Bei den folgenden Experimenten in z-Richtung wurde daher darauf geachtet, möglichst

## 4 Ergebnisse

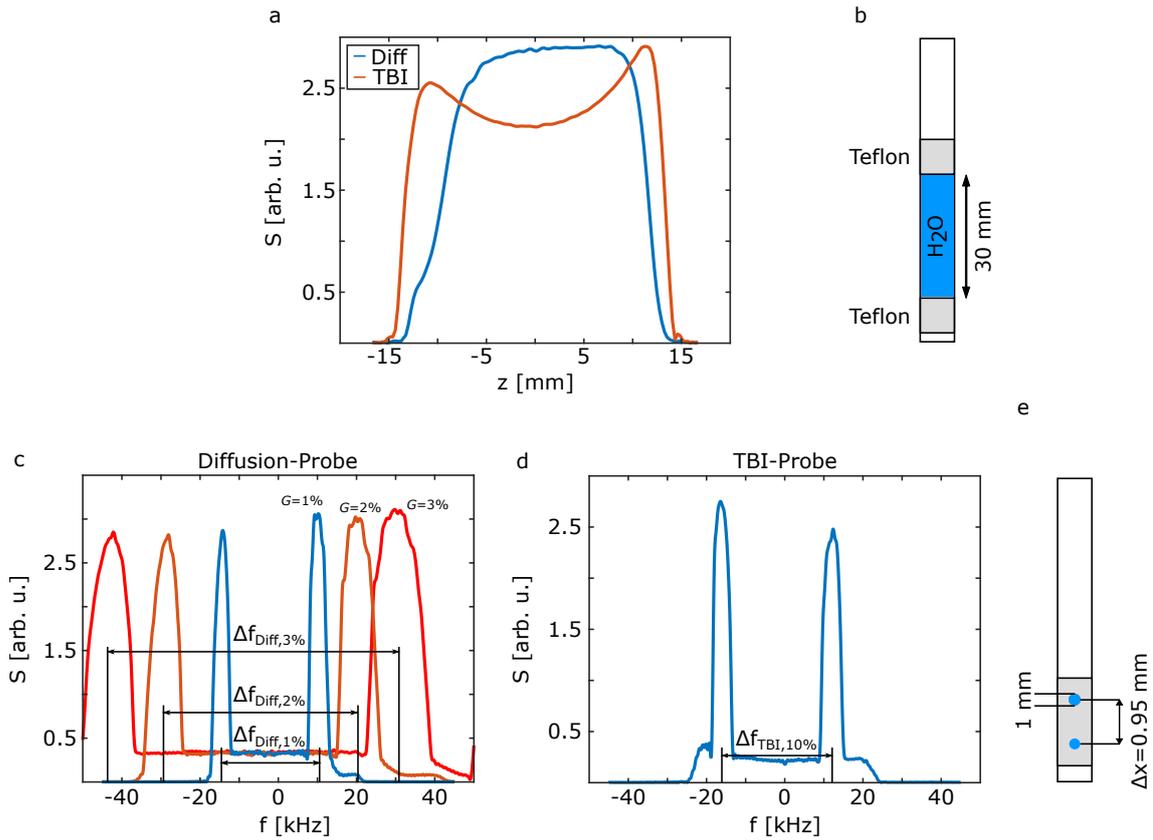


Abbildung 4.1: Bestimmung des Linearitätsbereichs (a-b), sowie der Gradientenkonstanten (c-e) für die Diffusion- und TBI-Probe.

kleine Porenphantome herzustellen und diese in der Mitte des Gradienten zu positionieren, um ein möglichst lineares Gradientenfeld nutzen zu können.

### Bestimmung der Gradientenamplitude

Für die Bestimmung der Porenfunktionen ist die Kenntnis der genauen Gradientenamplitude, und damit der angelegten  $q$ -Werte, unerlässlich. Um die Amplitude zu bestimmen, wurde das in Kapitel 3.3 beschriebene Phantom verwendet. Eine schematische Darstellung findet sich zudem in Abbildung 4.1e. Mit Hilfe einer frequenzkodierten Spinecho-Aufnahme kann so der Frequenzunterschied zwischen den beiden Bohrungen bestimmt werden. Die Gradientenamplitude kann dann mit Hilfe der folgenden Gleichung ermittelt werden:

$$G_{z,\max} [\text{T/m}] = \frac{\Delta f [\text{kHz}]}{4.258 \cdot \Delta x [\text{cm}]} \frac{1}{G [\%]}, \quad (4.1)$$

wobei  $\Delta x$  die Distanz zwischen den beiden Löchern darstellt und  $\Delta f$  die Frequenzspanne zwischen den Mitten der beiden Peaks. Für die Diffusion-Probe wurden 3 Gradientenamplituden mit Werten von  $G [\%] = [1, 2, 3]$ , unter der Verwendung der Limitierung des

Gradientenverstärkers auf 20 A, gemessen und für die TBI-Probe  $G[\%] = [10]$ . Die aufgenommenen eindimensionalen Bilder sind in Abbildung 4.1(a,b) jeweils für die Diffusion-Probe und für die TBI-Probe dargestellt. Das Zentrum der Peaks wurde über die Halbwertsbreite ermittelt. Die resultierenden Frequenzunterschiede sowie die resultierenden Gradientenamplituden finden sich in Tabelle 4.1. Als mögliche Fehler wurden  $\sigma_f = 400$  Hz und  $\sigma_x = 0.05$  mm angenommen. Die Gradientenamplitude für die Diffusion-Probe stimmt innerhalb der Fehlergrenzen für alle Aufnahmen mit den erwarteten Werten überein. Laut Datenblatt sollte die Gradientenamplitude bei einer Verstärkereinstellung von 20 A,  $G_z = 6 \pm 10\%$  T/m betragen, was die Messungen bestätigen. Selbiges gilt für die TBI-Probe, bei welcher die Herstellerangabe von  $G_{z,\max} = 0.65 \pm 10\%$  T/m ebenfalls innerhalb der Fehlergrenzen des bestimmten Werts liegt. Die hier gemessenen Gradientenamplituden wurden daher im Folgenden für die Berechnung der  $q$ -Werte verwendet.

	$G[\%]$	$\Delta f$ [kHz]	$G_{z,\max}$ [T/m]
Diffusion-Probe	1	$25.1 \pm 0.4$	$6.3 \pm 0.3$
	2	$50.2 \pm 0.4$	$6.3 \pm 0.3$
	3	$74.2 \pm 0.4$	$6.2 \pm 0.3$
TBI-Probe	10	$28 \pm 0.4$	$0.68 \pm 0.04$

Tabelle 4.1: Bestimmung der Gradientenkonstanten für die Diffusion- und TBI-Probe.

### 4.1.2 Kapillarenphantome parallel zum Hauptmagnetfeld

In Abbildung 4.2 ist der schematische Aufbau der für diesen Abschnitt verwendeten Glaskapillarenphantome dargestellt. Genauere Informationen zu den Kapillaren finden sich in Kapitel 3.4. Der verwendete Innendurchmesser ist in den jeweiligen Abbildungen im Sinne einer einfacheren Zuordnung sowohl in der Bildunterschrift, als auch in der Abbildungslegende beschrieben. Um maximale Signalintensitäten erreichen zu können, wurde eine Kapillarenlänge von 25 mm gewählt.

Für die in Abbildungen 4.3 dargestellten Ergebnisse wurde die in Kapitel 3.5 beschriebene Spinecho-Implementierung des Lang-Kurz-Gradientenschema mit Refokussierung durch einen einzelnen  $180^\circ$ -Puls verwendet (s. Abb. 3.13). Es wurden radiale Aufnahmen mit 32 Gradientenrichtungen, welche gleichmäßig über einen Winkel von  $180^\circ$  verteilt waren, mit jeweils 21  $q$ -Werten aufgenommen. In Abbildung 4.3 sind von oben nach unten jeweils ein gemessenes exemplarisches Signal, die berechnete Porenfunktion, sowie das aus den 32 Speichen rekonstruierte zweidimensionale Porenbild für Kapillaren mit einem Innendurchmesser von  $15 \mu\text{m}$  für verschiedene Kombinationen aus  $\delta_L$  und  $\delta_S$  dargestellt. Von (a) nach (c) nimmt die Länge des kurzen Gradienten  $\delta_S$  und damit der maximale  $q$ -Wert zu. Für alle Messungen sind die aufgenommenen Werte in guter Übereinstimmung mit den jeweiligen Simulationsergebnissen. Während durch Verlängerung

## 4 Ergebnisse

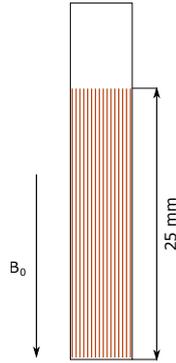


Abbildung 4.2: Schematische Darstellung der verwendeten Glaskapillaren mit paralleler Ausrichtung zum Hauptmagnetfeld.

von  $\delta_S$  ein größerer  $q$ -Wert und damit eine bessere Abtastung der Porenfunktion erfolgen kann, kommt es auf Grund der Länge zu einem anwachsenden „Randverstärkungseffekt“ (engl. edge enhancement effect [Des95]). Die effektive Länge des kurzen Gradienten und die dadurch resultierende Randverstärkung wird durch die Aufspaltung um den  $180^\circ$ -Puls (siehe Abbildung 3.13) noch verstärkt. In den durch inverse Radontransformation berechneten 2D-Porenbildern treten ebenfalls signifikante „Randverstärkungseffekte“ auf. Diese resultieren in diesem Fall in einer Reduzierung der Porengröße, da der Effekt so stark ausgeprägt ist, dass das Signal im Zentrum konzentriert wird.

Die Implementierung und die maximale Gradientenstärke von  $G_{\max} = 0.5 \text{ T/m}$  ist dennoch ausreichend, um den Durchmesser von  $15 \mu\text{m}$  aus der Porenfunktion, beziehungsweise dem rekonstruierten Porenbild zu bestimmen.

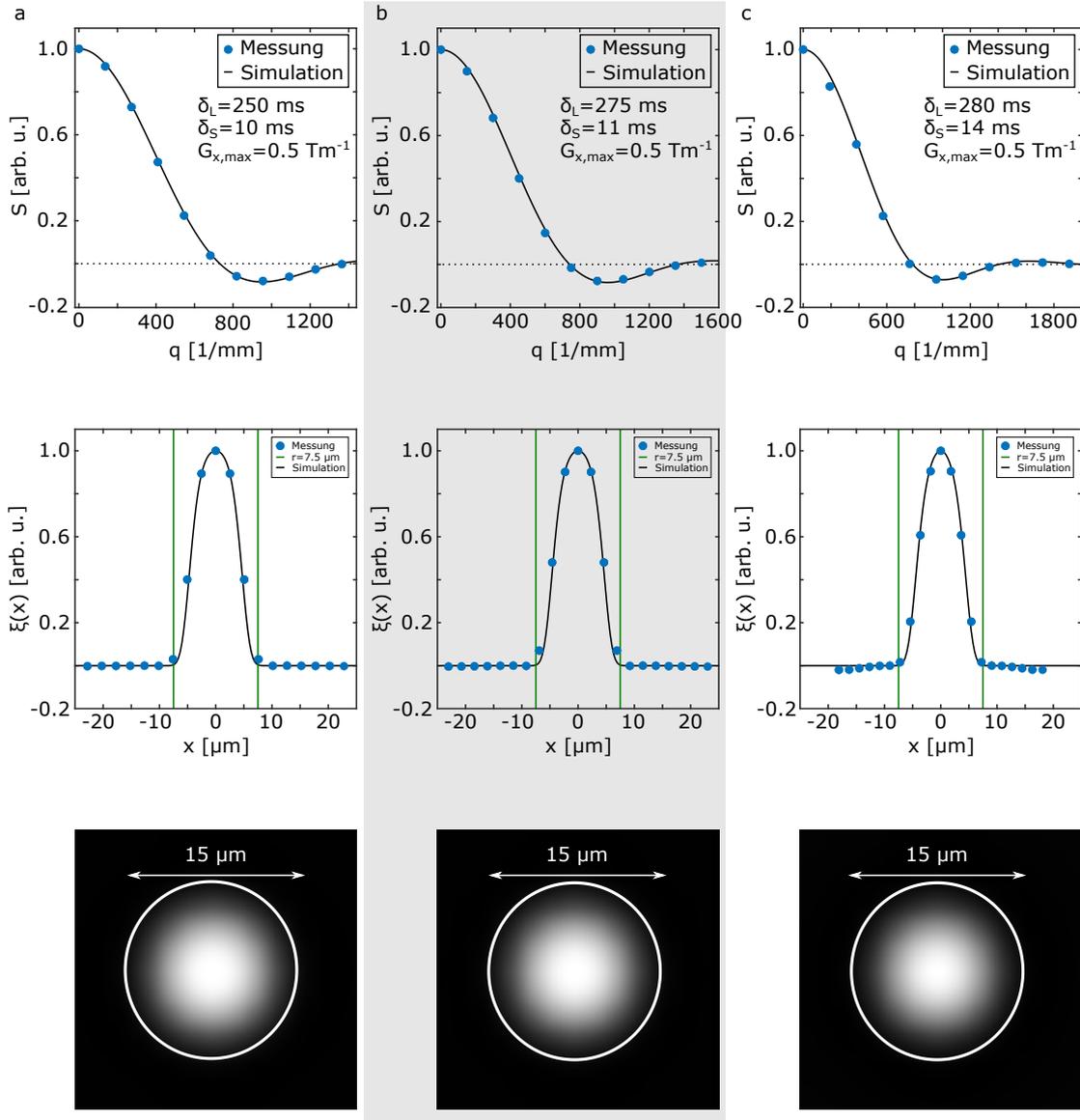


Abbildung 4.3: Diffusions-Porenbildgebung mit  $15\ \mu\text{m}$  Glaskapillaren parallel zum Hauptmagnetfeld mit Spinecho-Lang-Kurz. Zur besseren Abgrenzung der drei Messungen (a-c) ist die mittlere Spalte mit grau unterlegt. Zur Aufnahme wurden die  $x$ - und  $y$ -Gradienten der TBI-Probe verwendet und insgesamt 32 Speichen aufgenommen. Messparameter:  $\delta_L = 2 \cdot [125, 137.5, 140]$  ms,  $\delta_S = 2 \cdot [5, 5.5, 7]$  ms,  $\varepsilon = 0.3$  ms,  $G_{\text{max}} = 0.5$  T/m,  $\text{TR} = 5$  s. Mit zunehmender Länge des kurzen Gradienten können zwar höhere  $q$ -Werte erreicht werden (von a nach c), jedoch tritt dadurch ein ausgeprägterer „Randverstärkungseffekt“ (edge enhancement effect) auf. Simulationsparameter:  $r = 7.5\ \mu\text{m}$ ,  $10^6$  Teilchen,  $D = 2.3\ \mu\text{m}^2/\text{ms}$ , sowie die zuvor genannten Gradientenlängen.

## Sequenzvergleich

Um den Einfluss der Aufspaltung des kurzen Gradienten bei der Spinecho-Implementierung zu reduzieren und um zusätzliche Signalverluste durch lange Echozeiten bei Proben mit kurzem  $T_2^*$  zu vermeiden, wurde eine weitere Lang-Kurz-Version am Spektrometer implementiert. Hierbei wurde der lange Gradient, wie in Abbildung 3.14 dargestellt, in einer CPMG-artigen Sequenz aufgespalten, während der kurze Gradient, im Gegensatz zur Implementierung von Hertel et al. [HHG13], unangetastet blieb. Potentielle Artefakte beziehungsweise Signalverluste durch globalen Gleichstromversatz des Gradientenverstärkers und einem daraus resultierenden konstanten Gradienten, welcher hierbei nicht mehr ausgeglichen wird, wurden dabei in Kauf genommen, beziehungsweise durch die in Kapitel 3.6 beschriebene Methode kompensiert. Der in Abbildung 4.4 dargestellte Vergleich zwischen der CPMG- und Spinecho-Implementierung zeigt für beide Sequenzen eine sehr gute Übereinstimmung mit den jeweiligen Simulationen, welche unter

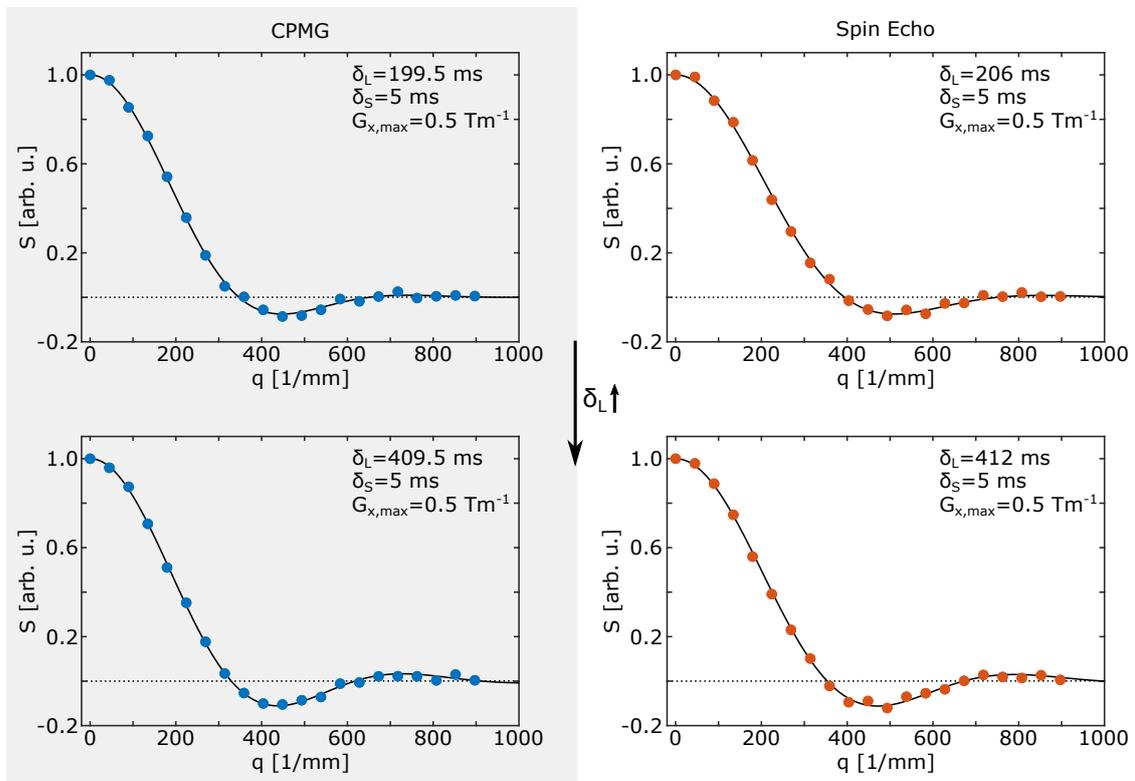


Abbildung 4.4: Sequenzvergleich zwischen der Spinecho- und CPMG-Lang-Kurz-Implementierung mit  $G_{\max} = 0.5 \text{ T/m}$ . Durch die Aufspaltung des kurzen Gradienten in der SE Methode und der damit verbundenen Wartezeit kommt es zu einem erhöhten „Randverstärkungseffekt“. Sequenzparameter CPMG:  $\delta_L = [19, 39] \cdot 10.5 \text{ ms}$ ,  $\delta_S = 5 \text{ ms}$ ,  $\varepsilon = 0.3 \text{ ms}$ . Sequenzparameter Spinecho:  $\delta_L = 2 \cdot [103, 206] \text{ ms}$ ,  $\delta_S = 2 \cdot 2.5 \text{ ms}$ ,  $\varepsilon = 0.3 \text{ ms}$ . Simulationsparameter:  $r = 12.5 \text{ }\mu\text{m}$ ,  $10^6$  Teilchen,  $D = 2.3 \text{ }\mu\text{m}^2/\text{ms}$ , sowie die jeweiligen Gradientenlängen für die Sequenzen.

Verwendung der entsprechenden Sequenzform und Parameter durchgeführt wurden. Die Ergebnisse der CPMG-Variante sind hierbei auf der linken Seite und die Ergebnisse der Spinecho-Variante auf der rechten Seite dargestellt. Nach unten wurde jeweils  $\delta_L$  erhöht, während  $\delta_S$  konstant gehalten wurde. Durch die reduzierte effektive Länge des kurzen Gradienten bei der CPMG-Variante verschiebt sich das Minimum der Signalkurve hin zu kleineren  $q$ -Werten, was einer Reduzierung des „Randverstärkungseffekts“ entspricht. Wie erwartet führt die Verlängerung von  $\delta_L$  bei beiden Implementierungen zu einem ausgeprägteren Minimum, da die Pore besser abgetastet werden kann. Eine Beeinflussung des gemessenen Signals durch einen eventuellen Gleichstromversatz des Gradientenverstärkers oder falsche Echopfade auf Grund der erhöhten Anzahl der  $180^\circ$ -Pulse sind bei den Messdaten der CPMG-Variante zudem nicht erkennbar.

### 4.1.3 Suszeptibilitätseinflüsse bei Verwendung von Kapillarenphantomen orthogonal zum Hauptmagnetfeld

Die bis hierher gezeigten Ergebnisse wurden alle unter Verwendung des x- beziehungsweise y-Gradienten der TBI-Probe durchgeführt, welche jedoch eine für Porenbildgebung auf der Mikrometerskala zu geringe Gradientenamplitude aufweist, wie an den deutlichen „Randverstärkungseffekten“ in Abbildung 4.3 erkennbar ist. Für die eigentliche Verwendung der Sequenzen mit der Diffusion-Probe, welche ausschließlich einen Gradienten in z-Richtung, also in Richtung des Hauptmagnetfeldes besitzt, mussten die verwendeten Kapillarenphantome angepasst werden, sodass eine Messung auch in z-Richtung erfolgen konnte. Hierzu wurden die Kapillaren wie in Abbildung 4.5 dargestellt, auf eine Länge von 3.5 mm gekürzt und orthogonal zum Hauptmagnetfeld in eine Halterung, welche aus Acrylglas hergestellt wurde, geschichtet. Eine genauere Beschreibung des verwendeten Phantomhalters findet sich in Kapitel 3.4.2. Der Aufbau der Kapillaren, sowie die unterschiedlichen involvierten magnetischen Suszeptibilitätswerte finden sich in Kapitel 3.4. Auf Grund der Suszeptibilitätssprünge zwischen umgebender Flüssigkeit, Ummantelung und Glas der Kapillaren sowie Flüssigkeit in den Kapillaren, welche sich nun in Hauptfeldrichtung befinden, kommt es zu ausgeprägten Frequenzsprüngen und damit zu einer starken Verbreiterung der Resonanzen. Die Simulation der entsprechenden Frequenzverschiebungen ist in Abbildung 4.6 für Kapillaren mit unangepasster (a,b) und angepasster (c-f) Suszeptibilität für verschiedene Außendurchmesser in der oberen und unteren Reihe dargestellt. Für den in (a,b) gezeigten Fall von Kapillaren, welche mit deionisiertem Wasser gefüllt sind, zeigen sich deutliche Frequenzsprünge, sowohl zwischen als auch innerhalb der Kapillaren. Eine Reduzierung des Außendurchmessers (b) bringt im Vergleich zu (a) keine signifikante Verbesserung. Durch Anpassung der Kapillaren mit 5-molarer NaCl-Lösung (c-f) können die entstehenden Frequenzverschiebungen deutlich reduziert werden. In (c,d) wurde als extraporiales Fluid Fluorinert<sup>TM</sup>(FC-770) verwendet, welches kein  $^1\text{H}$ -Signal besitzt. Die externen Frequenzverschiebungen haben also keine Auswirkung auf das detektierte Signal. Durch Verwendung von 5-molarer NaCl-Lösung als extraporiales Fluid (e,f) lassen sich auch diese Frequenzverschiebungen nochmals deutlich reduzieren, im externen Bereich bleiben aber noch erkennbare Verschiebungen bestehen.

## 4 Ergebnisse

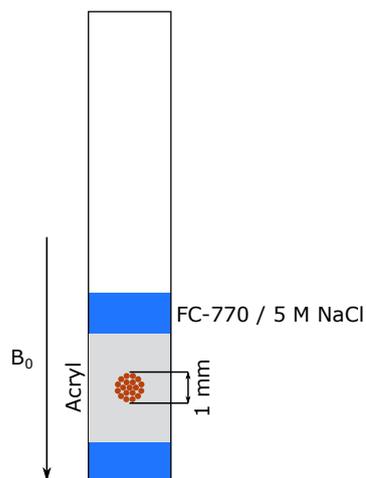


Abbildung 4.5: Schematische Darstellung der verwendeten 3.5 mm langen Glaskapillaren, welche orthogonal zum Hauptmagnetfeld in eine Halterung aus Acryl geschichtet wurden. Je nach Anwendung wurde das verbleibende Volumen mit Fluorinert™FC-770 (Sigma-Aldrich), zur Verdrängung des extraporalen Wassers, oder mit 5-molarer NaCl-Lösung befüllt.

Die tatsächlich aus den verschiedenen Kombinationen aus intra- und extraporalen Fluiden resultierenden Frequenzverbreiterungen sind in Abbildung 4.7 dargestellt. Für den Fall von unangepassten Kapillaren, hier in schwarz dargestellt, ergibt sich eine Halbwertsbreite von 1800 Hz, was in prinzipieller Übereinstimmung mit den zuvor in Abbildung 4.6 gezeigten Suszeptibilitätsberechnungen ist. Es gilt jedoch zu beachten, dass vor allem der extraporale Signalanteil zur extremen Verbreiterung des Signals beiträgt und der intraporale Anteil vermutlich eine deutlich geringere, wenn auch höhere Verbreiterung als der blaue Peak aufweisen sollte. Messungen mit unangepassten Kapillaren, welche von Fluorinert™ umspült waren, resultierten jedoch ebenfalls in einem sehr breiten Peak, was auf eine dennoch signifikante Verbreiterung des intraporalen Anteils schließen lässt. Die Verwendung von 5-molarer NaCl-Lösung als intra- und extraporales Fluid resultiert in einer Halbwertsbreite von etwa 300 Hz, was hauptsächlich aus den restlichen externen Frequenzverschiebungen resultiert. Durch Verwendung von Fluorinert™ als extraporales Fluid lassen sich Halbwertsbreiten von 40 Hz erreichen, da hier die Feldverteilungen im extraporalen Bereich auf Grund des fehlenden  $^1\text{H}$ -Signals keine Auswirkungen haben. Die Porenbildgebung in z-Richtung ist daher nur mit suszeptibilitätsangepassten Kapillaren möglich, da anderweitig das Signal auf Grund der extremen Frequenzverbreiterung und dem daraus resultierenden kurzen  $T_2^*$  zu schnell zerfällt.

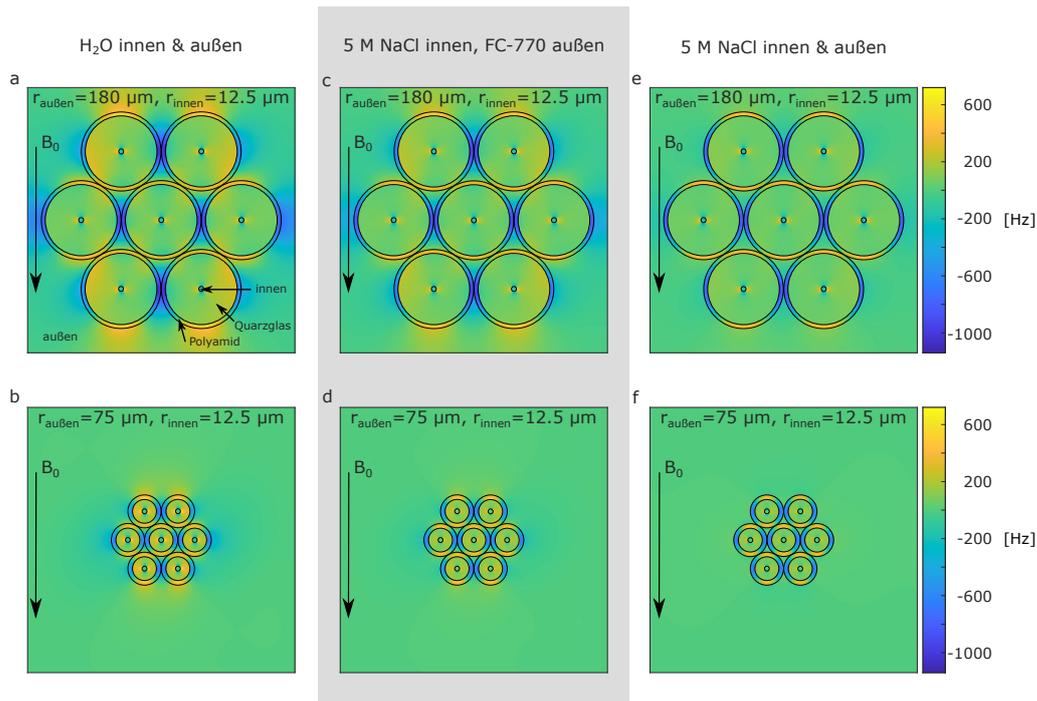


Abbildung 4.6: Exemplarische Darstellung der Feldverschiebung für Glaskapillaren, welche orthogonal zum Hauptmagnetfeld ausgerichtet wurden. Durch Anpassung der magnetischen Suszeptibilität mit Hilfe von NaCl lässt sich die Feldverschiebung deutlich reduzieren.

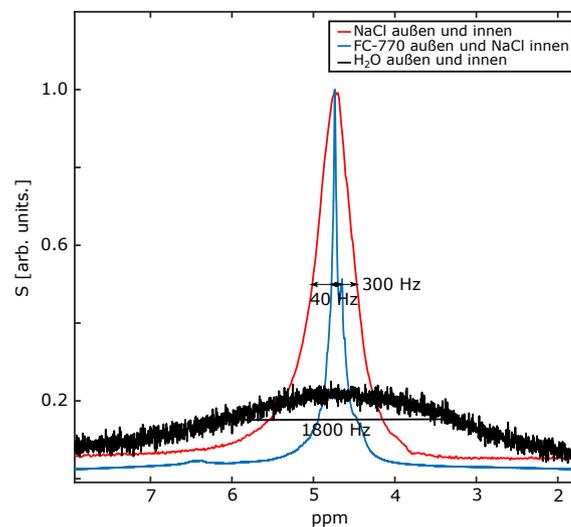


Abbildung 4.7: Tatsächlich resultierende Halbwertsbreiten des Signals für die in Abbildung 4.6 dargestellten Feldverschiebungen bei Messungen mit orthogonal zum Hauptmagnetfeld orientierten Glaskapillaren.

### 4.1.4 Porenbildgebung mit ultrahohen Gradienten und orthogonal zum Hauptmagnetfeld ausgerichteten Kapillarenphantomen

Die zuvor gezeigten suszeptibilitätsangepassten Kapillaren können nun mit dem z-Achsen-Gradient der Diffusion-Probe mit der in Abbildung 3.14 dargestellten Sequenz für die Porenbildgebung verwendet werden. Als extraporiales Fluid wurde hierfür Fluorinert™(FC-770) (siehe Kapitel 3.4.1) verwendet, um externe Signalanteile ausschließen zu können. Für die in Abbildung 4.8 gezeigten Ergebnisse wurde der Gradientenverstärker von 60 A auf 10 A limitiert, um die beschränkte 16 bit umfassende Auflösung (resultierend in 32768 möglichen Abstufungen des Gradienten in positive sowie negative Richtung) weitestgehend zu umgehen. Vor allem der lange Gradient leidet unter dieser Einschränkung, da hier die maximale Amplitude im Vergleich zum kurzen Gradienten etwa 50-100 Mal kleiner ist. Die in Kapitel 3.6 beschriebene Methode zur Kompensation von Gradientenimperfektionen muss auf Grund von Schwankungen des Gradientenverstärkers vor jeder Messung wiederholt werden und auf neue Parametersätze angewendet werden. Zusätzlich muss nach jedem Einbau der Diffusion-Probe der Gleichstromversatz des Gradientenverstärkers, sowie die Wirbelstromkompensation durch aufwendige Messungen eingestellt werden. Die resultierende maximale Gradientenamplitude beträgt damit  $G_{\text{theo,max}} = 3 \text{ T/m}$ , tatsächlich verwendet wurde für die gezeigten Ergebnisse aber  $G_{\text{max}} = 2.7 \text{ T/m}$ . Sowohl das gemessene Signal (a) als auch die Porenfunktion (b) sind in sehr guter Übereinstimmung mit der Simulation. Auf Grund der reduzierten Dauer des kurzen Gradienten im Vergleich zu Kapitel 4.1.2 (nun 1.9 ms im Vergleich zu 10 ms bei etwa gleichem  $q$ -Wert) tritt bei diesen Messungen kein „Randverstärkungseffekt“ auf. Allerdings kommt es zu einer leichten Ausschmierung der Kanten, welche aber dennoch eine Bestimmung des Radius auf  $r = 12.5 \text{ }\mu\text{m}$  ermöglicht. Da man für die eindimensionale Projektion eines Zylinders (rot in Abb. 4.8b) jedoch keine Rechteckfunktion erwartet, lässt sich die Ausprägung der Ausschmierung nicht bewerten. Die Abweichung der gemessenen Porenfunktion von der Projektion ist nur minimal.

### 4.1.5 Kapillarenphantome mit extraporialem Fluid

Bisher galt für die Porenbildgebung stets die Bedingung, dass für die Bestimmung der Porengröße nur intraporiale Signalanteile vorliegen dürfen, da ansonsten die Porenfunktion nicht bestimmt werden kann. Um diese Limitierung zu umgehen, wurden im Folgenden zwei verschiedene Ansätze verfolgt. Da vor allem das Signal niedriger  $q$ -Werte von extraporalen Signalanteilen beeinflusst wird, wurde zum einen versucht, dieses Signal aus dem Signalverlauf von höheren  $q$ -Werten zu extrapolieren. Als zweiter Ansatz wurde die Implementierung eines Filters für extraporiale Signalanteile gewählt, da durch den deutlich höheren effektiven extraporalen Diffusionskoeffizienten ein steilerer Signalabfall als bei den intraporalen Signalanteilen zu erwarten ist. Dieser Filter ist ähnlich zu dem in Kapitel 4.4 verwendeten Filterblock der AXR-Messungen. Zunächst soll nun Variante 1, der Extrapolationsansatz, betrachtet werden.

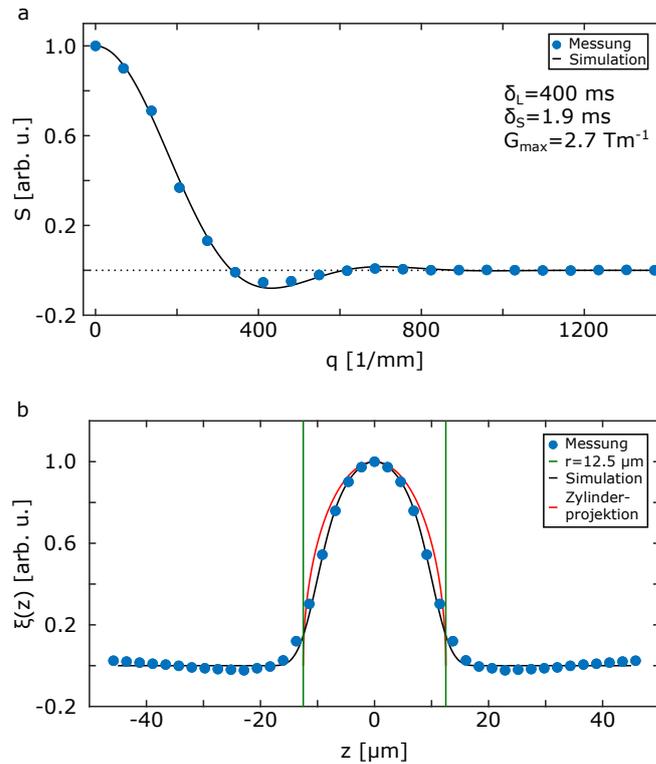


Abbildung 4.8: Porenbildgebung mit suszeptibilitätsangepassten, orthogonal orientierten, Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 25 µm. Die Diffusion-Probe wurde auf  $G_{\text{theo,max}} = 3$  T/m limitiert. Sequenzparameter:  $G_{\max} = 2.7$  T/m,  $\delta_L = 39 \cdot 10.5$  ms,  $\delta_S = 1.9$  ms,  $\varepsilon = 0.3$  ms. Gemessenes Signal (a) und Porenfunktion (b) sind in guter Übereinstimmung mit der Simulation. Simulationsparameter:  $r = 12.5$  µm,  $10^6$  Teilchen,  $D = 1.54$  µm $^2$ /ms, sowie die jeweiligen Gradientenlängen.

### Extrapolationsansatz

Für die Phantome wurden mit 5-molarer NaCl-Lösung gefüllte Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 25  $\mu\text{m}$  verwendet. Das Volumen außerhalb der Kapillaren (siehe Abbildung 4.2) wurde ebenfalls mit der NaCl-Lösung aufgefüllt. Die mittels der CPMG-Lang-Kurz-Implementierung (siehe Abb. 3.14) aufgenommen Signale der Porenbildgebung sind in Abbildung 4.9 dargestellt. Für alle drei Messungen wurde dabei der z-Achsen-Gradient verwendet. Auf Grund der unterschiedlichen maximalen Gradientenamplitude zwischen TBI- und Diffusion-Probe (b und c) konnte die Dauer des kurzen Gradienten für die Diffusion-Probe erneut signifikant reduziert werden. Als Extrapolationsansatz wurde eine Parabel mit der Form  $1 - (q/a)^2$  verwendet, welche die gaußsche Phasennäherung für freie Diffusion darstellt. Es gilt jedoch zu beachten, dass die Wahl der Extrapolationsfunktion, sowie die Auswahl der Punkte, die für die Extrapolation herangezogen werden, einen deutlichen Einfluss auf die zu erwartende Porenfunktion haben wird. Für die Extrapolation wurden in (a) die  $q$ -Werte (5-7) verwendet. Die resultierende Signalkurve als auch die Porenfunktion zeigen Abweichungen von den Simulationen. Durch eine dichtere Abtastung der  $q$ -Werte nahe des Nulldurchgangs (b) lässt sich diese Abweichung vor allem in Anbetracht der Unterschwinger der Porenfunktion etwas reduzieren. Dennoch stimmen die mittels Extrapolationsansatz bestimmten Porenfunktionen sehr gut mit der erwarteten überein. Die Verwendung der Diffusion-Probe mit kürzerem  $\delta_S$  resultiert zwar in einer weiteren Reduzierung des ersten Unterschingers, aber im weiteren Verlauf der Porenfunktion treten auf Grund des höheren maximalen  $q$ -Wertes stärkere Oszillationen der Porenfunktion auf. Mit allen drei Messungen lässt sich der Durchmesser der Kapillaren auch in der Gegenwart von extrapolaren Fluiden eindeutig bestimmen. Auch hier sei nochmals darauf hingewiesen, dass die eindimensionale Projektion des Zylinders (rot in Abb. 4.9 untere Reihe) nicht durch eine Rechteckfunktion beschrieben wird. Trotz der Abweichung des Signals sind die Abweichungen der Porenfunktion von der Projektion minimal. In Teilabbildung (d) ist zudem der direkte Vergleich der Signalintensitäten zwischen tatsächlich gemessenem Signal (blau) und anschließend extrapoliertem Signal (rot) dargestellt. Für  $q > 300 \text{ mm}^{-1}$  tritt keine Abweichung zwischen direkter Messung und Simulation mehr auf, da hier die hohen  $q$ -Werte der eigentlichen Porensequenz zu einer ausreichenden Unterdrückung von extrapolaren Signalanteilen führen.

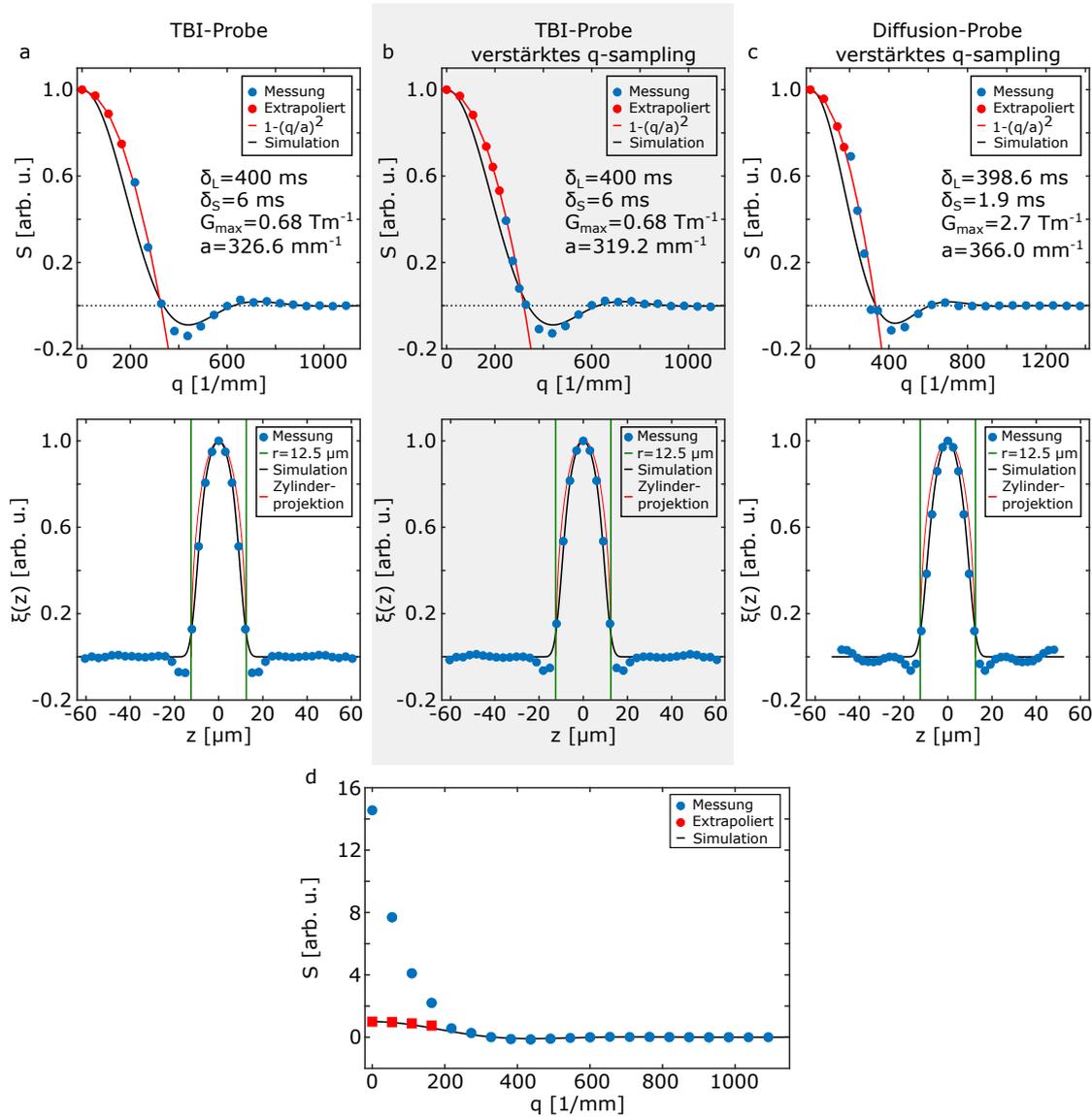


Abbildung 4.9: Porenbildgebung mit extraporaler Flüssigkeit: Extrapolationsansatz zur Bestimmung des Signals bei niedrigen  $q$ -Werten in Gegenwart von extraporalen Flüssigkeiten. Durch Verwendung von dichterem  $q$ -Sampling im Bereich des Nulldurchgangs (b) lässt sich im Vergleich zu (a) eine etwas näher an der Simulation liegende Porenfunktion rekonstruieren. (c) Verwendung eines kurzen Gradienten mit reduzierter Länge hat bei einem Durchmesser von  $25\ \mu\text{m}$  keine Auswirkungen. Das ursprüngliche Signal, sowie die Extrapolation ist in (d) dargestellt. Sequenzparameter TBI-Probe:  $\delta_L = 25 \cdot 16\ \text{ms}$ ,  $\delta_S = 6\ \text{ms}$ ,  $\varepsilon = 0.3\ \text{ms}$ . Diff-Probe:  $\delta_L = 39 \cdot 10.22\ \text{ms}$ ,  $\delta_S = 1.9\ \text{ms}$ . Simulationsparameter für das intrazelluläre Signal:  $r = 12.5\ \mu\text{m}$ ,  $10^6$  Teilchen,  $D = 1.54\ \mu\text{m}^2/\text{ms}$ , sowie die oben genannten Sequenzparameter.

## Filteransatz

Durch den Extrapolationsansatz ist es prinzipiell möglich, Porenbildung in der Gegenwart von extraporalen Fluiden durchzuführen. Jedoch hat die zur Extrapolation verwendete Funktion sowie die Auswahl der Punkte für die Extrapolation einen schwer abzuschätzenden Einfluss auf die resultierende Porenfunktion. Daher wurde in einer zweiten Variante die Möglichkeit untersucht, mit Hilfe eines zusätzlichen Filterblocks vor der eigentlichen CPMG-Lang-Kurz-Implementierung, die Signalanteile der extraporalen Fluide zu unterdrücken. Eine schematische Darstellung der Sequenz findet sich in Abbildung 4.10a. Die Implementierung ist ähnlich zu der in [DLK14], wonach ein Kompartiment mit freier Diffusion am effizientesten durch kleine  $q$ -Werte und lange Diffusionszeiten  $\Delta$  gegenüber einem Kompartiment mit eingeschränkter Diffusion unterdrückt werden kann.

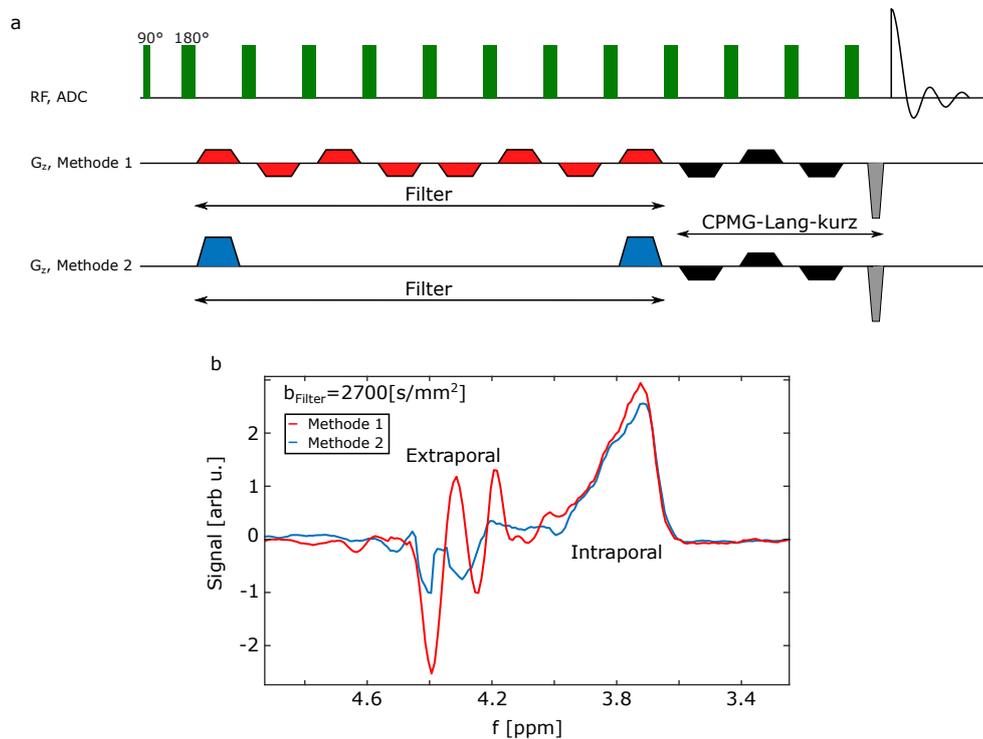


Abbildung 4.10: (a) Vergleich möglicher Filtermethoden bei gleichem Filter- $b$ -Wert ( $b = 2700 \text{ s/mm}^2$ , rot bzw. blau) ohne eigentliche diffusionswichtende Gradienten ( $G_{\text{max}} = 0$ , schwarz) und damit  $q = 0$  für die Diffusionsporenbildgebung unter Verwendung von Glaskapillaren mit 5 M NaCl Lösung innen und außen. (b) Das verbleibende extraporale Signal ist bei Methode 2, trotz gleichen  $b$ -Werts deutlich reduziert. Das intraporale Signal bleibt dagegen unverändert. Auf Grund der suszeptibilitätsinduzierten Feldverschiebung lassen sich intra- und extraporales Signal in diesem Beispiel trennen. Sequenzparameter:  $G_{\text{Filter},1} = 66 \text{ mT/m}$ ,  $\Delta_{\text{Filter},1} = 44.7 \text{ ms}$ ,  $G_{\text{Filter},2} = 132 \text{ mT/m}$ ,  $\Delta_{\text{Filter},2} = 78 \text{ ms}$ ,  $\delta_{\text{Filter},1,2} = 10.5 \text{ ms}$ .

Hierzu wurden zwei verschiedene Implementierungen (siehe 4.10a) bei gleicher Gesamtzeit, gleichem  $b$ -Wert, aber unterschiedlichem  $\Delta$  durchgeführt. Methode 2 (blau) resultiert in Abbildung 4.10b dabei in einer effektiveren Unterdrückung des extraporalen Signals als Methode 1 (rot). Auffallend sind bei Methode 1 die ausgeprägten Oszillationen im Bereich des externen Signals. Auf Grund der besseren Signalunterdrückung von Methode 2 wurde diese im Folgenden für die weiteren Experimente verwendet.

Um die tatsächliche Effektivität zu überprüfen, wurden Kapillaren mit einem Innendurchmesser von  $10\ \mu\text{m}$  verwendet, welche erneut mit 5-molarer NaCl-Lösung befüllt wurden und umgeben waren. Auf Grund des kleineren Durchmessers der Kapillaren wurde dabei der Gradientenverstärker auf  $20\ \text{A}$  limitiert, was den Messungen in Kapitel 4.1.1 zufolge in  $G_{\text{max}} = 6.3\ \text{T/m}$  resultiert. Die entsprechende Messung ist in Abbildung 4.11a mit

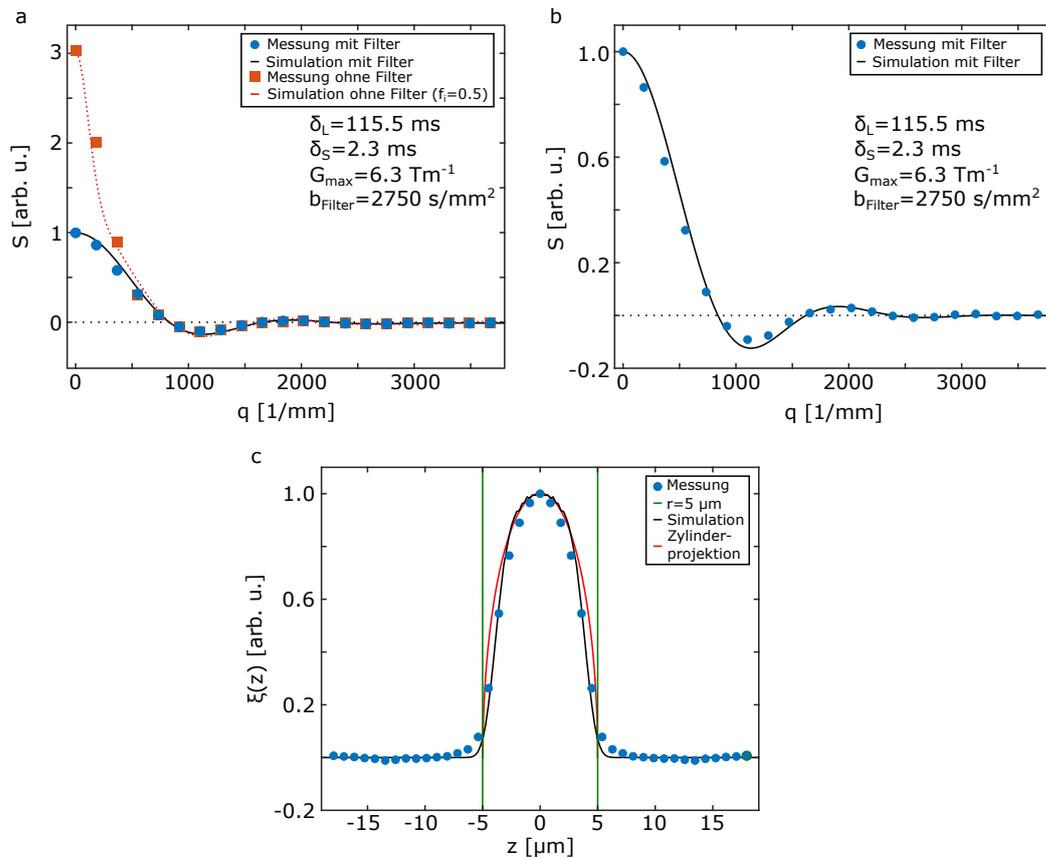


Abbildung 4.11: Porenbildgebung mit extraporaler Flüssigkeit und Filterimplementierung bei Glaskapillaren mit einem Innendurchmesser von  $10\ \mu\text{m}$ . Durch Verwendung des Filters lässt sich das extraporale Signal, im Vergleich zur Messung ohne Filter, nahezu komplett unterdrücken (a,b). Die resultierende Porenfunktion entspricht der Simulation und ermöglicht die Bestimmung des Durchmessers von  $10\ \mu\text{m}$ . Sequenzparameter:  $\delta_L = 11 \cdot 10.5\ \text{ms}$ ,  $\delta_S = 2.3\ \text{ms}$ ,  $G_{\text{max}} = 6.3\ \text{T/m}$ .  $b_{\text{Filter}} = 2750\ \text{s/mm}^2$ ,  $\delta_{\text{Filter}} = 10.5\ \text{ms}$ ,  $\Delta_{\text{Filter}} = 84\ \text{ms}$ .

## 4 Ergebnisse

und ohne Filter dargestellt. Für die Simulation ohne Filter wurde eine Packungsdichte von  $f_i = 0.5$  angenommen. Sowohl die Messung mit als auch ohne Filter ist in sehr guter Übereinstimmung mit der jeweiligen Simulation. In Abbildung 4.11b ist die Messung mit Filter nochmals vergrößert dargestellt, wobei sich auch hier eine sehr gute Übereinstimmung zur Simulation ohne extraporaales Kompartiment zeigt. Die resultierende Porenfunktion in (c) zeigt ebenfalls nur minimale Abweichungen von den Simulationsergebnissen und weist keinen „Randverstärkungseffekt“ auf. Sie ist zudem in guter Übereinstimmung mit der eindimensionalen Projektion des Zylinders (rot in Abb. 4.11c).

### 4.1.6 Polymerisierte Hohlkugeln als Porenphantome

Als finale Messung der Porenbildgebung und Ausblick für zukünftige Messungen wurden Hohlkugeln mit einem Außendurchmesser von  $3.3 \mu\text{m}$  (siehe Lichtmikroskopbild in Abbildung 4.12a) nach dem Vorbild von [Sil+18; Van+17; Sac+13] polymerisiert und anschließend untersucht. Der Bereich außerhalb der Kugeln wurde mit deionisiertem Was-

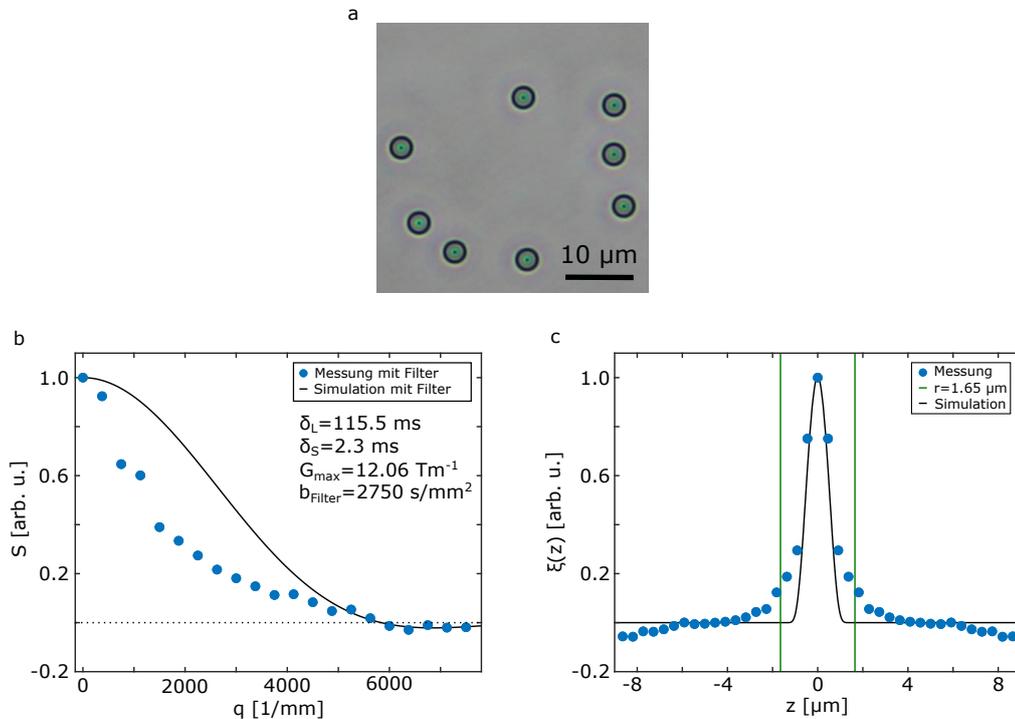


Abbildung 4.12: (a): Lichtmikroskop-Aufnahme der polymerisierten Hohlkugeln mit einem Außendurchmesser von  $3.3 \mu\text{m}$ . (b-c): CPMG-Lang-Kurz-Signal und korrespondierende Porenfunktion. Trotz Abweichungen von der Simulation kann die Größe der Kugeln näherungsweise bestimmt werden. Sequenzparameter:  $\delta_L = 11 \cdot 10.5 \text{ ms}$ ,  $\delta_S = 2.3 \text{ ms}$ ,  $G_{\text{max}} = 12.06 \text{ T/m}$ ,  $b_{\text{Filter}} = 2750 \text{ s/mm}^2$ ,  $\delta_{\text{Filter}} = 10.5 \text{ ms}$ ,  $\Delta_{\text{Filter}} = 84 \text{ ms}$ . Simulationsparameter:  $r = 1.65 \mu\text{m}$ ,  $D_{\text{innen}} = 0.6 \mu\text{m}^2/\text{ms}$ ,  $D_{\text{außen}} = 2.3 \mu\text{m}^2/\text{ms}$ .

ser aufgefüllt, während sich innerhalb der Kugeln eine Emulsion aus TPM-Monomer, deionisiertem Wasser und  $\text{NH}_3$ -Lösung befindet, welche nach [Sil+18] einen geringen Diffusionskoeffizienten von  $D_{\text{innen}} = 0.6 \mu\text{m}^2/\text{ms}$  besitzt. Der Gradientenverstärker der Diffusion-Probe wurde für die Messungen auf 40 A limitiert, was in  $G_{\text{max}} = 12.06 \text{ T/m}$  für die Messungen resultierte. Während die Messung in Abbildung 4.12b im ersten Teil der Signalkurve relativ deutlich von der Simulation abweicht, stimmt zumindest das Minimum der Signalkurve mit der Simulation überein. Der prinzipielle Verlauf der Kurve lässt trotz der Abweichungen darauf schließen, dass tatsächlich Hohlkugeln polymerisiert wurden. Die in (b) dargestellte Porenfunktion weicht ebenfalls recht deutlich von der verwendeten Simulation ab, lässt aber zumindest einen groben Rückschluss auf den eigentlichen Durchmesser der Kugeln zu. Die Implementierung dieser gefilterten Sequenz an einem Spektrometer, mit in dieser Art bisher unerreichten Gradientenamplituden von  $G_{\text{max}} = 12.06 \text{ T/m}$ , ermöglicht erstmalig die Aufnahme von realistischen Zellproben in  $\mu\text{m}$ -Größe mit Hilfe der Porenbildgebung.

## 4.2 Einfluss der Membranpermeabilität auf die Porenfunktion

Eine weitere Einschränkung zur Anwendung der Diffusions-Porenbildgebung ist die Permeabilität der Membranen von echten Zellsystemen. Die in Kapitel 2.5 gezeigten Formeln gelten zunächst nur für geschlossene Poren. Wie sich die Porenfunktion in Abhängigkeit der Permeabilität und zusätzlichen Parametern ändert, soll im Folgenden an Hand der Ellipsoiden-Geometrie, welche auch zur Repräsentation der Hefe-Zellen verwendet wurde, untersucht werden. Die Simulationsparameter für das Hefezellen-Modell sind in Tabelle 3.1 aufgelistet. Die Längsachsen der Ellipsoide sind zufällig auf die Hauptachsen des Koordinatensystems verteilt, um eine pseudozufällige Anordnung zu realisieren. Die Achsenlänge der Ellipsoide betrug  $a_1 = 2.725 \mu\text{m}$ ,  $a_2 = a_3 = 1.875 \mu\text{m}$ . Im Folgenden wird also jeweils die mittlere Porenfunktion der drei Orientierungen betrachtet.

### 4.2.1 Auswirkung der gewählten Filterlänge

Zur Simulation wurde die in Abbildung 3.15 dargestellte Filter-CPMG-Lang-Kurz-Implementierung mit den folgenden weiteren Simulationsparametern verwendet:  $10^6$  Teilchen,  $D_i = D_e = 2.3 \mu\text{m}^2/\text{ms}$ ,  $\delta_f = 10 \text{ ms}$ ,  $\Delta_f = [30, 390] \text{ ms}$ ,  $\delta_S = 1 \text{ ms}$ ,  $\delta_l = 10 \text{ ms}$ ,  $\delta_L = 5\delta_l = 50 \text{ ms}$ .

In Abbildung 4.13 ist die Porenfunktion der Ellipsoide für verschiedene Diffusionslängen des Filters  $\Delta_f$ , bei konstantem  $b$ -Wert des Filters ( $b_{\text{filter}} = 2750 \text{ s/mm}^2$ ), dargestellt. Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Diffusionslängen sind im Vergleich zur allgemeinen Abweichung zur Porenform ohne Austausch zu vernachlässigen. Zumindest für die hier verwendete Ellipsoid-Geometrie hat daher die Länge des Filters für das extraporiale Kompartiment keine signifikante Auswirkung auf die resultierende Porenfunktion. Die allgemeine Abweichung zeigt sich vor allem durch einen konstanten Versatz der Po-

## 4 Ergebnisse

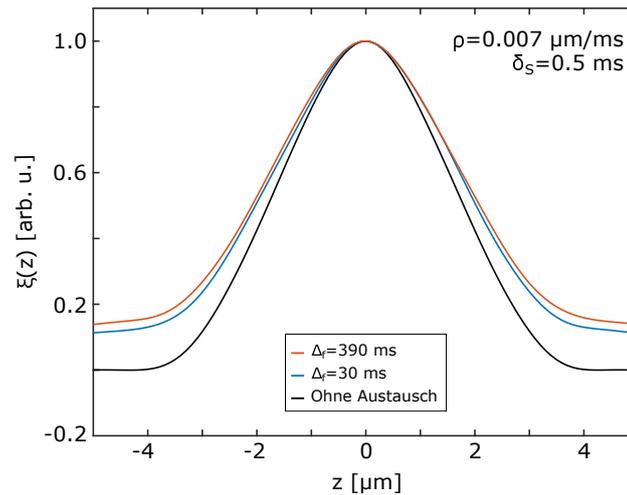


Abbildung 4.13: Abhängigkeit der Porenfunktion von der Diffusionszeit des Filters bei Poren mit permeabler Membran.

renfunktion, sowie einen leichten „Randverstärkungseffekt“. Der konstante Untergrund entsteht durch die freie Bewegung der Teilchen während des kurzen, zur Bildgebung verwendeten Gradienten und hängt damit von der Permeabilität der Pore ab.

### 4.2.2 Einfluss der Gradientenlänge

Zur Simulation wurde ebenfalls das Hefe-Modell verwendet, sowie die Filter-CPMG-Lang-Kurz-Implementierung mit den folgenden weiteren Simulationsparametern:  $10^6$  Teilchen,  $D_i = D_e = 2.3 \mu\text{m}^2/\text{ms}$ ,  $\delta_f = 10 \text{ ms}$ ,  $\Delta_f = 30 \text{ ms}$ ,  $\delta_s = 1 \text{ ms}$ ,  $\delta_l = 10 \text{ ms}$ ,  $\delta_L = [5, 10, 15, 20, 25] \delta_l = [50, 100, 150, 200, 250] \text{ ms}$ .

Die Abhängigkeit der Porenfunktion von permeablen Poren für verschiedene Permeabilitätswerte ist in Abbildung 4.14 dargestellt. Für den in Abbildung 4.14a dargestellten Fall von  $\rho = 0.003 \mu\text{m}/\text{ms}$ , welcher in  $AXR \approx 11 \text{ s}^{-1}$  resultiert, tritt wie bei dem Vergleich bezüglich der Diffusionszeit des Filters eine deutliche Abweichung zwischen Porenfunktion und der Referenz auf. Mit steigender Dauer des langen Gradienten nehmen die Abweichungen von der erwarteten Porenfunktion noch zu, wobei alle Dauern relativ eng beieinander liegen. In erster Linie tritt durch die länger werdenden Gradienten ein anwachsender konstanter Versatz auf, der zudem auch eine leichte Verbreiterung der Porenfunktion mit sich bringt. Für den in (b) dargestellten Fall von  $\rho = 0.005 \mu\text{m}/\text{ms}$  ( $AXR \approx 18 \text{ s}^{-1}$ ) sind die auftretenden Abweichungen auch für eine kurze Dauer des langen Gradienten schon deutlich ausgeprägter. Bei einer Messung mit  $\delta_L = 50 \text{ ms}$  lässt sich aber noch eine weitestgehend gute Repräsentation der ursprünglichen Porenfunktion erreichen. Die typische Diffusionsdistanz beträgt hier bereits  $dr = \sqrt{6D\delta_L} \approx 26.3 \mu\text{m}$ , was verglichen mit der Länge des Ellipsoids von  $5.45 \mu\text{m}$  bereits sehr groß ist. Die Porenfunktion lässt sich auch für den in (c) dargestellten Fall von  $\rho = 0.007 \mu\text{m}/\text{ms}$  ( $AXR \approx 26 \text{ s}^{-1}$ ) noch rekonstruieren. Hier sind die generellen Abweichungen noch stärker ausgeprägt und resultieren teilweise in einer deutlichen Änderung der Porenfunktion, welche nun nicht mehr durch einen kon-

## 4.2 Einfluss der Membranpermeabilität auf die Porenfunktion

stanten Versatz beschrieben werden kann. Vor allem im äußeren Bereich der Porenfunktion zeigen sich leichte Oszillationen für große  $\delta_L$ . Auch für die stärkste Permeabilität in (c) ist jedoch eine Aufnahme der Porenfunktion unter Verwendung des kürzesten  $\delta_L$  noch möglich. Sowohl durch Verlängerung des langen Gradienten, als auch durch Erhöhung der Permeabilität wächst der konstante Untergrund an. Der Grund hierfür liegt wie bereits zuvor erwähnt in der erhöhten Wahrscheinlichkeit, dass sich Teilchen während des kurzen Gradientens frei bewegen können und sich nicht mehr im Inneren der Pore aufhalten. Im Allgemeinen muss beachtet werden, dass die Auswirkungen, wie auch bei den AXR-Messungen, neben der Permeabilität auch maßgeblich durch die Packungsdichte beeinflusst werden.

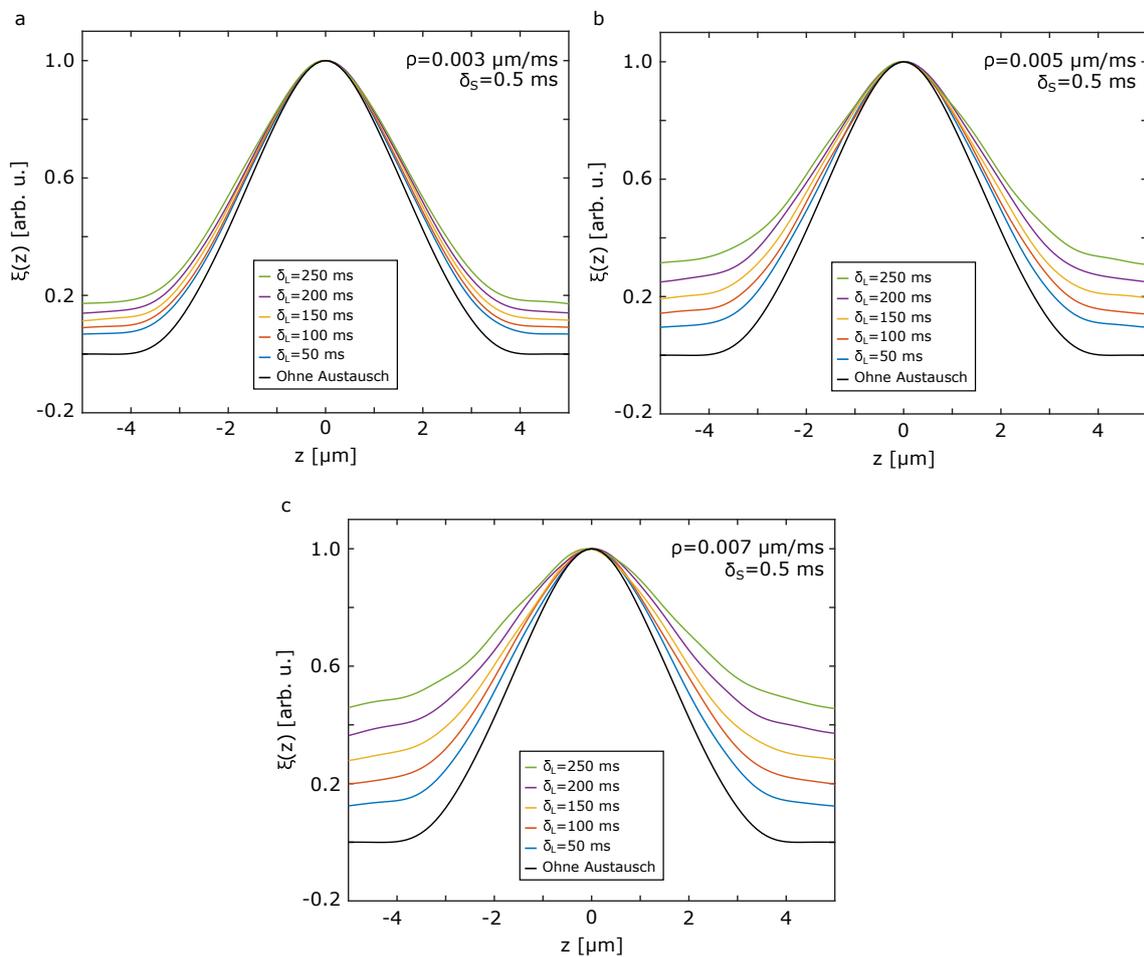


Abbildung 4.14: Abhängigkeit der Porenfunktion von der Länge des langen Gradienten  $\delta_L$  für verschiedene Permeabilitätswerte bei Poren mit permeabler Membran. Von (a) nach (c) steigen dabei die Permeabilitätswerte an und der Einfluss und die Abweichung von der theoretischen Form nehmen zu.

### 4.3 Monte-Carlo-Simulationstool

Während die Permeabilität für die Porenbildgebung einen störenden Parameter darstellt, lassen sich mit dem zur Unterdrückung des extraporalen Signalanteils verwendeten Filters und einer doppelt-diffusionsgewichteten Sequenz auch Informationen über den Zellstatus und den Wasseraustausch von Zellen ermitteln. Zur theoretischen Betrachtung der Annahmen dieses Phänomens war die Implementierung eines Simulation-Tools notwendig. Das Grundgerüst für das Monte-Carlo-Simulationstool wurde von Prof. Frederik Laun, Universitätsklinikum Erlangen, bereitgestellt. Auf der Basis diesen Programmcodes erfolgte die eigenständige Implementierung aller in dieser Arbeit gezeigten Geometrien und Möglichkeiten des Tools, welche sowohl für die Simulationen bezüglich der AXR-Messungen, der echten Austauschrate, sowie für die Referenzsimulationen der Porenbildgebung verwendet wurden.

#### 4.3.1 Schrittweiten-Abhängigkeit der Austauschrate

In Abbildung 4.15a ist die Abhängigkeit der Schrittweite für die in der Zufallspfad-Simulation weit verbreitete Rejection (zu Deutsch: Ablehnungs)-Methode für eine beispielhafte Zylindergeometrie dargestellt. Hierbei wird der Einzelschritt bei Anstoßen an die Membran in Abhängigkeit der Permeabilität erlaubt oder verboten und im Falle der Ablehnung ein neuer Schritt vom selben Ausgangspunkt geprüft. Dabei ist ersichtlich, dass die Austauschrate von der Schrittweite abhängt und keine ersichtliche obere Grenze existiert.

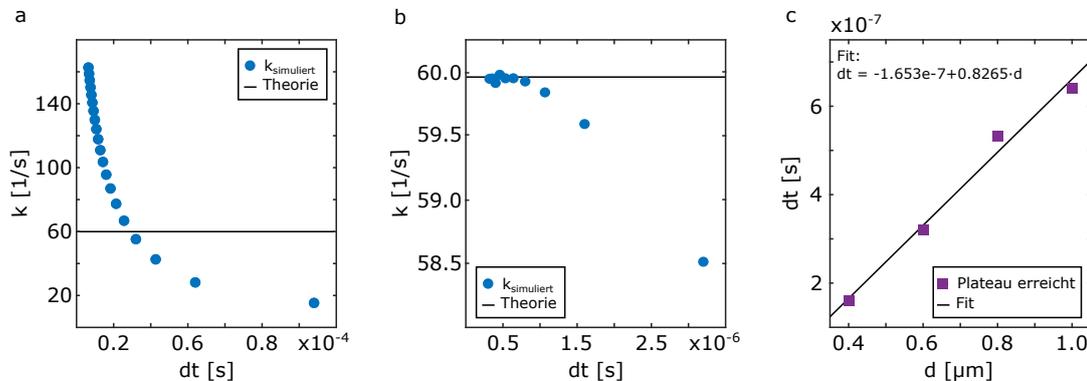


Abbildung 4.15: Simulierte Austauschrate  $k_{\text{simuliert}}$  in Abhängigkeit der Simulationsschrittweite für (a) Rejection-Methode und (b) Reflexions-Methode für eine beispielhafte Zylindergeometrie. Für die Rejection-Methode existiert keine obere Grenze bei der Austauschrate, während für die Reflexions-Methode ein Plateau erreicht wird, welches mit der berechneten Austauschrate übereinstimmt. (c) Notwendige Schrittweite  $dt$  in Abhängigkeit des Durchmessers  $d$ , um den Plateaubereich zu erreichen. Es zeigt sich eine lineare Abhängigkeit der notwendigen Schrittweite vom Durchmesser.

Für die in Abbildung 4.15b dargestellte Methode mit elastischer Reflexion, falls kein Durchgang durch die Membran erlaubt ist, wächst die Austauschrate für dieselbe Geometrie bis zu einem Plateaubereich an. Dieses Plateau ist in guter Übereinkunft mit dem theoretischen, mittels Gleichung 2.68 bestimmten Wert. Die notwendige Schrittweite ist jedoch abhängig von der Geometrie und der typischen freien Weglänge des Teilchens. Dieses Verhalten ist in Abbildung 4.15c exemplarisch dargestellt. Mit kleiner werdendem Durchmesser  $d$  der Zylinder muss die Schrittweite linear reduziert werden, um den Plateaubereich zu erreichen.

### 4.3.2 Verwendung von GPU-Beschleunigung zur Reduzierung der Rechenzeit

In Abbildung 4.16 ist die Simulationsdauer in Abhängigkeit der zu simulierenden Anzahl der Teilchen für verschiedene Systeme dargestellt. Da die Teilchen nicht voneinander abhängig sind, lässt sich das Problem vollständig parallelisieren und somit eine deutliche Reduzierung der Simulationsdauer durch Verwendung von GPU-Beschleunigung erreichen. Bereits eine GPU in Form einer Nvidia Titan Xp bietet eine deutlich bessere Leistung als eine deutlich teurere Server CPU (Xeon W-2145). Mit zunehmender Anzahl an Teilchen verstärkt sich dieser Effekt. Bei Verwendung von mehreren GPUs zeigt sich eine weitestgehend lineare Reduzierung der Simulationsdauer mit Anzahl der verwendeten GPUs. Durch Verwendung von speziellen GPU-Beschleunigern (Nvidia V100) lässt sich die Simulationsdauer nochmals deutlich reduzieren.

Es gilt jedoch zu beachten, dass die Verwendung der GPU-Beschleunigung des MCTools auf CUDA [NVF20] kompatible GPUs limitiert ist.

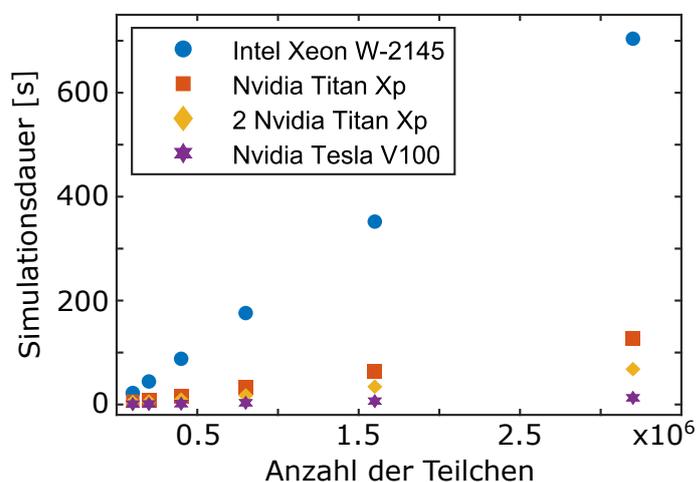


Abbildung 4.16: Simulationsdauer für eine exemplarische Geometrie bei 20000 simulierten Einzelschritten für jedes Teilchen. Durch Verwendung von GPU-Beschleunigung lässt sich eine deutliche Reduzierung der Simulationsdauer erreichen. Mit steigender Anzahl der Teilchen verstärkt sich dieser Effekt.

### 4.3.3 Generalisierung von 2D-Simulationsdaten auf 3D

Um die in Kapitel 3.1.2 dargestellte Methode zur Generalisierung von 2D-Datensätzen auf 3D zu überprüfen, wurde ein 2D-Datensatz, sowie ein echter 3D-Datensatz mit der hexagonal-angeordneten Zylindergeometrie mit ansonsten identischen Simulationsparameter simuliert. Des weiteren wurde eine 2D-Simulation mit separater freier Diffusion der z-Komponente als Vergleich durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.17 dargestellt. Sowohl die generalisierte 2D-Simulation als auch die 2D-Simulation mit extern simulierter z-Komponente sind im Rahmen des Monte-Carlo-Rauschens ( $\text{SNR} \geq 10000$ ) identisch zur echten 3D-Simulation. Hierdurch lässt sich zum einen Simulationsdauer als auch limitierter GPU-Speicher einsparen. Zudem können mit dieser Generalisierung das Diffusionsverhalten von komplexeren Modellen wie Faserkreuzungen (siehe Kapitel 3.1.2) aus zunächst parallelen Zylindern berechnet werden, was ebenfalls in einer deutlichen Reduktion der Simulationskomplexität resultiert.

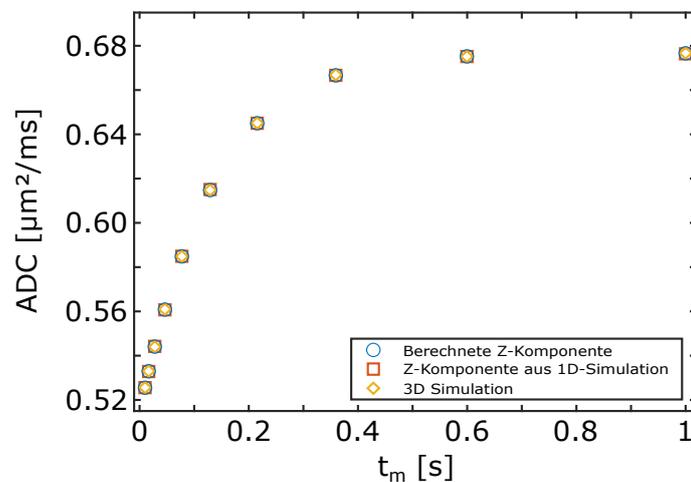


Abbildung 4.17: Vergleich der resultierenden ADC-Werte für die vorgeschlagene Generalisierung von 2D-Datensätzen auf 3D mit echten 3D-Simulationen, sowie der Verwendung von freier Diffusion als z-Komponente der 2D-Simulation. Im Rahmen der Genauigkeit resultieren alle Methoden in identischen ADC-Werten.

## 4.4 Apparent Exchange Rate-Simulationen

Teile des folgenden Abschnitts wurden in der Zeitschrift *Magnetic Resonance in Medicine* (MRM) unter dem Titel „Apparent exchange rate imaging: on its applicability and the connection to the real exchange rate“ zur Publikation eingereicht und akzeptiert [Lud+21]. Teile dieses Manuskripts sowie Abbildungen werden hier, falls nicht abweichend gekennzeichnet, sinngemäß wiedergeben. Um den Lesefluss nicht unnötig zu behindern sind nur die notwendigsten Simulationsparameter in den Ergebnissen wiedergeben. Grundsätzlich sind die für die jeweiligen Geometrien verwendeten Simulationsparameter in Tabelle 3.1 aufgelistet. Abweichungen hiervon finden sich in Kapitel 3.1.4. Parameter von hoher Relevanz sind zusätzlich innerhalb der jeweiligen Abbildung gekennzeichnet.

### 4.4.1 Vergleich der Fitmethoden zur Bestimmung der Apparent Exchange Rate

Für den üblichen Fall einer Diffusionsmessung, welche die Aufnahme multipler Gradientenrichtungen beinhaltet, ergeben sich mehrere Methoden zur Mittelung des Signals. Die Möglichkeiten mit der experimentell höchsten Relevanz haben hierbei die geometrische und arithmetische Signalmittelung. Für die geometrische Signalmittelung gilt:

$$\frac{S_{\text{geometrisch}}(b, t_m)}{S_{\text{geometrisch}}(0, t_m)} = \sqrt[N]{\prod_i e^{-bD_i(1-\sigma_i \exp(-AXR \cdot t_m))}} \equiv e^{-b \cdot \overline{ADC(1-\sigma \exp(-AXR \cdot t_m))}}, \quad (4.2)$$

was wiederum äquivalent zur arithmetischen Mittelung der ADC-Werte der einzelnen Richtungen ist, sich jedoch direkt an das Signal fitten lässt. Für die arithmetische Signalmittelung gilt:

$$\begin{aligned} ADC(t_m) &= -\frac{1}{b} \ln \left( \frac{\overline{S(b, t_m, i)}}{\overline{S(0, t_m, i)}} \right) \\ &= -\frac{1}{b} \ln \left[ \frac{\sum_i S_0(t_m) e^{-b_f D_i} e^{-b D_i (1 - \sigma_i \exp(-AXR_i \cdot t_m))}}{\sum_i S_0(t_m) e^{-b_f D_i}} \right], \end{aligned} \quad (4.3)$$

was sich nur für den Fall  $b_f \rightarrow 0$  vereinfachen lässt und damit von Gleichung 4.2 abweicht. Da beide Methoden in den bisherigen Veröffentlichungen zur *Apparent Exchange Rate* Verwendung fanden [Lam+17; Las+16; Nil+13], wurden die Mittelungsmethoden für verschiedene SNR Werte verglichen. Exemplarisch wurde hierfür ein Datensatz mit unterschiedlichen Graden an Orientierungsdispersion der simulierten Axone verwendet; ein kleines  $\kappa$  entspricht hier einer Faserkreuzung, also großer Orientierungsdispersion. Die ermittelten Werte finden sich in Tabelle 4.2. Dabei zeigt sich, dass beide Mittelungsmethoden für den Fall von rauschfreien Daten ( $\text{SNR} \rightarrow \infty$ ) identische Ergebnisse liefern

## 4 Ergebnisse

(die Ergebnisse wurde hierfür explizit nicht auf signifikante Nachkommastellen gerundet), während für endliches SNR die arithmetische Signalmittelung stabilere Ergebnisse für die 20 Simulationsdurchläufe liefert.

SNR inf	$\kappa = 4$	$AXR_{arith} [1/s]$	$24.3338 \pm 0.3360$
		$AXR_{geo} [1/s]$	$24.3363 \pm 0.3348$
	$\kappa = 16$	$AXR_{arith} [1/s]$	$24.3338 \pm 0.3359$
		$AXR_{geo} [1/s]$	$24.3397 \pm 0.3260$
	$\kappa = 128$	$AXR_{arith} [1/s]$	$24.3338 \pm 0.3359$
		$AXR_{geo} [1/s]$	$24.3364 \pm 0.3251$
SNR 250	$\kappa = 4$	$AXR_{arith} [1/s]$	$24.7 \pm 4.7$
		$AXR_{geo} [1/s]$	$23.9 \pm 5.9$
	$\kappa = 16$	$AXR_{arith} [1/s]$	$23.7 \pm 4.3$
		$AXR_{geo} [1/s]$	$22.6 \pm 28.7$
	$\kappa = 128$	$AXR_{arith} [1/s]$	$26.5 \pm 3.9$
		$AXR_{geo} [1/s]$	$24.0 \pm 18.9$

Tabelle 4.2: Vergleich zwischen arithmetischer und geometrischer Signalmittelung im Bezug auf die AXR-Bestimmung für unendliches SNR und SNR 250, sowie verschieden stark ausgeprägte Orientierungsdispersion der Axone.

### 4.4.2 Apparent Exchange Rate und die echte Austauschrate

Laut den Herleitungen (vgl. Gleichung 2.76) können AXR und echte Austauschrate nie identisch sein. Um zu überprüfen, ob sowohl die AXR- als auch die  $k_{\leftrightarrow}$ -Ergebnisse für verschiedene Geometrien der Theorie entsprechen und der Zusammenhang zwischen dem AXR-Wert und der echten Austauschrate gilt, wurden im Folgenden mehrere Geometrien, sowie verschiedene Packungsdichten untersucht. Der Zusammenhang zwischen intrazellulärem Volumen  $f_i$  und der echten Austauschrate  $k_{\leftrightarrow}$ , sowie dem AXR-Wert ist in Abbildung 4.18 für ein eindimensionales bi-slab (a), hexagonal angeordnete Zylinder (3D-Axon(Hex)) (b) und ein kubisch flächenzentriertes Gitter mit Kugeln (3D-Fcc) (c) dargestellt. Die Theoriewerte wurden dabei mit Hilfe der Gleichungen 2.68 und 2.75 berechnet und die Messpunkte aus den Monte-Carlo-Simulationen. Die Permeabilität wurde für alle Geometrien so angepasst, dass die Austauschraten sich auf ähnlichem Niveau befinden. Des Weiteren ist in Abbildung 4.18(d-f) der zu erwartende ADC-Verlauf dargestellt. Die simulierten Austauschraten, welche anhand der tatsächlichen Membrandurchgänge berechnet wurden, sind in sehr guter Übereinstimmung mit den theoretischen Werten.

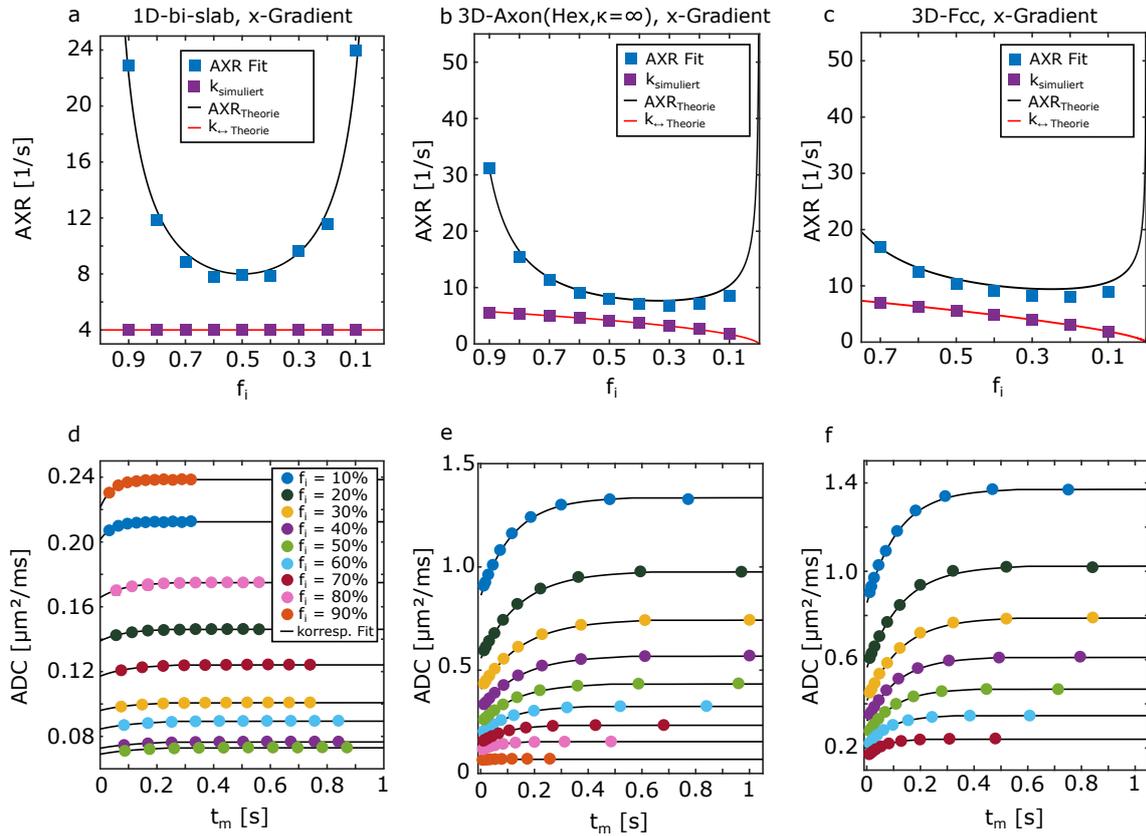


Abbildung 4.18: (a-c) Gefittete AXR-Werte und gemessene Austauschraten als Funktion der Packungsdichte. (d-f) Korrespondierende ADC-Werte und Fit-Kurven für die jeweiligen Geometrien. Es ist klar ersichtlich, dass der AXR-Wert für sehr hohe und niedrige Packungsdichten divergiert, während die echte Austauschrate dieses Verhalten nicht zeigt.

Bei den AXR-Werten gibt es für sehr kleine Packungsdichten (kleines  $f_i$ ) geringfügige Abweichungen für die mehrdimensionalen Geometrien. Die Simulationen verdeutlichen den bereits in Gleichung 2.76 herausgestellten Unterschied zwischen dem AXR-Wert und der echten Austauschrate und zeigen auch, dass die vorausgesagte Divergenz der AXR-Werte für minimale und maximale Packungsdichten in den Simulationen tatsächlich auftritt. Der Wertebereich von  $f_i$  ist durch die maximale Packungsdichte der jeweiligen Geometrie festgelegt und daher ist die Divergenz im eindimensionalen Fall (1D-bi-slab) besonders ausgeprägt, da  $f_i$  hier Werte im kompletten offenen Intervall  $]0,1[$  annehmen kann, während für die hexagonal angeordneten Zylindern  $f_{i,max} \approx 0.9$  und für die kubisch flächenzentrierten Kugeln  $f_{i,max} \approx 0.74$  gilt. Der ADC-Verlauf in Abhängigkeit von  $f_i$  zeigt mit steigender Packungsdichte im mehrdimensionalen Fall eine Abnahme des Gleichgewichts-ADC, sowie eine Reduzierung der relativen Änderung des ADC im zeitlichen Verlauf über die Mischzeiten. Das 1D-bi-slab stellt hier eine Ausnahme dar, da beispielsweise  $f_i = 0.9$  und  $f_i = 0.1$  bis auf die Definition von intra- und extrazellulärem Kompartiment sowie dem jeweiligen Diffusionskoeffizienten identisch sind. Hier wird der kleinste ADC-Wert und die kleinste relative Änderung für einen intrazellulären Anteil von  $f_i = 0.5$  erreicht. Ebenso lässt sich beobachten, dass die Divergenz des AXR-Wertes bei sehr großem  $f_i$  in der Praxis schwierig zu beobachten sein wird, da die ADC-Änderung sehr klein ist und somit in tatsächlichen rauschbehafteten Experimenten kein stabiler Fit zu erreichen sein wird (siehe orange Punkte in Abb. 4.18e).

### 4.4.3 Geometrie- und Permeabilitätseinfluss auf die Apparent Exchange Rate

Da der Wertebereich für Membranpermeabilitäten in der Literatur sehr umfassend ist [Iba+11; Lat+94; And+00], wird die Abhängigkeit der AXR-Werte von der Membranpermeabilität im Folgenden immer doppelt logarithmisch dargestellt. In Abbildung 4.19 ist der Zusammenhang für die 3D-Axon(Hex) (a) und 3D-Fcc (b) Geometrien dargestellt. Für kleine Packungsdichten (kleines  $f_i$ ) tritt eine systematische Abweichung der AXR-Werte für beide Geometrien auf, welche für die Kugelgeometrie (3D-Fcc) etwas ausgeprägter ist. Die Abweichung der ermittelten AXR-Werte von der Theorie beträgt hier im Maximum bis zu 50%. Für hohe Packungsdichten und mittlere Permeabilitätswerte sind die ermittelten AXR-Werte und die Theorie in guter Übereinstimmung. Für die Kombination aus hohen Packungsdichten und Permeabilitäten ( $AXR > 100s^{-1}$ ) ist das System bereits nach dem Filterblock im Gleichgewichtszustand und eine Bestimmung des AXR-Werts ist nicht mehr möglich. Dies lässt sich auch in den zugehörigen ADC-Verläufen in Abbildung 4.19 (c,d) ablesen, welche exemplarisch für  $f_i = 0.6$  für die 3D-Axon(Hex) und  $f_i = 0.7$  für die 3D-Fcc Geometrie dargestellt sind. Über den gesamten Mischzeitenverlauf erfolgt für die höchsten Permeabilitäten keine Änderung, und somit ist, wie bereits zuvor erwähnt, keine aussagekräftige Bestimmung des AXR-Werts möglich. Des Weiteren ist aus den ADC-Verläufen ersichtlich, dass der Gleichgewichts-ADC mit zunehmender Permeabilität steigt, während die relative Änderung des ADC-Werts über die Mischzeit deutlich abnimmt, da der Einfluss der Diffusionsbeschränkung schwindet.

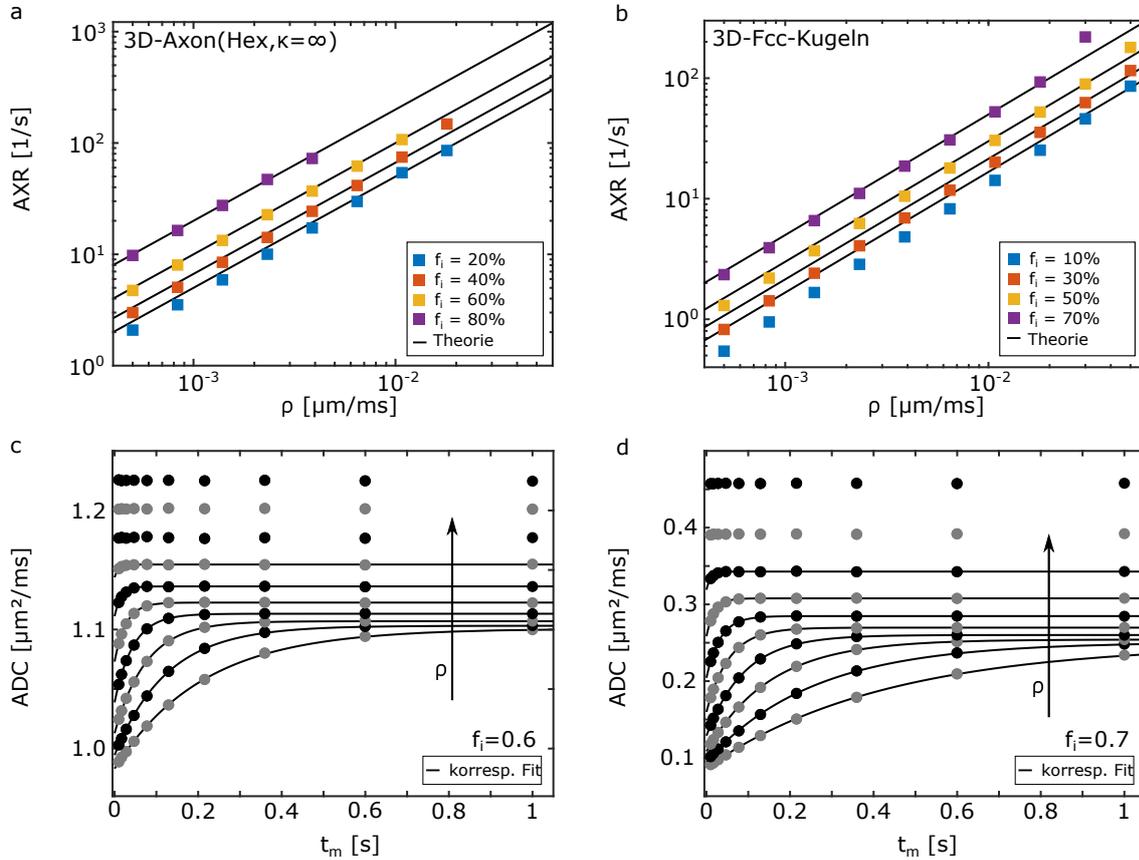


Abbildung 4.19: AXR-Werte in Abhängigkeit der Membranpermeabilität für (a) 3D-Axon(Hex)- und (b) 3D-Fcc-Geometrien für verschiedene Packungsdichten. Fehlende Datenpunkte bedeuten, dass der Fit nicht konvergiert ist. Die zugehörigen ADC-Verläufe für eine Packungsdichte von  $f_i = 0.6$  für 3D-Axon(Hex) und  $f_i = 0.7$  für 3D-Fcc sind in (c,d) dargestellt. Bis auf kleine Packungsdichten und Permeabilitäten sind die Ergebnisse in guter Übereinstimmung mit der Theorie. Für sehr hohe Packungsdichten und Permeabilitäten findet keine Änderung mehr im ADC statt, was dazu führt, dass der Fit nicht mehr konvergieren kann.

#### 4.4.4 Apparent Exchange Rate in Zellverteilungen und Axonmodellen

Die Abhängigkeit der AXR-Werte von der Membranpermeabilität für Zellverteilungen mit einer, zwei oder drei Zelldurchmessern ist in Abbildung 4.20a dargestellt. Trotz der Verwendung verschiedener Zellverteilungen, sind die resultierenden AXR-Werte bis etwa  $30 \text{ s}^{-1}$  identisch und ermöglichen keine Differenzierung der zugrunde liegenden Zellverteilung, da der AXR-Wert, wie in Gleichung 2.84 gezeigt, nur von dem mittleren Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis abhängt. Für höhere AXR-Werte stimmen die verschiedenen Zellverteilungen nicht mehr überein was teilweise mit nicht konvergierenden Fits korreliert.

Der Zusammenhang zwischen Permeabilität und dem AXR-Wert für die Axon-Größenverteilung (3D-Axon(Gamma)) mit parallelen Zylindern ( $\kappa = \infty$ ) ist Abbildung 4.20b dargestellt. Für hohe Packungsdichten ist eine zuverlässige Bestimmung der Werte bis zu einem AXR-Wert von  $20\text{-}30 \text{ s}^{-1}$  möglich. Für kleine Packungsdichten und kleine Permeabilitätswerte zeigt sich wie für die 3D-Fcc-Geometrie (siehe Abbildung 4.19b) eine systematische Abweichung von bis zu 40%. Für die einzelnen Packungsdichten ergibt sich dennoch eine lineare Abhängigkeit von der Permeabilität, welche eine verlässliche Unterscheidung der verschiedenen Packungsdichten ermöglicht.

In Abbildung 4.20(c,d) ist die Abhängigkeit der AXR-Werte von der Hauptrichtung des Faserbündels relativ zur z-Achse, beschrieben durch den Winkel  $\Phi$ , für die 3D-Axon(Gamma)-Geometrie dargestellt. Für den in (c) dargestellten Fall einer Faserkreuzung (kleines  $\kappa$ ) zeigt sich unabhängig von der gewählten Anzahl an Gradientenrichtungen keine Abhängigkeit des AXR-Werts von der Hauptrichtung des Faserbündels. Für nahezu parallele Zylinder ( $\kappa = 128$ ) ergibt sich hingegen eine deutliche Abhängigkeit von der Orientierung bei der Verwendung der drei Hauptachsengradienten und eine leichte Abhängigkeit bei Verwendung von 6 Gradientenrichtungen. Bei Verwendung von 30 Gradientenrichtungen ist keine Abhängigkeit mehr ersichtlich. Um diese Abhängigkeit besser darstellen zu können ist in Abbildung 4.20e die relative Standardabweichung des AXR-Werts über die 250 Hauptrichtungen des Faserbündels für verschiedene Permeabilitäten in Prozent dargestellt. Die gezeigten Permeabilitätswerte repräsentieren einen AXR-Bereich von  $9 - 35 \text{ s}^{-1}$ . Die Verwendung von nur 3 Gradientenrichtungen erzielt für alle Permeabilitäten die schlechteste relative Standardabweichung. Durch Verwendung von 6 oder 30 Gradientenrichtungen lässt sich diese wie bereits in Abbildung 4.20d deutlich reduzieren. Zudem geht mit höheren Permeabilitäten und dadurch größeren AXR-Werten eine Reduzierung der relativen Standardabweichung einher.

Der Zusammenhang zwischen Permeabilität und AXR-Werten für das 3D-Axon(Gamma)-Modell für verschiedene Grade von Orientierungsdispersion der Axone ist in Abbildung 4.20f dargestellt. Bei Verwendung von 30 Gradientenrichtungen zeigt sich keine Abhängigkeit zwischen AXR-Werten und Orientierungsdispersion. Für kleine Packungsdichten tritt erneut die gleiche systematische Unterschätzung des AXR-Werts wie bei fast allen bisher gezeigten Geometrien auf. Für die bisher in der Literatur gezeigten in vivo AXR-Werte [Las+16; Lam+17; Nil+13], welche sich zwischen  $0.4 \text{ s}^{-1}$  und  $12 \text{ s}^{-1}$  bewegen, ist eine verlässliche Bestimmung der AXR-Werte, bis auf eine mögliche systematische Un-

#### 4.4 Apparent Exchange Rate-Simulationen

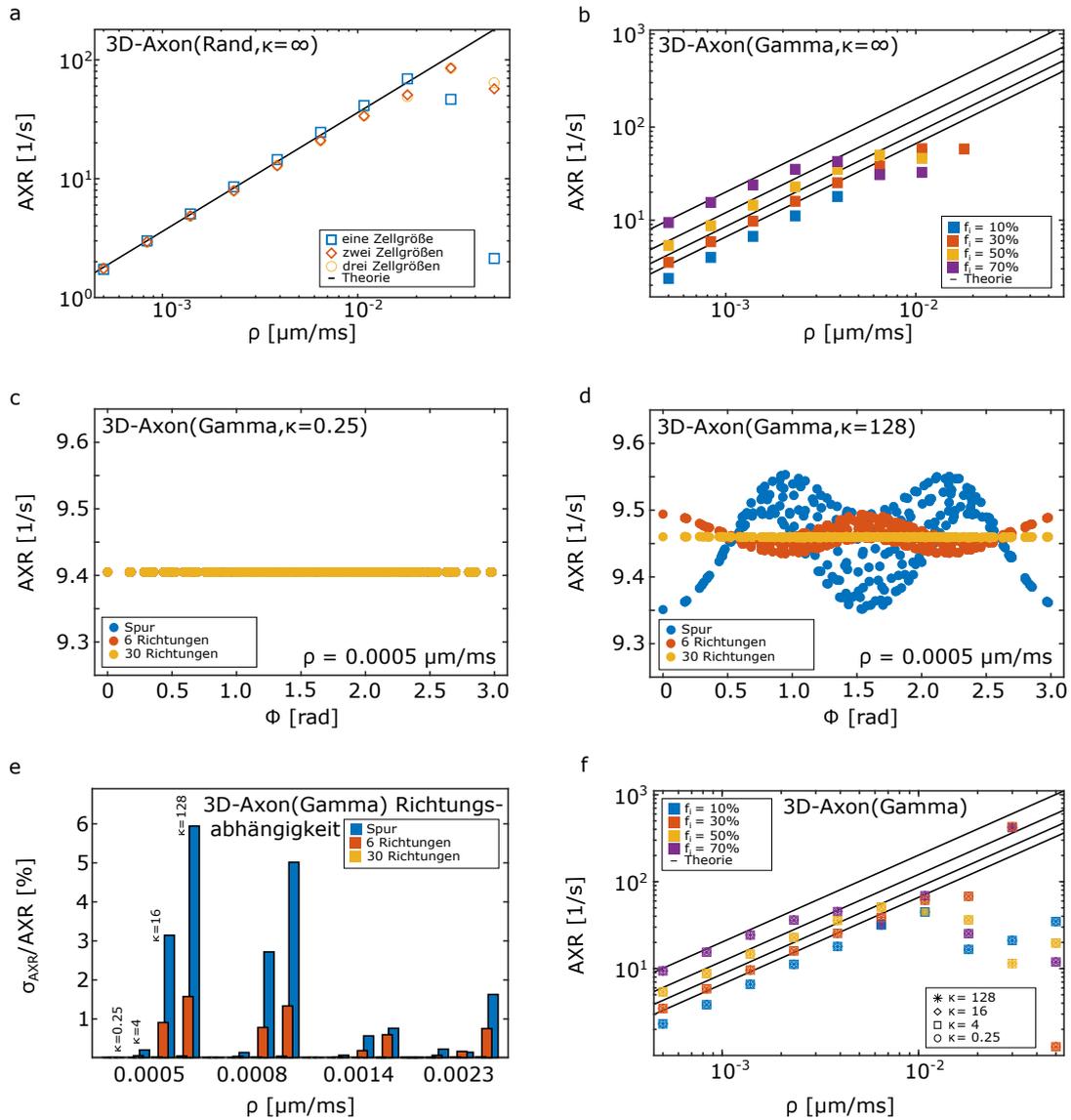


Abbildung 4.20: (a) AXR-Werte in Abhängigkeit der Permeabilität für verschiedene Zellgrößenverteilungen, welche durch das identische Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis bis  $\text{AXR} \geq 30 \text{ s}^{-1}$  im gleichen AXR-Wert resultieren. (b) AXR-Werte in Abhängigkeit der Permeabilität für verschiedene Packungsdichten für die 3D-Axon(Gamma)-Geometrie. Für hohe Packungsdichten und  $\text{AXR} \leq 30 \text{ s}^{-1}$  sind die Theorie und Ergebnisse in guter Übereinkunft. Für kleine Packungsdichten ergibt sich jedoch eine Abweichung von bis zu 40%. (c,d) Abhängigkeit der AXR-Werte von der Haupttrichtung eines Faserbündels für verschiedene Gradientenanzahlen. Für den Fall von Faserkreuzungen (c) gibt es keine Abhängigkeit von der Anzahl der Richtungen, während für nahezu parallele Faserbündel (d) eine Abhängigkeit für wenige Gradientenrichtungen vorliegt. Die zugehörige relative Standardabweichung ist in (e) dargestellt. Die relative Standardabweichung nimmt dabei mit zunehmender Permeabilität ab. Für unterschiedliche Grade an Orientierungsdispersion in (f) gibt es keine AXR-Abhängigkeit.

terschätzung, aber möglich.

#### 4.4.5 Diskrepanz des Gleichgewichts-ADC ( $ADC_{eq}$ ) für Axonmodelle in der Gegenwart von Dispersion

Während für sonstige Geometrien der Gleichgewichts-ADC ( $ADC_{eq}$ ) mit einer  $b_f = 0$  und  $t_m = 0$  Messung bestimmt werden kann, ist dies laut den Simulationen für die Axonmodelle mit Dispersion nicht möglich. Das Verhalten ist in Abbildung 4.21a dargestellt. Es ist ein klarer Unterschied zwischen der zuvor beschriebenen Messung und dem Verhalten der ADC-Kurve für  $t_m \rightarrow \infty$  zu erkennen. In Abbildung 4.21b ist die gleiche Methodik für die 3D-Fcc-Geometrie dargestellt, bei der dieses Verhalten nicht auftritt. Messung des  $ADC_{eq}$ , welcher mit einer  $b_f = 0$ -Messung bestimmt wird, und Verhalten der ADC-Kurve für  $t_m \rightarrow \infty$  sind identisch. Um die Ursache hierfür zu ermitteln, betrachten wir zunächst den Diffusionstensor für einen Zylinder, dessen Hauptachse in z-Richtung zeigt:

$$D = \begin{pmatrix} D_{\perp} & 0 & 0 \\ 0 & D_{\perp} & 0 \\ 0 & 0 & D_{\parallel} \end{pmatrix} \quad (4.4)$$

Das Signal in Abhängigkeit des b-Wertes kann wie folgt ausgedrückt werden:

$$S(b_f) = e^{-b_f \vec{n}^T \cdot D \cdot \vec{n}}, \quad \text{mit} \quad \vec{n} = \begin{pmatrix} \sin \theta \\ 0 \\ \cos \theta \end{pmatrix}, \quad (4.5)$$

wobei  $\vec{n}^T \cdot D \cdot \vec{n} = D_{app}$  gilt. In Abhängigkeit von  $\theta$  lässt sich  $D_{app}$  wie folgt darstellen:

$$D_{app}(\theta) = D_{\perp} \sin^2 \theta + D_{\parallel} \cos^2 \theta \quad (4.6)$$

Für den Fall ohne Dispersion und der Verwendung von  $N$  Gradientenrichtungen kann der mittlere Diffusionskoeffizient wie folgt bestimmt werden:

$$\begin{aligned} \overline{D_{app}} &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (D_{\perp} \sin^2 \theta_i + D_{\parallel} \cos^2 \theta_i) \\ &= -\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{b_f} \ln \left( \frac{S(b, \theta_i)}{S_0} \right) \end{aligned} \quad (4.7)$$

Für den Fall mit Dispersion muss zunächst  $D_{app}$  separat für jedes Bündel unter der Verwendung einer spezifischen Gradientenrichtung, wobei  $\alpha_j$  den Winkel zwischen Bündel  $j$

und der Gradientenrichtung beschreibt, berechnet werden. Es gilt nun für  $N_d$  Richtungen der Faserbündel:

$$\begin{aligned} \overline{D_{\text{app,Dispersion}}} &= -\frac{1}{b_f} \ln \frac{\overline{S(b_f)}}{S_0} \\ &= -\frac{1}{b_f} \left[ \frac{1}{N_d} \sum_{j=1}^{N_d} e^{-b_f D_{\text{app}}(\alpha_j)} \right] \end{aligned} \quad (4.8)$$

Diese Gleichung müsste nun noch zusätzlich über alle Gradientenrichtungen gemittelt werden. Vergleicht man Gleichung 4.8 und 4.7 ist ersichtlich, dass für den Fall mit Dispersion kein monoexponentielles Verhalten mehr vorliegt, da hier Summation und Logarithmierung im Vergleich zu Gleichung 4.7 vertauscht sind. Im Allgemeinen ist es daher für Simulationsmodelle und auch Messungen im Gehirn nicht möglich den Gleichgewichts-ADC ( $ADC_{\text{eq}}$ ) mit Hilfe der in Kapitel 2.6 beschriebenen Methode zu bestimmen.

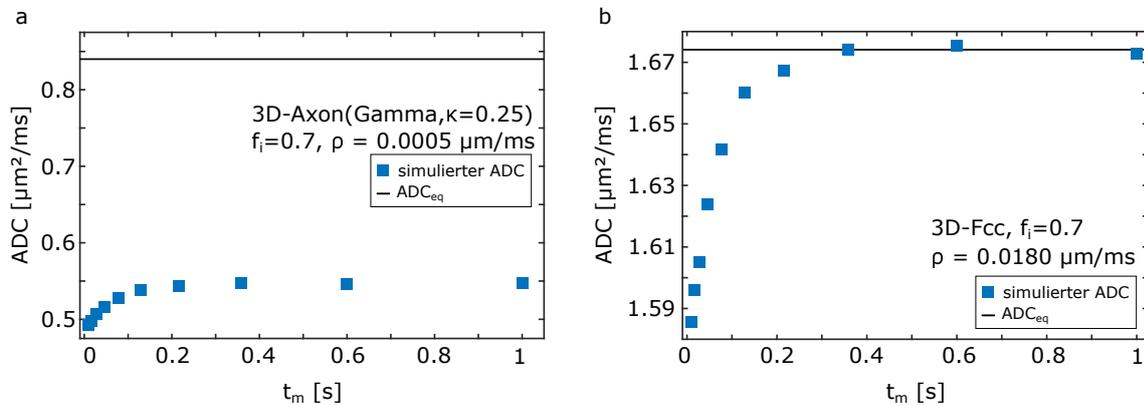


Abbildung 4.21: (a): Diskrepanz zwischen tatsächlichem Gleichgewichts-ADC ( $ADC_{\text{eq}}$ ) und dem per Gleichgewichtsmessung ermittelten ADC für Dispersionsdatensätze. Dagegen tritt für Geometrien ohne Dispersion, hier beispielhaft die 3D-Fcc-Geometrie (b), keine Abweichung auf.

#### 4.4.6 Einfluss des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses auf die Apparent Exchange Rate

##### Bestimmung des zu erwartenden SNR anhand einer in vivo Probandenmessung

Um eine Einordnung der folgenden Simulationsergebnisse zu ermöglichen, wurden mit der FEXI-Implementierung, welche im Rahmen einer Masterarbeit mit dem Titel „Apparent exchange rate mapping by magnetic resonance imaging: Sequence development and validation experiments“ [Rau20] unter meiner Betreuung zusammen mit Julian Rauch am DKFZ entwickelt wurde, an einem 3T PRISMA (Siemens Healthineers, Erlangen,

#### 4 Ergebnisse

Deutschland) SNR Messungen durchgeführt. Hierfür wurden die folgenden Parameter verwendet: Voxelgröße  $3 \times 3 \times 5 \text{ mm}^3$ ,  $TR = 2500 \text{ ms}$ ,  $TE = 66 \text{ ms}$ ,  $b_f = b_d = 0$ . Die Mischzeit wurde auf die minimale Einstellung von  $t_m = 5 \text{ ms}$  eingestellt. Mit diesen Einstellungen wurden 10 ungewichtete Diffusionsbilder aufgenommen. Um Reproduzierbarkeit zu garantieren wurde die gesamte Messung zudem 3 Mal wiederholt. Durch die folgende Gleichung lässt sich das SNR abschätzen:

$$SNR = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{(\overline{\text{Voxel}})_i}{\sigma(\text{Voxel})_i}, \quad (4.9)$$

wobei  $N$  die Gesamtzahl der Voxel beschreibt.  $(\overline{\text{Voxel}})_i$  ist der Mittelwert des  $i$ -ten Voxels über die 10 Aufnahmen und  $\sigma(\text{Voxel})_i$  die zugehörige Standardabweichung. Der so erhaltene SNR-Wert für jedes einzelne Voxel wird anschließend über alle Voxel einer Schicht gemittelt um eine stabilere Aussage zu ermöglichen. Anhand dieser Messungen konnte, über die 3 Gesamtmessungen reproduzierbar,  $SNR = 73.5$  ermittelt werden. Als minimaler SNR-Wert in den folgenden Simulationen wurde deshalb  $SNR = 75$  verwendet. Ein exemplarisches  $b_f = b_d = 0$ -Bild, welches mit der FEXI Sequenz aufgenommen wurde ist in Abbildung 4.22 dargestellt.

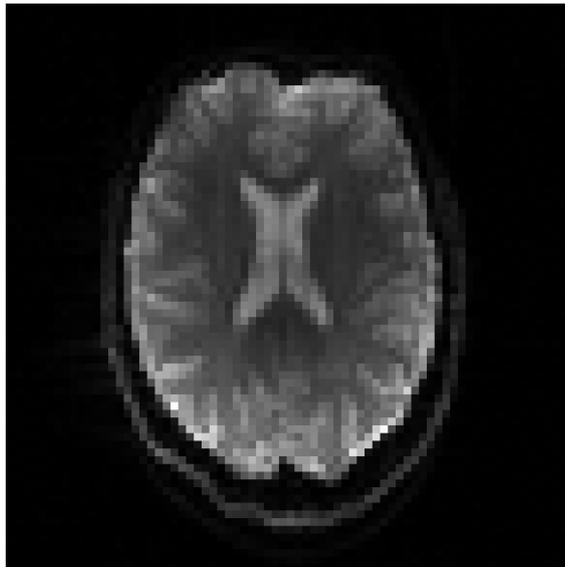


Abbildung 4.22: Exemplarisches  $b_f = b_d = 0$ -Bild welches für die SNR-Bestimmung verwendet wurde. Voxelgröße  $3 \times 3 \times 5 \text{ mm}^3$ ,  $TR = 2500 \text{ ms}$ ,  $TE = 66 \text{ ms}$ ,  $b_f = b_d = 0$ .

### Einfluss des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses auf die Apparent Exchange Rate

In Abbildung 4.23(a-d) ist die Abhängigkeit des AXR-Werts von der Permeabilität und der Packungsdichte für verschiedene SNR Werte dargestellt. Für SNR 75 (Abb. 4.23a) ist eine verlässliche Bestimmung für  $AXR \leq 20 \text{ s}^{-1}$  und  $f_i \geq 0.1$  beschränkt. In diesem Bereich ist eine Differenzierung zwischen den Packungsdichten möglich. Mit Erhöhung des SNR auf 150 (b) beschränken sich die Abweichungen auf höhere Packungsdichten und hohe Permeabilitätswerte ( $AXR \geq 30 \text{ s}^{-1}$ ). Ab einem SNR von 250 (c,d) ist das Ergebnis unabhängig vom Grad der Orientierungsdispersion der Axone ( $\kappa = 4$  und  $\kappa = 16$ ), sowie der Packungsdichte für niedrige bis mittlere Permeabilitäten nahezu identisch zum Fall ohne künstliches Rauschen (vergleiche Abbildung 4.20f). Da eine sinnvolle Bestimmung des AXR-Werts über einen größeren Bereich der Permeabilitäten erst ab SNR 250 möglich ist, wurde für die folgenden Betrachtungen der möglichen Auswirkungen verschiedener Parameter, SNR 250 als Referenz gewählt.

In Abbildung 4.23e ist die Abhängigkeit des AXR-Werts von der Permeabilität für die 3D-Axon(Hex)-Geometrie mit parallelen Zylindern unter der Verwendung von einer Gradientenrichtung, welche orthogonal zur Hauptfaserrichtung orientiert ist, für SNR 150 gezeigt. Verglichen mit (b) ist die Stabilität des Fits in (e) reduziert, es gilt jedoch zu beachten, dass durch die Reduzierung der Gradientenrichtungen ebenfalls eine Reduzierung der effektiven Mittelungen einhergeht. Der erhöhte Signalverlust für Gradientenrichtungen mit Komponenten, welche parallel zur Faserrichtung verlaufen, wird durch die erhöhte Anzahl an Gradientenrichtungen im Vergleich zu (e) überkompensiert. Dennoch könnte es hilfreich sein, falls die Orientierung der Fasern bekannt ist, das Gradientenschema so zu wählen, dass möglichst viele Gradientenrichtungen orthogonale Komponenten im Bezug auf die Faserrichtung aufweisen. Für die in Abbildung 4.23f dargestellte 3D-Fcc Geometrie mit SNR 250 zeigt sich ein äquivalentes Verhalten wie für den in Abbildung 4.19b dargestellten Fall ohne künstliches Rauschen. Während die lineare Abhängigkeit zwischen AXR-Werten und Permeabilität in guter Übereinstimmung mit der Theorie ist, zeigt sich für kleine Packungsdichten erneut eine systematische Unterschätzung.

## 4 Ergebnisse

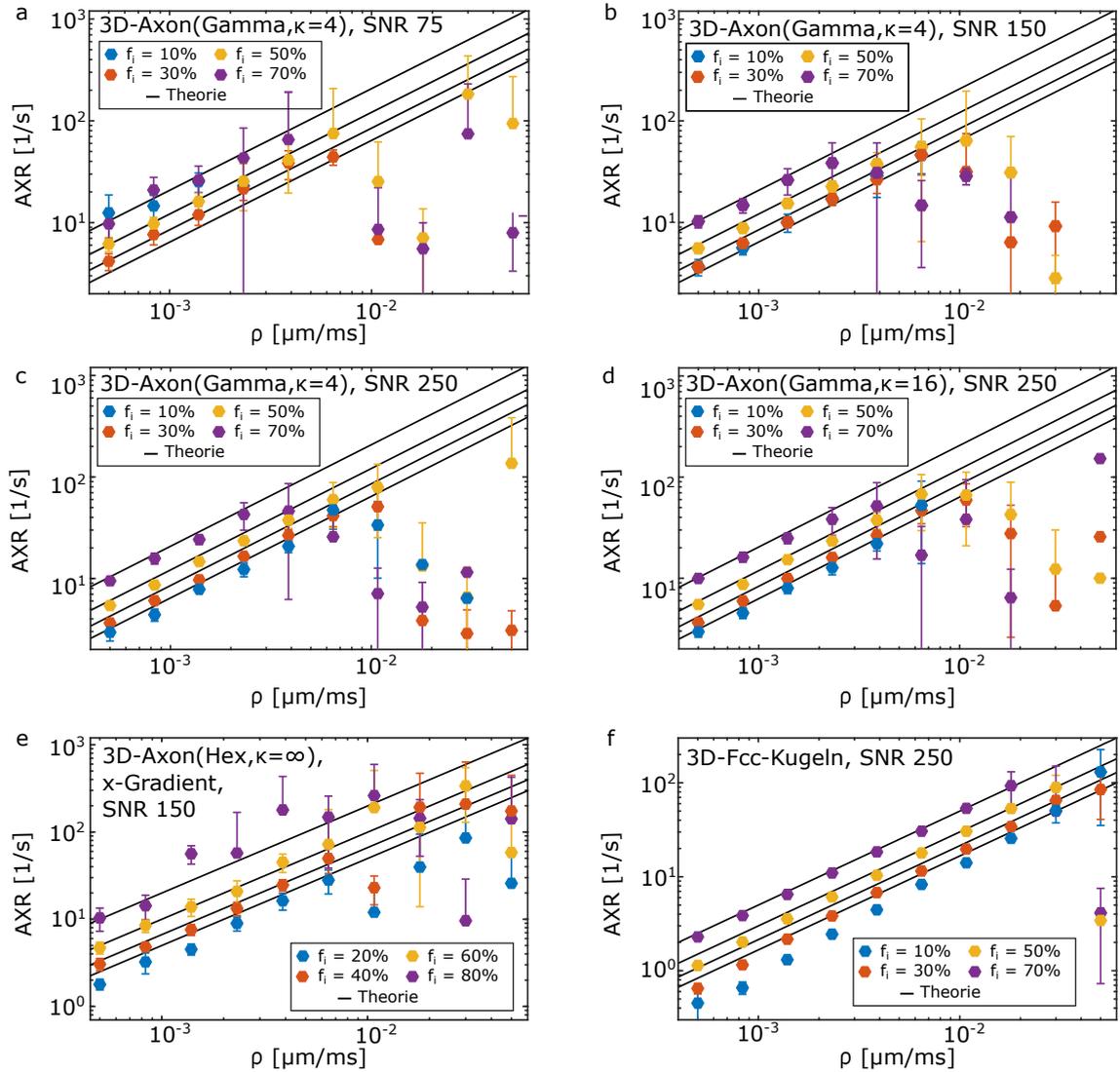


Abbildung 4.23: AXR-Werte in Abhängigkeit der Permeabilität und der Packungsdichte für die 3D-Axon(Gamma,  $\kappa = 4$ ) Geometrie für SNR 75 - 250 (a-c). Für  $\text{SNR} \geq 150$  ist es möglich verlässliche AXR-Werte zu bestimmen. Für SNR 75 ist die Bestimmung nur für kleine AXR-Werte möglich. Die Verwendung von nur einer Gradientenrichtung, welche orthogonal zur Faserrichtung verläuft ist in (e) für ein SNR von 150 dargestellt. (f): SNR 250 für die 3D-Fcc Geometrie, für welche es erneut möglich ist zwischen den verschiedenen Packungsdichten zu unterscheiden. Fehlende Datenpunkte weisen daraufhin, dass der Fit in diesen Fällen nicht konvergiert ist.

#### 4.4.7 Abhängigkeit von intra- und extrazellulären Diffusionskoeffizienten

In Abbildung 4.24(a-c) ist die Abhängigkeit der AXR-Ergebnisse von den intra- und extrazellulären Diffusionskoeffizienten für die 3D-Axon(Hex)-Geometrie dargestellt. Für die typische Annahme, dass der intra- und extrazelluläre Diffusionskoeffizient gleich groß sind, stimmen die Simulationsergebnisse mit dem erwarteten AXR-Wert überein. Das genaue Verhältnis zwischen intra- und extrazellulärem Diffusionskoeffizienten ist aber umstritten [Nov+19], weshalb ein erweiterter Parameterbereich untersucht wurde. Nur für Fälle, bei denen der intrazelluläre Diffusionskoeffizient deutlich größer als der extrazelluläre ist, kommt es zu Abweichungen beziehungsweise dazu, dass der AXR-Fit auf Grund einer zu geringen zeitlichen Abhängigkeit des ADC nicht mehr konvergiert. Dieser Zusammenhang ist laut den Ergebnissen in Abbildung 4.24(a-c) weitestgehend unabhängig vom betrachteten AXR-Bereich, welcher hier zwischen  $8 \leq AXR \leq 65 \text{ s}^{-1}$  lag. Lediglich die Standardabweichung der Fit Ergebnisse skaliert, wie erwartet, mit ansteigenden Permeabilitätswerten. Auch bei der Betrachtung von Axonen mit ausgeprägter Orientierungsdispersion ( $\kappa = 4$ ) (siehe Abb. 4.24(d-f)) zeigt sich der gleiche Zusammenhang, wobei hier höhere Standardabweichungen beobachtet werden können.

#### 4.4.8 Einfluss der Länge der Diffusionsrichtungen

Der Zusammenhang zwischen der Länge des Filterblocks und dem resultierenden AXR-Wert ist in Abbildung 4.25(a-c) für die 3D-Axon(Hex)-Geometrie unter Verwendung einer orthogonalen Gradientenrichtung dargestellt. Damit eine Bestimmung des AXR-Werts, sowohl für Daten mit als auch ohne zusätzliches Rauschen, sowie für alle Permeabilitätsregimes möglich ist, muss für die Länge des Filterblocks  $T_f \leq 2/AXR$  gelten. Für langsameren Austausch lässt sich diese Forderung etwas relativieren, allerdings resultiert ein längerer Filterblock hier in einer stark erhöhten Standardabweichung des AXR-Wertes. Den gleichen Zusammenhang zwischen Filterlänge und AXR-Werten erhält man auch für die realistischere 3D-Axon(Gamma)-Geometrie mit  $\kappa = 4$ , wobei hier erneut eine etwas höhere Streuung der Werte vorliegt.

## 4 Ergebnisse

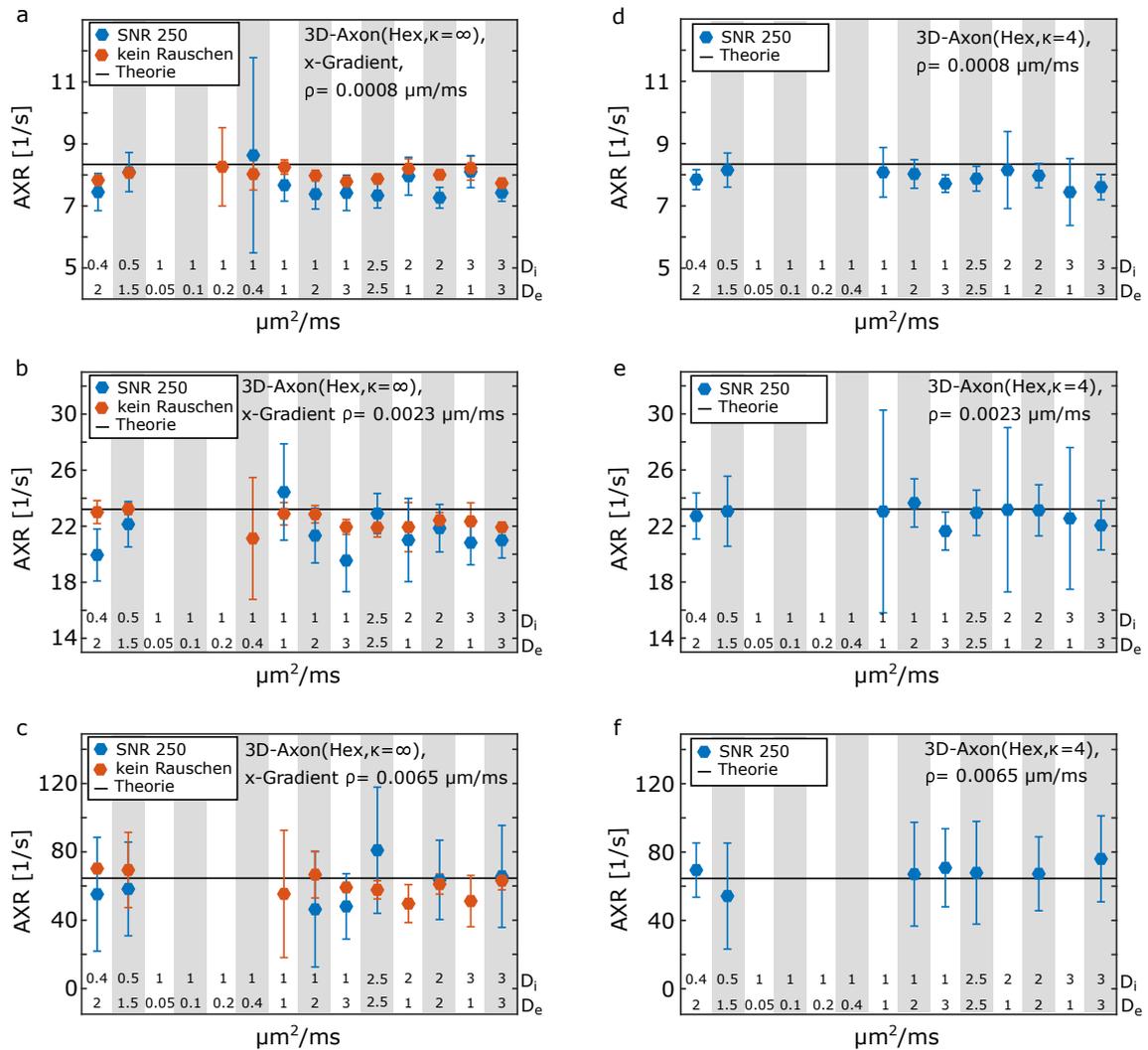


Abbildung 4.24: AXR-Werte in Abhängigkeit von unterschiedlichen Kombinationen aus intra- und extrazellulären Diffusionskoeffizienten für die 3D-Axon(Hex) Geometrie (a-c) unter der Verwendung von einer Gradientenrichtung, welche orthogonal zum Faserbündel steht. (d-f) Dieselbe Abhängigkeit für die 3D-Axon(Rand) Geometrie mit ausgeprägter Orientierungsdispersion der Axone ( $\kappa = 4$ ). Für beide Geometrien treten für übliche Kombinationen aus intra- und extrazellulärem Diffusionskoeffizienten keine signifikanten Abweichungen der AXR-Ergebnisse auf.

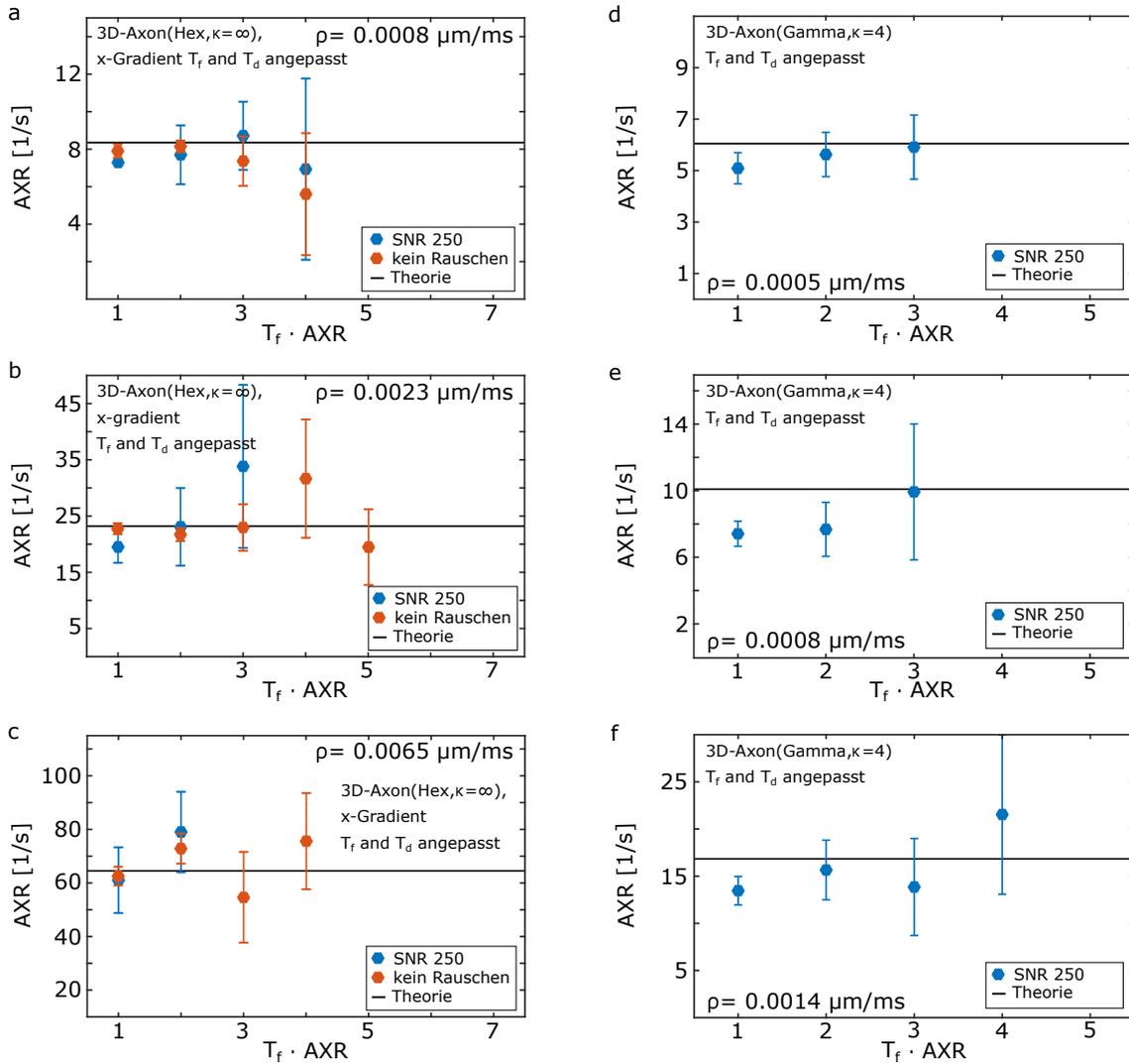


Abbildung 4.25: (a) AXR-Werte in Abhängigkeit der Länge des Filterblocks für die 3D-Axon(Hex)-Geometrie unter der Verwendung von nur einer orthogonal zur Faserrichtung liegenden Gradientenrichtung. (d-f) 3D-Axon(Gamma)-Geometrie mit  $\kappa = 4$ . Fehlende Datenpunkte weisen auf einen fehlgeschlagenen Fit hin.  $T_d = T_f + 4$  ms wurde für alle Längen des Filterblocks aufrecht erhalten. Um Austausch während des Filterblocks vernachlässigen zu können, muss  $T_f \leq 2/AXR$  gelten.

#### 4.4.9 Auswirkung unterschiedlicher $T_1$ Relaxationszeiten und Permeabilitätsverteilungen

In Abbildung 4.26a ist die Abhängigkeit der AXR-Ergebnisse von unterschiedlichen intra- und extrazellulären  $T_1$ -Relaxationszeiten für die 3D-Axon(Rand)-Geometrie dargestellt. Die  $T_1$ -Zeiten wurden so gewählt, um einen großen Bereich der Literaturwerte [Wan+99; Rak+06; Sta+05] für verschiedene Organe bei 3 T abzudecken. Bei der Analyse von Daten mit künstlichem Rauschen und Relaxation resultieren kürzere  $T_1$ -Zeiten wie erwartet in einer erhöhten Standardabweichung der AXR-Ergebnisse. Für den Fall von identischen intra- und extrazellulären Relaxationszeiten, gibt es für den Fall ohne zusätzliches Rauschen keine Abweichung von den AXR-Werten ohne Relaxation. Für Kombinationen, mit im Vergleich längerer extrazellulärer Relaxationszeit, kommt es zu einer Erhöhung des AXR-Wertes im Vergleich zur Referenz. Der umgekehrte Zusammenhang gilt indes bei längerer intrazellulärer Relaxationszeit. Die selbe Abhängigkeit, wenn auch mit erhöhter Streuung der Werte, gilt für den Fall mit künstlich hinzugefügtem Rauschen. Die Abhängigkeit der AXR-Werte auf Grund der unterschiedlichen Relaxationszeiten stellt dabei eine signifikante Änderung dar, welche nicht von einer Änderung der Permeabilität unterschieden werden kann.

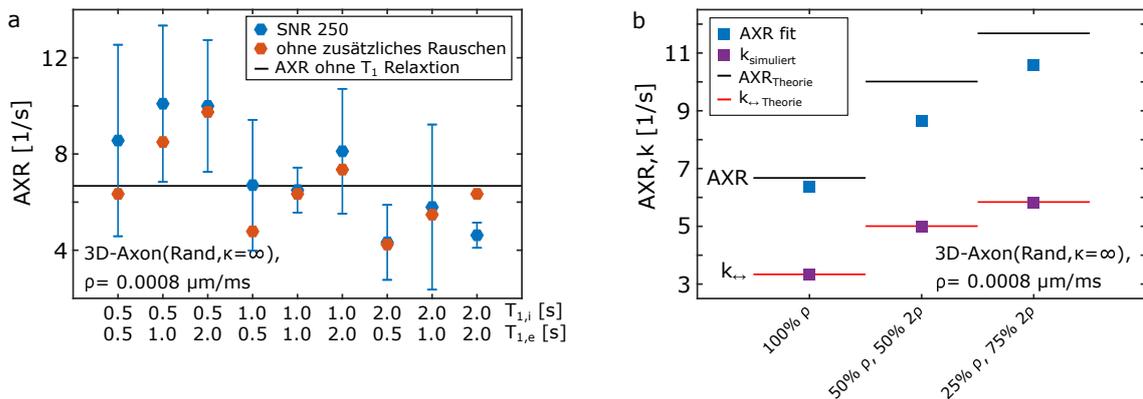


Abbildung 4.26: (a) AXR-Werte in Abhängigkeit von unterschiedlichen Kombinationen aus intra- und extrazellulärer  $T_1$  Relaxationszeit für die 3D-Axon(Rand) Geometrie mit einem Durchmesser von  $1 \mu\text{m}$ . Bei kurzen  $T_1$ -Zeiten ist die Standardabweichung erhöht. Die Änderung der Signalanteile auf Grund der  $T_1$ -Relaxation haben einen erheblichen Einfluss bei der Betrachtung ohne künstliches Rauschen, während bei SNR 250 die generale Standardabweichung dieselbe Größenordnung aufweist. (b) AXR-Werte und  $k_{\leftrightarrow}$  in Abhängigkeit von unterschiedlichen Permeabilitätsverteilungen. Sowohl  $k_{\leftrightarrow}$  als auch die AXR-Werte sind bis auf eine kleine systematische Abweichung der AXR-Ergebnisse in guter Übereinkunft mit den zu erwarteten Werten.

In Abbildung 4.26b ist die Abhängigkeit der AXR-Werte und der Austauschrate für verschiedene Permeabilitätsverteilungen der Zellen dargestellt. Dafür wurden bei 0%, 50% und 75% der Zellen die ursprüngliche Permeabilität von  $\rho = 0.0008 \mu\text{m/ms}$  auf  $\rho_{\text{neu}} = 2\rho = 0.0016 \mu\text{m/ms}$  erhöht. Dabei stimmt die simulierte Austauschrate  $k_{\text{simuliert}}$  mit der nach Gleichung 2.82 berechneten Austauschrate für Verteilungen von Zellgrößen und Permeabilitäten überein. Für die AXR-Ergebnisse im Vergleich zu den nach Gleichung 2.84 berechneten Werten zeigt sich erneut eine systematische Unterschätzung bei geringeren Packungsdichten für alle Verteilungen, welche hier auf Grund der verwendeten Geometrie auf  $f_i = 0.5$  limitiert war.

#### 4.4.10 Apparent Exchange Rate im Hefezellen-Modell

Um die simulationsbasierte Darstellung von Hefezellen im Vergleich zu den in Abbildung 4.19b verwendeten Kugeln auf einem Fcc-Gitter realistischer gestalten zu können, wurden zudem Simulationen mit Ellipsoiden durchgeführt, deren Orientierung der Längsachse zufällig auf die drei Hauptachsen verteilt ist. Der Permeabilitätsbereich ist für diese Simulation auf Grund der bestehenden Literaturwerte [Suh+03] auf  $\rho = 0.003 \mu\text{m/ms}$  bis  $\rho = 0.007 \mu\text{m/ms}$  eingeschränkt. Die Packungsdichte  $f_i$  hängt vom Gewichtsverhältnis zwischen Wasser und Hefe ab, welches bisher in den Publikationen [Las+11; Nil+13] angegeben wurde. Hier wurde ein großer Konzentrationsbereich abgedeckt. Packungsdichten größer als  $f_i = 0.45$  waren auf Grund der zufälligen Anordnung nicht möglich. Die Abhängigkeit der AXR-Werte, und der Austauschrate  $k_{\text{simuliert}}$ , von der Packungsdichte und der Permeabilität für das 3D-Hefe-Modell ist in Abbildung 4.27(a,b) dargestellt. Auch hier kommt es auf Grund der geringen Packungsdichte für alle Permeabilitätswerte zu einer systematischen Unterschätzung der AXR-Werte, während die simulierte Aus-

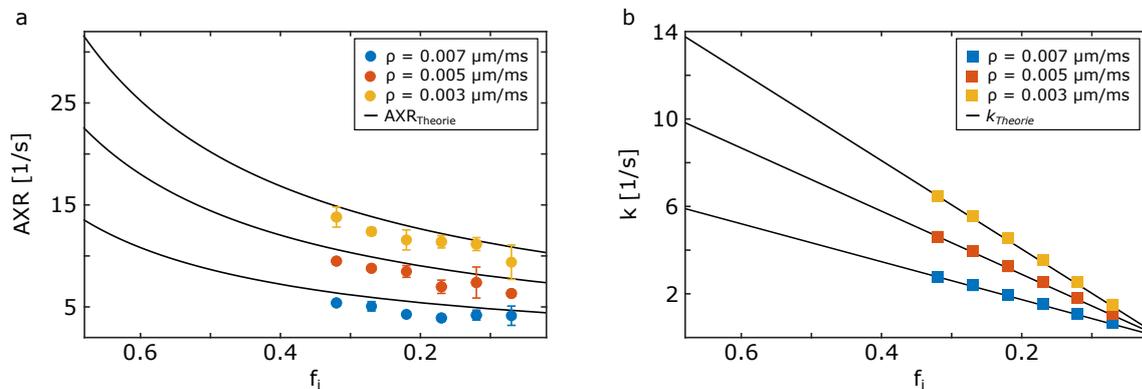


Abbildung 4.27: AXR-Werte (a) und  $k_{\text{simuliert}}$  (b) in Abhängigkeit der Packungsdichte und verschiedenen Permeabilitäten für das 3D-Hefe-Modell. Für die AXR-Werte zeigt sich die bekannte systematische Unterschätzung für kleine Packungsdichten. Die verschiedenen Permeabilitäten können jedoch separiert werden. Die simulierte Austauschrate  $k_{\text{simuliert}}$  ist in sehr guter Übereinstimmung mit der Theorie für alle Permeabilitäten.

tauschrates  $k_{\text{simuliert}}$  in sehr guter Übereinstimmung mit der Theorie ist. Eine Separation der unterschiedlichen Permeabilitätswerte ist trotz der Unterschätzung der AXR-Werte möglich.

## 4.5 Apparent Exchange Rate Verifizierungsmessungen

### 4.5.1 Apparent Exchange Rate in Hefezellen

Die Austauschraten-Messungen wurden an einem Avance II 14.1 T Spektrometer (Bruker BioSpin, Etlingen, Deutschland) durchgeführt. Dabei wurde Backhefe (Wieninger Frische Hefe, 42g) mit Gewichtsverhältnissen von (1:3,1:2,1:1,2:1) zwischen Hefe und Wasser verwendet. Teile der Messungen wurden an verschiedenen Tagen mit unterschiedlicher Hefe, sowie zur Validierung mit unterschiedlichen Probenköpfen (TBI: 5mm, TXO: 8mm Durchmesser) wiederholt. Um die Sprossung der Hefe, und damit eine Änderung der Packungsdichte, zu minimieren, wurden die Messungen bei  $T = 280$  K durchgeführt. Zudem wurden die Hefephantome nach jeder erfolgten Messung durch Aufschütteln homogenisiert, um ein Absetzen der Hefe im Zeitverlauf der Messung zu verhindern. Die vollständigen Messparameter finden sich im Anhang in Tabelle A.4. Die gemessenen Werte sind in Abbildung 4.28a dargestellt. Alle Messwerte befinden sich zwischen den AXR-Theoriekurven für Permeabilitäten von  $\rho = 0.003$   $\mu\text{m/ms}$  und  $\rho = 0.007$   $\mu\text{m/ms}$ . Auch die Messung mit einem 5mm-Röhrchen in der TXO-Probe mit unterschiedlicher Hefe stimmt innerhalb der Fehlergrenzen mit der ursprünglichen TBI-Probe-Messung überein. Wird die Messung für ein Mischverhältnis von 1:2 mit der TBI-Probe ausgeklammert, befinden sich alle Messungen zwischen den Theoriekurven für  $\rho = 0.003$   $\mu\text{m/ms}$  und  $\rho = 0.005$   $\mu\text{m/ms}$  und stimmen daher mit den verfügbaren Literaturwerten überein. Die Messungen, welche mit der 8mm-Spule durchgeführt wurden, zeigen ebenfalls ein ähnliches Verhalten. Die Fehlerbalken der Messwerte bezüglich der Packungsdichte stammen von der Abschätzung über das Gewichtsverhältnis zwischen Hefe und Wasser. Zur besseren Übersicht sind die gemessenen Werte nochmals in Tabelle 4.3 dargestellt. Auffällig ist hier, dass die Gleichgewicht-ADCs zwischen den Messungen mit verschiedenen Spulen nicht übereinstimmen, obwohl die b-Werte identisch gewählt wurden. Die zugehörigen ADC-Kurven für die Messpunkte mit blauer Markierung sind in Abbildung 4.28(b-e) dargestellt. Der Gleichgewichts-ADC ( $ADC_{\text{eq}}$ ) nimmt mit steigender Packungsdichte der Hefezellen, in diesem Fall also von (b) nach (e) ab, während die relative Änderung des ADC zunimmt. Dieses Verhalten zeigt sich auch anhand der  $ADC_{\text{eq}}$ -Werte und der Filtereffektivität  $\sigma$  in Tabelle 4.3. Verglichen mit den Simulationsergebnissen in Abbildung 4.27 zeigt sich ebenfalls eine gute Übereinstimmung mit dem Verlauf der AXR-Werte für steigende Packungsdichten, selbiges gilt auch für den qualitativen Verlauf der ADC-Kurven im Vergleich zu den Simulationsdaten.

## 4.5 Apparent Exchange Rate Verifizierungsmessungen

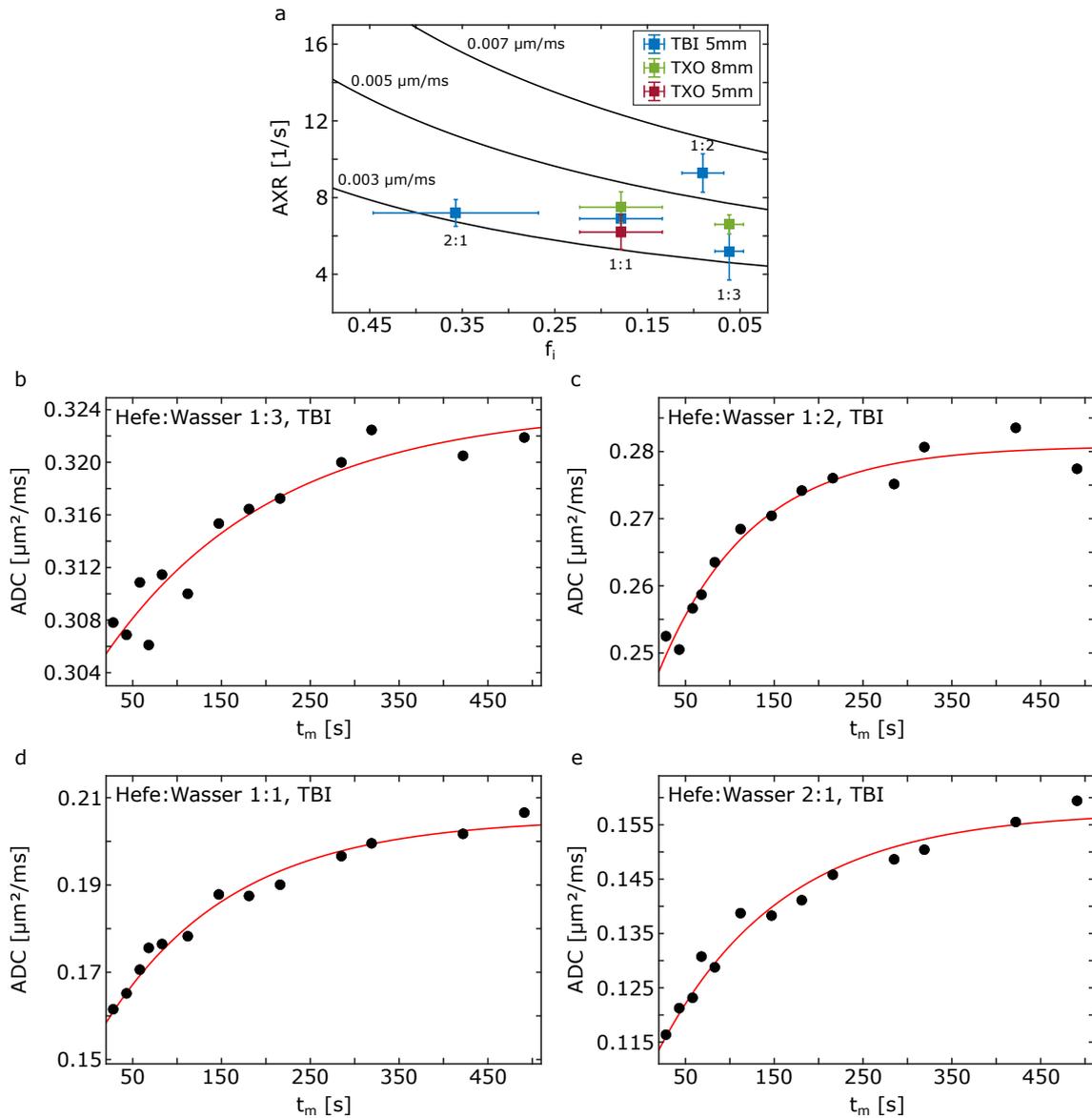


Abbildung 4.28: Hefe-Verifizierungsmessungen am 14.1 T Bruker Spektrometer. (a) AXR-Fitresultate in Abhängigkeit der Packungsdichte für unterschiedliche Spulen und NMR-Röhrchen mit unterschiedlichem Durchmesser. Die Resultate liegen, mit Ausnahme der 1:2 Messungen, zwischen den Theoriekurven für  $\rho = 0.003$  und  $\rho = 0.005$   $\mu\text{m}/\text{ms}$ . Die zugehörigen ADC-Kurven für die Messungen mit der TBI-Probe sind in (b-e) dargestellt.

## 4 Ergebnisse

Hefe:Wasser	$f_i$	$AXR [s^{-1}]$	$\sigma$	$ADC_{eq} [\mu m^2/ms]$
1:3 TBI	$0.062 \pm 0.015$	$5.2 \pm 1.5$	$0.06 \pm 0.01$	$0.32 \pm 0.03$
1:3 TXO 8mm	$0.062 \pm 0.015$	$6.6 \pm 0.5$	$0.09 \pm 0.005$	$1.003 \pm 0.003$
1:2 TBI	$0.09 \pm 0.02$	$9.6 \pm 1$	$0.15 \pm 0.06$	$0.28 \pm 0.02$
1:1 TBI	$0.18 \pm 0.04$	$6.9 \pm 0.6$	$0.26 \pm 0.03$	$0.20 \pm 0.03$
1:1 TXO 8mm	$0.18 \pm 0.04$	$7.5 \pm 0.8$	$0.21 \pm 0.06$	$0.65 \pm 0.06$
1:1 TXO 5mm	$0.18 \pm 0.04$	$6.2 \pm 0.9$	$0.18 \pm 0.05$	$0.84 \pm 0.04$
2:1 TBI	$0.36 \pm 0.09$	$7.2 \pm 0.6$	$0.32 \pm 0.01$	$0.16 \pm 0.05$

Tabelle 4.3: Vergleich der AXR-Ergebnisse für verschiedene Hefekonzentrationen, sowie unterschiedliche Proben-Köpfe und Durchmesser der NMR-Röhrchen.

## 5 Diskussion

Das Ergebnis habe ich schon, jetzt brauche ich nur noch den Weg, der zu ihm führt.

*Carl Friedrich Gauß*

### 5.1 Porenbildgebung

Durch die Porenbildgebung lassen sich Form und Größe von Poren bestimmen, welche mit normalen Detektionsmethoden der Magnetresonanztomographie nicht, oder auf Grund des limitierenden SNR nur in extrem langen Messzeiten gemessen werden könnten. Um den Preis der Mittelung der Porenform über alle Poren bzw. Zellen in einem Volumenelement, kann die Porenbildgebung dieses SNR-Problem weitestgehend lösen. In dieser Arbeit konnte die Anwendung der Porenbildgebung auf Mikrometerskala demonstriert werden.

Bei der Betrachtung des Porenphantoms für x- und y-Messungen der TBI-Probe in Bezug auf den in Kapitel 4.1.1 gefundenen sehr kleinen Linearitätsbereich muss beachtet werden, dass es sich dort um den Linearitätsbereich z-Gradienten handelt und daher die Einschränkung, kleine Phantome, bei Messungen mit dem x- und y-Gradienten der TBI-Probe verwenden zu müssen nicht gilt. Die zweidimensionalen Messungen können aus diesem Grund mit sehr ausgedehnten Phantomen durchgeführt werden. Auch die Homogenität ist sowohl für die x- als auch y-Richtung deutlich höher. Für die Porenbildgebung in z-Richtung sind die Inhomogenitäten ebenfalls vernachlässigbar, da hier der relevante Bereich der Porenphantome, welcher die Kapillaren beinhaltet, nur 2 mm betrug. Im Vergleich zur TBI-Probe weist die Diffusion-Probe trotz der 30-fach höheren Maximalamplitude eine deutlich höhere Homogenität des Gradienten auf. Es muss hierbei jedoch beachtet werden, dass die Größe des Gradienten der Diffusion-Probe eine geringere Ausdehnung aufweist und die TBI-Probe zudem deutlich älter ist.

Die Messungen der Gradientenamplitude der Diffusion-Probe sind auf Grund der geringen verwendbaren Amplituden mit einem deutlich höheren Fehler als die Messungen der TBI-Probe behaftet. Zudem muss beachtet werden, dass die Herstellung der Gradientenphantome und potentielle Abweichungen der Abmessungen einen deutlichen Einfluss auf die resultierende Amplitude haben können. Auch die Bestimmung des Frequenzabstands weist einen Fehler auf Grund der endlichen Peakbreite auf. Eine andere Methode zur Bestimmung der Gradientenamplitude ist die Messung des Diffusionskoeffizienten, welche durch Vergleich mit Literaturwerten eine Kalibration ermöglicht. Hierbei ist je-

doch ebenfalls zu beachten, dass auf Grund der starken Temperaturabhängigkeit des Diffusionskoeffizienten sowie durch Konvektion [Est+01; Swa+15; Bar+16] innerhalb der NMR-Röhrchen signifikante Abweichungen auftreten können. Zur Verifikation wurden die Messungen daher stets mit beiden Methoden durchgeführt, welche für beide Probenköpfe jeweils übereinstimmende Werte lieferten.

Die im ersten Teil implementierte Spinecho-Variante sowie auch die CPMG-artige Aufspaltung des langen Gradienten stellen keine grundsätzlich neue Variante des Lang-Kurz-Gradientenschemas [Lau+11; Kud+13] dar. Ähnliche Implementierungen wurden bereits von anderen Arbeitsgruppen mit unterschiedlichen Abweichungen durchgeführt. Um eine optimale Funktionsweise des kurzen Gradienten zu garantieren, fiel die Entscheidung darauf im Vergleich zu Hertel et al. [HHG13; Her+15; HHG15] den kurzen Gradienten nicht aufzuspalten, da dies in einem zusätzlichen, unnötigen „Randverstärkungseffekt“ resultiert. Im Vergleich zur Implementierung von Bertleff et al. [Ber+17] wurde zudem auf die Verwendung eines Auslese-Gradienten verzichtet, da dieser in einer weiteren Reduzierung der Signalintensität resultiert hätte. Diese war durch Anordnung der Glaskapillaren in z-Richtung und dem daraus folgenden Volumen von 9  $\mu\text{l}$ , sowie der notwendigen Suszeptibilitätsanpassung bereits stark reduziert.

Prinzipiell zeigen die Messungen mit der TBI-Probe in x- und y-Richtung, dass zweidimensionale Porenbildgebung an einem 14.1 T Spektrometer möglich ist. Im Gegensatz zu früheren Arbeiten [HHG13; Her+15; HHG15] war hierbei keine Anwendung mit einem CPMG-artigen Echozug nötig, sondern nur eine einfache Refokussierung. Durch die sehr ausgedehnten kurzen Gradienten kommt es aber zu einem deutlich ausgeprägten „Randverstärkungseffekt“, welcher sich hier vor allem in einer Verkleinerung des detektierten Porendurchmessers bemerkbar macht. Die Aufspaltung des kurzen Gradienten verstärkt dies zusätzlich. Die Verlängerung erfolgt hauptsächlich durch die notwendige Abklingzeit des Gradienten, sowie zu einem kleinem Teil zusätzlich durch die Länge des  $180^\circ$ -Pulses. Im Vergleich der beiden Sequenzen zeigt sich recht deutlich, dass durch die fehlende Aufspaltung des kurzen Gradienten bei der CPMG-Implementierung die „Randverstärkungseffekte“ minimiert werden können. Zudem sollte auf Grund der wiederholten Refokussierung des Signals im Allgemeinen eine höhere Signalintensität bei Messungen von Proben mit kurzem  $T_2^*$  erreichbar sein. Außerdem sind trotz der erhöhten Anzahl an  $180^\circ$ -Pulsen in den Messungen keine Signalverfälschungen durch ungewollte Echopfade erkennbar. Ein Nachteil der CPMG-Implementierung ist aber der fehlende Ausgleich von eventuellen Gleichstromversätzen.

Während durch die Suszeptibilitätsanpassung Messungen von Kapillaren mit dem z-Gradienten möglich sind, geht die Anpassung der Kapillaren mit 5-molarer NaCl-Lösung mit einer deutlichen Reduktion des Protonen-Signals einher. Diese Reduzierung erfolgt durch eine deutlich erhöhte Leitfähigkeit der Flüssigkeit und einer daraus resultierenden verringerten Sensitivität der Spule, zudem verringert sich durch das Salz die  $T_2$ -Relaxationszeit. Für eine vollständige Unterdrückung der Feldverschiebungen wäre zudem noch eine deutlich höhere NaCl-Konzentration notwendig gewesen. Die maximale Löslichkeit von NaCl in Wasser beträgt aber etwa 5.5 mol/l bei Raumtemperatur. Die hier verwendete 5-molare NaCl-Lösung wurde explizit so gewählt, um die Löslichkeit und damit die Stabilität der Phantome, auch bei kleineren Temperaturschwankungen zu gewährleisten. Auf Grund

des geringen Volumens von 9  $\mu\text{l}$  für die kleinsten Kapillaren, mussten daher für die Messungen bis zu 1024 Mittelungen aufgenommen werden, was in Gesamtmesszeiten von 24 Stunden resultierte. Diese Einschränkung würde sich prinzipiell für zukünftige Messungen durch eine Erhöhung der Anzahl der 3.5 mm langen Kapillaren im Phantom beheben lassen, jedoch ist die Handhabung der sehr fragilen und dünnen Glaskapillaren äußerst schwierig. Trotz des geringen Gesamtvolumens ist dennoch eine Aufnahme möglich, wodurch nochmal verdeutlicht wird, dass die Porenbildgebung für die Bestimmung von kleinsten Poren deutlich besser geeignet ist als eine direkte Aufnahme mittels üblicher MRT-Methoden. Insbesondere ist die SNR-Limitation bei Zellen, welche das eigentliche Zielobjekt der Porenbildgebung darstellten deutlich weniger ausgeprägt, da hier die Packungsdichte und damit das Signal, im Vergleich zu den Kapillaren sehr viel höher ist.

Ein bisher unbeachtetes Problem in der Literatur stellt die Aufnahme von Porenbildern in der Gegenwart von extraporaalem Fluid dar. Die hier präsentierten Ergebnisse bezüglich der Diffusions-Porenbildgebung mit extraporalen Signalanteilen stellen daher die ersten ihrer Art dar. Während es bei dem gezeigten Extrapolationsansatz mit der Gaußschen Phasennäherung zu deutlichen Abweichungen zwischen gemessenem und simuliertem Signal kommt, ist dennoch eine prinzipielle Bestimmung der Porengröße und Form möglich. Die Wahl der für die Extrapolation verwendeten  $q$ -Werte stellt einen Kompromiss von zwei Anforderungen dar, welche gleichzeitig nicht leicht zu erfüllen sind: Erstens müssen die  $q$ -Werte genügend groß sein, so dass die extraporalen Signalanteile weitgehend vernachlässigbar sind. Hierzu müssen Punkte in der Nähe des ersten Nulldurchganges der Porenfunktion gewählt werden. Zweitens ist auch eine ausreichende Gültigkeit der Gaußschen Phasennäherung erforderlich, welche an der ersten Nullstelle nur noch sehr eingeschränkt gilt.

Insgesamt sind diese beiden Bedingungen in den hier gezeigten Messungen nur teilweise erfüllt, was in einer Abhängigkeit von der Wahl der  $q$ -Werte resultiert. Dennoch ergibt sich eine gute Übereinstimmung mit der erwarteten Porenfunktion.

Die Unterschiede in der Signalunterdrückung zwischen beiden auf den ersten Blick identischen Filtermethoden liegen vermutlich darin, dass im extraporalen Kompartiment keine freie Diffusion vorliegt. In diesem Fall, kommt es bei Methode 1 auf Grund der effektiv kürzeren Diffusionszeit und dem noch nicht erreichten Langzeit-Limit zu einer reduzierten Filterleistung im Vergleich zu Methode 2. Die Oszillationen bei Methode 1 lassen sich hierdurch jedoch nicht erklären und wirken eher wie zusätzliche Echopfade, welche in Methode 2 nicht auftreten. Durch Verwendung von Methode 2 als Filter für extraporale Signalanteile ist die eindimensionale Porenbildgebung von Glaskapillaren ohne signifikante Abweichungen von der erwarteten Signal- und Porenform möglich.

Eine allgemeine Herausforderung bei Messungen mit der Diffusion-Probe stellte die limitierte Gradientenauflösung von 16 bit dar. Daraus resultiert eine minimale Schrittweite von 0.003 % für das Gradientenraster. Diese Schrittweite ist vor allem für die an- und absteigenden Flanken des langen Gradienten bei kleinen  $q$ -Werten ein Problem, da sichergestellt werden musste, dass es hier nicht zu einer Verfälschung des  $q$ -Wertes und damit einem Verlust der Refokussierung nach dem kurzen Gradienten kommt. Dazu wurde aus dem möglichen Raster, dem gemessenen Gleichstromversatz und den gewünschten Gradientenlängen, mögliche Gradientenamplituden sowie notwendige  $q$ -Wert-abhängige

Anpassungen der Länge des kurzen Gradienten berechnet. Dank dieser Orientierungshilfe und einer manuellen Optimierung der Gradientenlänge  $\delta_S$ , welche über die Suche nach dem Maximum des aufgenommenen Signals vollzogen wurde, konnten diese Probleme kompensiert werden. Weitere Probleme der Diffusion-Probe, beziehungsweise mit dem Gradientenverstärker, stellten mit jedem Einbau wechselnde Gleichstromversätze und Parameter zur Wechselstromkompensation dar, die jeweils zeitaufwendig vor jeder Messung ausgeglichen werden mussten.

Auch wenn es bei der Messung der polymerisierten Hohlkugeln noch zu starken Abweichungen zwischen gemessenen Signalintensitäten und der Simulation kommt, konnte dennoch gezeigt werden, dass mit der in dieser Arbeit implementierten Sequenz, sowie der Optimierung der Länge des kurzen Gradienten, eindimensionale Porenbildgebung mit einer maximalen Gradientenamplitude von bis zu  $G_{\max} = 12.06 \text{ T/m}$  möglich sind. Diese Gradientenstärken, sowie die gefilterte Aufnahme von Porensignalen mit extraporalen Signalanteilen waren bisher nicht möglich. Als mögliche Ursache für die Abweichungen kommen neben unvollständig gefüllten Kugeln auch Kugeln in Frage, deren Hülle nicht vollständig geschlossen war. Des Weiteren ist es auch möglich, dass sich größere Konglomerate gebildet haben, die in den Lichtmikroskop-Aufnahmen nicht erkannt wurden. Zur besseren Verifikation, müssten in der Zukunft neben den Lichtmikroskop-Aufnahmen zusätzlich Rasterelektronenmikroskop-Aufnahmen durchgeführt werden.

Einen weiteren weitestgehend unbeachteten Teil der Porenbildgebung stellt der Einfluss der Zellmembranpermeabilität auf das gemessene Porensignal und die daraus resultierende Porenfunktion dar. Während es bei den bisherigen Experimenten stets hilfreich war, die Dauer des langen Gradienten möglichst groß zu wählen, gilt diese Regel bei der Messung von austauschenden Systemen nicht mehr. Mit ansteigender Dauer des langen Gradienten kommt es zu einer zunehmenden Abweichung der gemessenen Porenfunktion von der Theorie. Problematisch ist hierbei, dass der lange Gradient eine gewisse Dauer aufweisen muss, damit der Schwerpunkt der Teilchentrajektorie in den Schwerpunkt der Zelle übergeht (für  $\delta_L \rightarrow \infty$ ). Dem steht nun die ansteigende Wahrscheinlichkeit des Austausches für Zellmembranen mit einer definierten Permeabilität gegenüber. Schaffen es Teilchen oder Wassermoleküle während dieser Zeit die Pore zu verlassen, sorgen sie beim kurzen Gradienten für einen konstanten Untergrund in der Porenfunktion. Während eine genaue Abschätzung der optimalen Länge nicht möglich erscheint, ist der Einfluss auf die Porenbildgebung an den beispielhaft gewählten Hefezellen und den dort vorherrschenden Permeabilitätswerten bis auf einen konstanten Versatz und leichte „Randverstärkungseffekte“ gering. Dies gilt sowohl für die bisherigen Literaturwerte als auch für die Werte, welche mit Hilfe der AXR-Messungen an Hefephantomen in dieser Arbeit gemessen wurden. Beachtet werden sollte dennoch, dass die Abweichungen neben der Permeabilität auch von der Packungsdichte, der Geometrie und der Größe der Zellen abhängen wird. Trotz der hier betrachteten hohen Austauschraten war es aber dennoch, bis auf kleine Abweichungen möglich, Porenfunktionen von Poren in der Größe einer Hefezelle zu bestimmen.

Für zukünftige *in vivo*, beziehungsweise *in vitro* Experimente könnte es daher von Interesse sein, zunächst AXR-Messungen durchzuführen, um eine grobe Abschätzung der Membranpermeabilität zu ermöglichen und damit den möglichen Bereich der Dauer des langen Gradienten  $\delta_L$  einzuschränken.

## 5.2 Monte-Carlo-Simulationstool

Um die Einflüsse der Permeabilität auf die Porenfunktionen simulieren zu können, sowie die Untersuchungen der *Apparent Exchange Rate* in dieser Arbeit zu ermöglichen, wurden die verwendeten Geometrien, Sequenzen und Berechnungen der Wahrscheinlichkeit des Austausches in das Monte-Carlo-Simulationstool implementiert. Hierzu wurden die Möglichkeiten maßgeblich im Zuge dieser Dissertation erweitert. Viele der hier gezeigten Simulationen wären ohne die Implementierung der elastischen Reflexion und der Verwendung der GPU-Beschleunigung nicht möglich gewesen. Im Gesamten wurden verteilt auf 4 Nvidia Tesla V100, 2 Titan Xp und 8 Tesla K20, etwa 8 TB an Simulationsdaten mit einer Gesamtrechenzeit, verteilt auf die verschiedenen Systeme, von einem halben Jahr erzeugt.

Die Berechnung der elastischen Reflexion basiert ausschließlich auf der Geometrie der jeweiligen Zelle. Es ist zudem zu beachten, dass die Herleitung der Wahrscheinlichkeit für den Durchgang durch die Zellmembran nur für eindimensionale Membranen definiert ist. Diese Limitierung kann, wie in Abbildung 3.1 beschrieben, umgangen werden. Hierfür muss nicht der Abstand zwischen Startpunkt des Teilchen und Schnittpunkt der Trajektorie mit der Zellmembran berücksichtigt werden, sondern der Abstand zur Tangentialebene, welche am Schnittpunkt konstruiert wird. Voraussetzung für diese Annahme ist eine kleine Schrittweite, so dass die Krümmung der Geometrie von geringer Bedeutung ist. Dadurch lassen sich im Vergleich zur Rejection-Methode, falls die Mindestschrittzahl für die jeweilige Geometrie und Größe der Zellen erfüllt ist, verlässliche Austauschraten simulieren. Die Divergenz der Austauschrate bei der Rejection-Methode lässt sich vermutlich dadurch erklären, dass Teilchen, welche sich in der Nähe einer Membran aufhalten und bei denen der nächste Zufallsschritt abgelehnt wurde, weiter an diesem Ort verbleiben. Durch dieses verlängerte Verharren nahe der Membran wird die Wahrscheinlichkeit für eine Überquerung unnatürlicherweise erhöht. Interessanterweise ist die Simulation durch die Reflexions-Methode bei gleicher und auch höherer Schrittzahl schneller als die Rejection-Methode, da hier ständig und vor allem zeitintensiv neue Zufallszahlen generiert werden müssen.

Die ursprüngliche Version des Monte-Carlo-Simulationstools hat zudem nur die Verwendung von CPU-Berechnungen vorgesehen. Durch den erhöhten Rechenaufwand für kleine Geometrien auf Grund der notwendigen Schrittzahl wären die hier gezeigten Simulationen nicht möglich gewesen. Erst durch die Implementierung einer CUDA-basierten Simulationen, welche auch die simultane Verwendung von mehreren GPUs ermöglichten, sind diese Untersuchungen möglich geworden.

Ohne die Implementierung der Generalisierungsmethode und der darauf basierenden Methode zur Berechnung der Signale in der Gegenwart von Axondispersion, wären die in Kapitel 4.4.4 gezeigten Simulationen bezüglich der unterschiedlichen Axondispersionen nicht möglich gewesen. Eine tatsächliche zufällige Verteilung der Zylinder im Raum wäre auf Grund der Schnittpunktberechnung äußerst komplex. Entweder hätte daher das Volumen begrenzt oder zusätzliche Eigenschaften wie Windungen oder Änderungen im Durchmesser eingebaut werden müssen. Auch in der stark vereinfachten Generalisierungsmethode betrug die Simulationszeit mehrere Wochen, eine direkte Simulation der

Dispersionsdaten hätte damit vermutlich mit den zur Verfügung stehenden Rechenkapazitäten jede Relation gesprengt. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Generalisierung nur für den Fall von identischen intra- und extrazellulären freien Diffusionskoeffizienten verwendet werden kann.

### 5.3 Apparent Exchange Rate Imaging

Während die Zellmembranpermeabilität für die Porenbildgebung als Problem wahrgenommen werden kann, stellt sie für die Charakterisierung des Zellstatus einen sehr wichtigen Faktor dar und hat das Potential, Einblicke in viele Pathologien zu liefern. Zusätzlich könnte sie auch ein wichtiger Parameter zur Eingrenzung der möglichen Gradientenlängen für die Diffusions-Porenbildgebung und deren Anwendung auf nicht geschlossene Poren sein. Mit Hilfe der diffusionsgewichteten Bildaufnahme bietet sich die Möglichkeit diesen Parameter nicht invasiv zu untersuchen [Las+16; Sch+17; Las+11; Nil+13; Lam+17; Tia+17; SRC20; Søn+14; Bre+20]. Mehrere Publikationen haben bereits die Anwendbarkeit für in vivo Anwendungen bestätigt. Die Verbindung zwischen der Membranpermeabilität und daraus resultierenden mikrostrukturellen Parameter, wie der Austauschrate sowie die geometrischen Eigenschaften der Diffusionsrestriktionen, wurden bereits in [Tia+17] untersucht. In dieser Arbeit wurden diese Untersuchungen um den Zusammenhang zwischen AXR-Werten und Permeabilität, Geometrien, freie Diffusionskoeffizienten, Axondispersion, Gradientenrichtungen,  $T_1$ -Relaxation, Permeabilitätsverteilungen und die Verbindung zur echten Austauschrate erweitert. Die Überprüfung der experimentellen Anwendbarkeit erfolgte dabei mit Hilfe von theoretischen Analysen, sowie durch Monte-Carlo-Simulationen.

Bei der Betrachtung der optimalen Signalmittelung für die AXR-Messungen ist, mathematisch gesehen, die geometrische Signalmittelung (Gleichung 4.2) zu bevorzugen, da sich hier die Gleichung vollständig vereinfachen lässt. Im Vergleich hierzu lässt sich die Signalgleichung bei der arithmetischen Mittelung (Gleichung 4.3) nur für den Fall von  $b_f \rightarrow 0$  vereinfachen, was einen klaren Unterschied zu Gleichung 4.2 darstellt. Dennoch sind die resultierenden Fit-Ergebnisse für den Fall von rauschfreien Daten identisch. Bei endlichem SNR resultiert die Verwendung der arithmetischen Signalmittelung dann in einer reduzierten Standardabweichung. Der Grund hierfür ist der große relative Fehler der Signale, welche parallel zur angelegten Gradientenrichtung verlaufen. Dieser Fehler wirkt sich durch die Multiplikation bei der geometrischen Signalmittelung stärker auf das Gesamtsignal aus als durch die Addition bei der arithmetischen Signalmittelung, wenn rauschbehaftete Signale betrachtet werden. Im Allgemeinen ist daher die arithmetische Signalmittelung bei AXR-Messungen zu bevorzugen.

Es ist offensichtlich, dass die AXR-Werte und die zugrundeliegende echte Austauschrate, welche auch als inverse mittlere Aufenthaltsdauer definiert ist, nicht identisch sind. Für sehr hohe und niedrige Packungsdichten konnten zudem für den Verlauf der AXR-Werte Divergenzen beobachtet werden, welche für die echte Austauschrate nicht auftreten. In tatsächlichen Messungen werden die Divergenzen der AXR-Werte üblicherweise nur schwer messbar sein, da durch die geringen Signalanteile des kleineren Komparti-

ments nahezu keine zeitliche Änderung der ADC-Kurven über die Mischzeiten auftreten wird. Dies führt vor allem unter der Einbeziehung von endlichem SNR zu einer hohen Varianz der resultierenden Fit-Ergebnisse.

Die ADC-Kurven in Abhängigkeit der Mischzeit  $t_m$  werden durch die Fits sehr genau beschrieben, wenn Permeabilitäten betrachtet werden, welche typischerweise bei Zellen auftreten. Für sehr hohe Permeabilitäten findet innerhalb der Mischzeiten keine Änderung innerhalb der ADC-Kurve mehr statt und damit sind aussagekräftige AXR-Fits nicht mehr möglich. Durch Reduktion der Länge beider Diffusionswichtungen lässt sich dieses Verhalten etwas verbessern. Für kleine Packungsdichten und Permeabilitäten treten bei der 3D-Fcc-Geometrie Abweichungen des AXR-Wertes von bis zu 50% gegenüber dem theoretisch erwarteten Wert auf. Dennoch bleibt ein nahezu linearer Zusammenhang zwischen den AXR-Werten und der Permeabilität  $\rho$  erhalten.

Wie auf Grund der Herleitung des AXR-Wertes in Zellverteilungen vermutet, hängt der AXR-Wert tatsächlich nur von dem mittleren Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis sowie der mittleren Permeabilität und der Packungsdichte ab. Daher können die AXR-Werte im Allgemeinen nicht dazu verwendet werden um entsprechende Verteilungen zu unterscheiden.

Die AXR-Werte können unabhängig von der Ausprägung der Axondispersion bestimmt werden, sofern mehr als drei Gradientenrichtungen verwendet werden. Bei Verwendung von drei Gradientenrichtungen war eine geringfügige Abhängigkeit feststellbar. Daher scheint es ratsam, bei AXR-Messungen, welche in der weißen Nervensubstanz oder in anderem anisotropen Gewebe durchgeführt werden, 6 beziehungsweise 30 Gradientenrichtungen zu verwenden, sofern es die verfügbare Messzeit erlaubt. Für den Fall von Faserkreuzungen (kleines  $\kappa$ ) verschwindet diese Abhängigkeit, da solche Strukturen keinerlei Richtungsabhängigkeit aufweisen. Für zukünftige Untersuchungen könnte es interessant sein, den Effekt von Mikrodispersion [BLN20] zu untersuchen, welcher auf Grund von Krümmung und Änderungen des Axondurchmessers eventuell einen größeren Einfluss auf den AXR-Wert haben könnte.

Bezüglich der AXR-Simulationen mit künstlich hinzugefügtem Rauschen konnte gezeigt werden, dass für SNR-Werte von 150-250 eine stabile Bestimmung der AXR-Werte für einen großen Bereich des relevanten Parameterraums möglich war. Für SNR 75 ist dieser verlässliche Bereich auf  $AXR \leq 20 \text{ s}^{-1}$  beschränkt, was aber immer noch die bisher in der Literatur verfügbaren Werte abdeckt [Las+16; Lam+17; Nil+13]. Die Aufnahme von 10 Mischzeiten  $t_m$ , zwei b-Werten, 30 Gradientenrichtungen bei  $TR=2.5 \text{ s}$ , resultiert in einer Aufnahmezeit für einen Datensatz von etwa 25 Minuten, was im klinischen Rahmen bei entsprechendem diagnostischen Wert noch akzeptabel sein könnte. Die Aufnahmedauer könnte dabei durch Weglassen der Mischzeiten mit hohem  $t_m$  noch etwas reduziert werden. Diese Messungen können bis auf den Fall von ausgeprägter Axondispersion durch Gleichgewichts-ADC-( $ADC_{eq}$ )-Messungen mit  $b_f = 0$  und minimalem  $t_m$  ersetzt werden. Auf Grund des erhöhten Rauschens bei langen Mischzeiten sollten die per Gleichgewichtsmessung bestimmten  $ADC_{eq}$ -Werte zudem verlässlicher sein. Die SNR-Bestimmung mit der FEXI-Implementierung hat ein SNR von 75 bei einer Voxelgröße von  $3 \times 3 \times 5 \text{ mm}^3$  an einem 3T (Magnetom Prisma, Siemens Healthineers) erzielt. Diese Voxelgrößen sind aber für klinische Verhältnisse bereits eher groß, realistische-

## 5 Diskussion

re Voxelgrößen von  $2 \times 2 \times 3 \text{ mm}^3$  würden zu einem grob drei- bis vierfach geringeren SNR führen. Daher ist die Verwendung von ROI-basierter Signalmittelung von etwa 15 Voxeln, was in einem SNR von 150 bis 250 resultieren würde, vor dem eigentlichen Fit notwendig, um ein genügend hohes SNR zu erreichen. Der Nachteil dieser Signalmittelung beziehungsweise auch der Verwendung größerer Voxel ist neben allgemeinen Problemen wie Partialvolumeneffekten zusätzlich die Vergrößerung der Gewebheterogenität im analysierten Volumen, welche die Durchmesser der Zellen, die Packungsdichten sowie die Permeabilitäten, und damit auch der AXR-Werte, beinhaltet. Um ein grundsätzlich höheres SNR zu erreichen, könnte es daher hilfreich sein, auf Denoising-Methoden [Aja+08] zurückzugreifen. Die Auswirkung des künstlich hinzugefügten Rauschens ist für die 3D-Fcc-Geometrie deutlich geringer, da hier alle Richtungen die gleichen Diffusionseinschränkungen aufweisen und es damit nicht zu einem verstärkten Signalabfall in einer bestimmten Richtung kommt.

Die Untersuchung des Einflusses der Länge des Filter- und Diffusionsblocks hat gezeigt, dass die Forderung von vernachlässigbarem Austausch während der Wichtungen tatsächlich erfüllt sein muss, um die AXR-Werte verlässlich bestimmen zu können. Dies ist der Fall, wenn für die Länge des Filterblocks  $T_f \leq 2/AXR$  gilt. Die Länge des Filters könnte bei der Betrachtung der weißen Substanz im Gehirn noch einen zusätzlichen Einfluss haben, da hier Zeitabhängigkeiten der Diffusion beobachtet wurden, welche sich in einer potentiellen Änderung der intra- und extrazellulären Diffusionskoeffizienten [Lee+20], in Abhängigkeit der Filter- und Diffusionswichtungslänge, manifestieren könnten. Für typische AXR-Werte von unter  $20 \text{ s}^{-1}$  darf die Länge der Diffusionsblöcke eine Dauer von 100 ms nicht überschreiten, was im Allgemeinen selbst an Systemen mit geringer maximaler Gradientenamplitude aber kein Problem darstellen sollte.

Die Variation der intra- und extrazellulären Diffusionskoeffizienten führte im erwarteten Bereich der Parameter zu keiner Änderung der AXR-Werte. Um das Signalungleichgewicht zwischen den Kompartimenten zu erzeugen, ist nur der Unterschied der effektiven Diffusionskoeffizienten relevant, welcher für die übliche Annahme von  $D_i \leq D_e$  erhalten bleibt. Die genauen Werte der freien Diffusionskoeffizienten sind hierbei von untergeordneter Bedeutung.

Bezüglich der AXR-Messungen und Simulationen muss zudem beachtet werden, dass die Signalanteile im Verlauf der Mischzeiten sich auch auf Grund unterschiedlicher  $T_1$ -Relaxationszeiten ändern können. Dieser Einfluss kann durch spezielle Sequenzen limitiert werden [Mar+20]. Die Überprüfung dieser  $T_1$ -Abhängigkeit der unterschiedlichen Kompartimente hat gezeigt, dass eine signifikante Abhängigkeit zwischen Relaxationszeit und AXR-Werten besteht. Diese ist bei der Betrachtung von Daten mit künstlichem Rauschen aber in der selben Größenordnung wie die Varianz der eigentlichen Messwerte bei SNR 250. Nichtsdestotrotz könnten  $T_1$ -Abhängigkeiten in Regionen mit unterschiedlichen Relaxationszeiten AXR-Messungen maßgeblich beeinflussen. Auch für diese Simulationen tritt eine generelle Unterschätzung des AXR-Werts auf.

Für nahezu alle Parameter, welche eine Relevanz bezüglich humaner MRT-Messungen haben, konnte eine stabile lineare Abhängigkeit zwischen AXR-Werten und der Membranpermeabilität gezeigt werden, was auch in Übereinstimmung mit [Tia+17] ist. Diese Aussage gilt für alle hier untersuchten Geometrien, sowie auch für Größen- und Per-

meabilitätsverteilungen der Zellen. Damit konnte gezeigt werden, dass für den relevanten Parameterraum bezüglich der Zellgrößen, der Permeabilität,  $T_1$ -Zeiten und einer Gradientenstärke von 80 mT/m die Näherungen berechtigt sind, welche der AXR-Herleitung zu Grunde liegen. Gleiches gilt für die Annahme von gaußscher Diffusion, die im Kontext von Gleichung 2.73 erwähnt wurde, obgleich Kurtosis-Effekte für hohe  $b$ -Werte beobachtet werden konnten. Es gilt jedoch zu beachten, dass die hier betrachteten Geometrien sehr vereinfachte Modelle von Zellen oder Axonen darstellen. Im Falle der Axone wurden Strukturen wie die Myelinscheide oder Krümmung der Axone vollständig vernachlässigt. Weitere Untersuchungen und Simulationen mit realistischeren Modellen [NHV18; Ber+18; PAZ19] könnten daher für die Zukunft von großem Interesse sein.

Zusätzlich wäre es für tatsächliche Permeabilitätsmessungen von großer Wichtigkeit durch separate Messungen die Volumenanteile  $f_i$  und  $f_e$  zu messen. Hierfür wurden bereits mehrere Methoden vorgeschlagen und veröffentlicht [Ass+08; Pan+14; Jia+16]. Diese Messungen könnten jedoch wiederum durch die Membranpermeabilität beeinflusst werden [Li+17], was bei physiologisch relevanten Permeabilitäten in einer intrinsischen Unterschätzung des intrazellulären Volumenanteils  $f_i$  resultiert. Das gleiche gilt für dynamisch kontrastmittelverstärkte Methoden [Bar+15], wodurch es sehr schwierig erscheint, hinreichend verlässliche Volumenanteile  $f_i$  und  $f_e$  messen zu können. Auch die Verwendung von histologischen Schnitten als Referenz ist nur bedingt geeignet, da die Volumenanteile sich während der Präparation im Vergleich zum lebenden Gewebe ändern können. Zusätzlich gibt es auch außerhalb des menschlichen Körpers nur wenige Methoden zur Messung der Permeabilität. Daher ist es schwierig unabhängige Referenzwerte für Permeabilitäten zu erhalten, welche als Vergleichswerte der magnetresonanzbasierten Messmethoden verwendet werden könnten [Iba+11].

Bezüglich der Anwendbarkeit von AXR-Messungen zur Unterscheidung von Pathologien im klinischen Kontext gibt es bisher wenige Daten. In einer kleinen Studie von Lampinen et al. [Lam+17], wurden AXR-Unterschiede mit einem Faktor von 1.5 zwischen Meningiom und Astrozytom beobachtet. In Anbetracht der Simulationsergebnisse erscheint die Unterscheidung solcher Differenzen möglich, wenngleich beachtet werden muss, dass diese Aussage nur für hohe SNR-Werte gilt. Im Allgemeinen könnten AXR-Messungen in Pathologien bei denen sich nur eine Gewebeeigenschaft ändert [Hu+06], einen hilfreichen Einblick in die Pathophysiologie liefern. In Pathologien, bei denen sich mehrere Parameter im Verlauf ändern [MS07], wie zum Beispiel die Zellgröße, und auf Grund von unterschiedlichem osmotischen Druck auch die Membranpermeabilität, kann die scheinbare Austauschrate hingegen lediglich als phänomenologischer Parameter betrachtet werden, welcher durch unterschiedliche mikrostrukturelle Änderungen beeinflusst wird. Während diese Einflüsse nicht ohne weiteres getrennt werden können, könnten die AXR-Werte trotzdem relevante Informationen bezüglich des Zellstatus beziehungsweise pathologischen Hinweise zusammenfassen.

Eine Ausnahme zu diesen Einschränkungen stellen die Messungen bezüglich der Hefezellen dar. Hier kann die Größe der Hefezellen mit Hilfe von Lichtmikroskopie ausgewertet werden und die Packungsdichte lässt sich zumindest grob über das Gewichtsverhältnis zwischen verwendeter Hefe und Wasser regulieren und durch Zählung der Hefezellen in einem bestimmten Flüssigkeitsvolumen verifizieren. Für die Simulationen tritt erneut ei-

## 5 Diskussion

ne deutliche systematische Unterschätzung des AXR-Werts auf. Eine grobe Einordnung der Messwerte auf eine Permeabilität zwischen  $\rho = 0.003 \mu\text{m/ms}$  und  $\rho = 0.005 \mu\text{m/ms}$  scheint realistisch zu sein. Während der verwendete Probenkopf (TBI- oder TXO-Probe) keine Auswirkung auf die AXR-Werte hat, tritt ein deutlich unterschiedlicher ADC-Wert auf. Der Grund hierfür ist nicht klar. Prinzipiell wäre es möglich, dass es durch Randeffekte an den Seiten des NMR-Röhrchens zu diesem Effekt kommt, allerdings zeigt sich die Diskrepanz, wenn auch in reduzierter Form, auch wenn dieselben 5 mm Röhrchen in der TXO-Probe verwendet werden. Als mögliche Ursache könnte auch Konvektion innerhalb der Probe in Frage kommen, da für TBI- und TXO-Probe ein unterschiedliches Heizsystem verwendet wird. Bei der Bestimmung von ADC-Werten von  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{D}_2\text{O}$  trat dieser Unterschied jedoch nicht auf und steht daher vermutlich in Verbindung zur Hefe. Da die Messungen an unterschiedlichen Tagen mit unterschiedlicher Hefe durchgeführt wurden, kann eine grundsätzliche Änderung in der Struktur der Hefe beziehungsweise in den beigemischten Substanzen ebenfalls nicht ausgeschlossen werden.

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

Unsere größte Schwäche liegt im Aufgeben.  
Der sichere Weg zum Erfolg ist immer,  
es doch noch einmal zu versuchen.

*Thomas A. Edison*

Die diffusionsgewichtete Magnetresonanztomographie ermöglicht einzigartige Einblicke in die zelluläre Struktur von biologischen Geweben. Insbesondere können durch das indirekte Abtasten der Zellmembranen mittels der diffundierenden Wassermoleküle Informationen über die Membranstruktur gewonnen werden. Während in der klinischen Praxis meist nur der scheinbare Diffusionskoeffizient ADC bestimmt wird, welcher nur indirekt mit den Diffusionshindernissen verbunden ist, wurden in dieser Arbeit zwei Techniken untersucht, welche eine direkte Analyse von Poren oder Zellen ermöglichen, die mit einem MR-sichtbaren diffundierenden Medium gefüllt sind.

Die im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich auf einem 14.1 T-Spektrometer implementierte Diffusions-Porenbildgebung ermöglicht prinzipiell die direkte Bestimmung von Form und Größe von Poren und könnte letztlich die nicht-invasive Bestimmung von histologieähnlichen Parametern wie Zellgrößenverteilungen ermöglichen. Diese Technik beruht aber zunächst auf der Annahme, dass die Poren von impermeablen Membranen umhüllt sind. Diese Annahme ist jedoch nur sehr eingeschränkt für biologische Zellen gültig. Während sich dieser Effekt für die Porenbildgebung als eher störend erweist, gestattet die Anwendung spezieller Sequenztechniken die direkte Untersuchung von Austauscheffekten, welche ebenfalls aus pathophysiologischer Sicht von großem Interesse sind. Daher wurde als zweite Technik die direkte Messung von Austauschraten zwischen dem intra- und dem extrazellulären Raum mittels doppelt-diffusionsgewichteter Sequenzen, das sogenannte *Apparent Exchange Rate Mapping*, auf dem NMR-Spektrometer implementiert und hinsichtlich der Anwendbarkeit unter realistischen Bedingungen und der Übereinstimmung mit der analytischen Modellierung untersucht. Ebenso wurde besonderes Augenmerk auf den Einfluss der Membranpermeabilität auf die Ergebnisse der Porenbildgebung gelegt. Informationen über die Zellmembranpermeabilität sind überdies von hohem Interesse, um eventuelle Abweichungen der gemessenen Porenfunktion begründen und verstehen zu können.

Die erfolgreiche Demonstration der Porenbildgebung an Glaskapillarenphantomen konnte im Falle eines geringen Einflusses von Suszeptibilitätseffekten im Gegensatz zu Vorar-

beiten mit einer einfachen Refokussierung ohne CPMG-artigen Echozug erfolgen. Ferner konnte die Porenbildgebung erstmals unter Verwendung ultrahoher Gradienten demonstriert werden, welche durch eine spezielle Diffusion-Probe mit einer maximalen Amplitude von 18 T/m generiert wurden.

Ein bisher nicht beachteter Aspekt der Porenbildgebung ist die Präsenz von extrazellulärem Wasser in biologischen Systemen. Hier konnten zwei Lösungsansätze entwickelt werden: Ein Extrapolationsansatz sowie die Messung mit einer CPMG-Lang-Kurz-Implementierung mit zusätzlichen speziellen Filtergradienten zur Unterdrückung des extraporalen Signals. Während die Verwendung des Extrapolationsansatzes durch die Wahl der verwendeten  $q$ -Werte zur Extrapolation und der nicht vollständig erfüllten gaußschen Phasennäherung zu leichten, wenn auch vernachlässigbaren Abweichungen führt, kann mit der Filter-Implementierung eine direkte Messung des Poren-Signals ohne Abweichungen erfolgen. Dieser Filteransatz wird in der Praxis bei weniger wohldefinierten Systemen als den hier verwendeten synthetischen Objekten vielversprechender sein, da dieses Verfahren auf weniger Zusatzannahmen beruht und nicht die richtige, auch von der Geometrie abhängige Definition der zur Extrapolation verwendeten Messpunkte benötigt.

Die ersten Porenbildgebungs-Messungen mit polymerisierten Hohlkugeln von wenigen Mikrometern Durchmesser zeigen zudem, dass die Aufnahme von Porensignalen von Objekten mit der Ausdehnung von tatsächlichen Zellen in der Gegenwart von umgebender Flüssigkeit möglich ist. Für zukünftige Phantom-Experimente wäre es überdies von Interesse, polymerisierte Hohlkugeln mit definierten Löchern herzustellen. Dies kann mit der prinzipiell gleichen Methode erreicht werden. Die so hergestellten Phantome hätten eine definierte Austauschrate und könnten sowohl für Messungen bezüglich der Auswirkung der Permeabilität auf die Porenfunktion als auch für AXR-Messungen verwendet werden. Als weitere Phantome kommen zudem durch Nano-3D-Druck hergestellte Strukturen in Frage. Hiermit wäre es auch möglich, den Einfluss von Größen- oder Formverteilungen zu messen [Wol+20]. Der nächste Schritt stellt dann die Übertragung dieser anhand von künstlichen Systemen entwickelten Ansätze auf Zellkulturen und Gewebeproben dar. Zur Übertragung in die präklinische Forschung, etwa an Tumormodellen, ist die Implementierung von Poren-Bildgebungssequenzen am 9.4 T-Bruker (Bruker Biospec, Ettlingen, Germany) Kleintierscanner geplant. Perspektivisch sind Humananwendungen unter Verwendung von lokalen Gradientenspulen mit ultrahoher Amplitude ebenso denkbar. In diesem Zusammenhang stellt insbesondere eine kürzlich entwickelte lokale Brustgradientenspule einen vielversprechenden Ansatz dar, für die in der Endausbaustufe eine Gradientenamplitude  $G_{\max} = 1.5 \text{ T/m}$  vorgesehen ist [Lit+20]. Hierbei werden auf Grund von möglicher peripherer Nervenstimulation (PNS), sowie durch die Einbringung von Energie in den Körper durch die  $180^\circ$ -Pulse, möglicherweise abgewandelte Implementierungen des Lang-Kurz-Gradientenschemas notwendig sein.

Da die Verknüpfung des *Apparent Exchange Rate Mapping* mit grundlegenden Gewebeparametern sowie die Gültigkeit der Approximationen, welche bei der theoretischen Herleitung der für AXR-Messungen verwendeten Gleichungen bisher nicht genauer untersucht wurden, stellt dies den zweiten Themenkomplex dieser Arbeit dar. Für diese

Analyse, ebenso wie zur Simulation aller hier gezeigten Referenzwerte der Porenbildung, wurde ein umfassendes Monte-Carlo-Simulations-Tool entwickelt, welches über sehr umfassende Möglichkeiten zur Simulation von Diffusions-Experimenten mit und ohne Austauschprozessen verfügt. Insbesondere zeigte sich, dass für korrekte Simulationen in Gegenwart von Membranpermeabilitäten die Realisierung der Simulation mit elastischen Reflexionsprozessen von hoher Bedeutung ist. Ebenfalls notwendig ist eine sehr hohe Signalqualität, da für eine exakte Berechnung der Austauschraten, abhängig von den jeweiligen Geometrieparametern, außerordentlich kleine Änderungen des ADC ermittelt werden müssen. Der hieraus resultierende Rechenaufwand, vor allem bei Simulation praxisnaher Geometrien, wie dem 3D-Axon-Modell mit Orientierungsdispersion, erforderte die Realisierung unter Verwendung von GPU-Beschleunigung.

Die Untersuchungen der *Apparent Exchange Rate* zeigten für alle typischen Messparameter an einem klinischen MR-System sowie für die in biologischem Gewebe erwarteten Zellgrößen und Permeabilitäten eine relativ gute Übereinstimmung der Messwerte mit den theoretischen Erwartungen und damit eine praktische Anwendbarkeit. Als Einschränkung hierzu gilt lediglich ein genügend hohes SNR, welches abhängig von der zugrundeliegenden Geometrie nach Möglichkeit größer als 150 sein sollte. Während sich eine Auswertung auf Einzelvoxel-Basis schwierig gestaltet, ist dies bei Mittelung über segmentierte Regionen erreichbar. Für sehr niedrige Austauschraten und kleine Packungsdichten trat bei den Simulationen eine systematische Unterschätzung der AXR-Werte auf. Bei Betrachtung des AXR sollte stets berücksichtigt werden, dass der AXR-Wert nicht nur von der durchschnittlichen Membranpermeabilität, sondern hauptsächlich auch von der zugrundeliegenden Geometrie der Diffusionseinschränkungen, dem durchschnittlichen Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis, der Packungsdichte, sowie der Verteilung der Kompartimente abhängt. Somit ist der AXR-Wert ein summarischer Parameter, der unter Umständen neben Permeabilitätsänderungen auch durch weitere bei Pathologien auftretende Änderungen der Gewebestruktur beeinflusst wird.

Insgesamt konnte die Diffusions-Porenbildung unter Verwendung ultrahoher Gradienten einen entscheidenden Schritt näher an die Anwendung auf biologische Gewebe gebracht werden. Ebenso konnte das Anwendungspotential der Untersuchung von Zellmembranpermeabilitäten mittels doppel-diffusionsgewichteter Messungen genauer bewertet werden.



# A Anhang

## A.1 AXR-Gradientenrichtungen

Normalisierte Gradientenrichtungen, welche für die Berechnung der Signalwerte bei den AXR-Simulationen verwendet wurden.

$G_x = 0.08 \text{ [T/m]} \cdot$	$G_y = 0.08 \text{ [T/m]} \cdot$	$G_z = 0.08 \text{ [T/m]} \cdot$
1	0	0
0	1	0
0	0	1

Tabelle A.1: 3 Gradientenrichtungen

$G_x = 0.08 \text{ [T/m]} \cdot$	$G_y = 0.08 \text{ [T/m]} \cdot$	$G_z = 0.08 \text{ [T/m]} \cdot$
0.7071	0	-0.7071
-0.7071	0	-0.7071
0	-0.7071	-0.7071
0	-0.7071	0.7071
0.7071	-0.7071	0
-0.7071	-0.7071	0

Tabelle A.2: 6 Gradientenrichtungen

A Anhang

$G_x = 0.08 \text{ [T/m]} \cdot$	$G_y = 0.08 \text{ [T/m]} \cdot$	$G_z = 0.08 \text{ [T/m]} \cdot$
-0.2040	-0.5160	-0.8320
0.1980	-0.5150	-0.8340
0.4010	-0.1710	-0.9000
-0.4030	-0.7280	-0.5540
-0.2020	-0.9400	-0.2740
-0.8550	-0.5150	-0.0620
-0.7320	-0.5150	-0.4460
-0.4060	-0.1710	-0.8980
-0.7320	-0.1720	-0.6590
-0.6510	-0.7270	0.2160
-0.3230	-0.9400	0.1080
-0.3240	-0.5150	0.7940
-0.6510	-0.5150	0.5570
-0.9790	-0.1730	0.1120
-0.8530	-0.1710	0.4930
0	-0.7270	0.6870
0.0040	-0.9390	0.3430
0.6530	-0.5150	0.5550
0.3310	-0.5150	0.7910
0.1970	0.1710	-0.9650
0.2040	-0.1710	0.9640
0.6540	-0.7270	0.2100
0.3260	-0.9400	0.1030
0.2020	-0.9390	-0.2790
0.4030	-0.7280	-0.5540
0.7310	-0.1720	-0.6610
0.7300	-0.5150	-0.4480
0.8540	-0.5150	-0.0670
0.8570	-0.1710	0.4870
0.9800	-0.1720	0.1030

Tabelle A.3: 30 Gradientenrichtungen

## A.2 AXR-Messparameter

$T$ [K]	280
$G_{\text{Filter}}$ [mT/m]	268
$\delta_{\text{Filter}}$ [ms]	7.3
$\Delta_{\text{Filter}}$ [ms]	9.7
$b_{\text{Filter}}$ [s/mm <sup>2</sup> ]	1989
$G_{\text{Kodierung,max}}$ [mT/m]	168
$\delta_{\text{Kodierung}}$ [ms]	7.8
$\Delta_{\text{Kodierung}}$ [ms]	10.2
$b_{\text{Kodierung}}$ [s/mm <sup>2</sup> ]	37.1, 83.5, 231.9, 454.5, 927.5
$G_{\text{Chooser}}$ [mT/m]	48
$\delta_{\text{Chooser}}$ [ms]	1.3
$G_{\text{Spoiler}}$ [mT/m]	68
$\delta_{\text{Spoiler}}$ [ms]	5.3
$t_m$ [ms]	Blub

Tabelle A.4: AXR-Messparameter der Hefe-Messungen am Spektrometer.



## B Wissenschaftliche Publikationen

Publikationen oder Konferenzbeiträge, welche in dieser Arbeit verwendet wurden sind mit (\*) gekennzeichnet:

### Zeitschriftenartikel

1.\* **Ludwig D.**, Laun F.B., Ladd M.E., Bachert P., and Kuder T.A., Apparent exchange rate imaging: on its applicability and the connection to the real exchange rate. Eingereicht zur Publikation in *Magnetic Resonance in Medicine* (MRM), (accepted 2021)

### Konferenzbeiträge

1.\* **Ludwig D.**, Laun F.B., Klika K.D., Ladd M.E., Bachert P., and Kuder T.A., Filtered water diffusion pore imaging on a 14.1 T spectrometer using glass capillary phantoms in the presence of extraporal fluid. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 29: accepted (2021)

2. Rauch J., **Ludwig D.**, Laun F.B., Ladd M.E., Bachert P., and Kuder T.A., Influence of electrocardiogram signal triggering on filter exchange imaging. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 29: accepted (2021)

3.\* **Ludwig D.**, Laun F.B., Klika K.D., Ladd M.E., Bachert P., and Kuder T.A., Water diffusion pore imaging on a 14.1 T spectrometer using glass capillary phantoms in the presence of extraporal fluid. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 28: 4496, (2020)

4.\* Rauch J., Kuder T.A., Laun F.B., Klika K.D., and **Ludwig D.**, Apparent exchange rate (AXR) mapping: Influence of extracellular volume fraction and membrane permeability. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 28: 4445, (2020)

5. Emmerich J., **Ludwig D.**, and Straub S., On the Influence of Diffusion Effects on Quantitative Susceptibility Imaging of Spherical Objects. In: 4th Int. Workshop on MRI Phase Contrast and QSM, Seoul (2019)

6.\* **Ludwig D.**, Laun F.B., Klika K.D., Bachert P., and Kuder T.A., Water diffusion pore imaging on a 14.1 T spectrometer using glass capillary phantoms and strong gradients. Proc. Intl. Conf. Magn. Reson. Micr. 15: P80, (2019)

7.\* **Ludwig D.**, Laun F.B., Bachert P., and Kuder T.A., On the feasibility of apparent

exchange rate mapping in non-periodic systems with multiple cell sizes. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 27: 3565, (2019)

8.\* **Ludwig D.**, Laun F.B., Klika K.D., Bachert P., and Kuder T.A., Using symmetrized temporal gradient profiles for water diffusion pore imaging on a 14.1 T spectrometer. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 27: 3498, (2019)

9.\* **Ludwig D.**, Laun F.B., Bachert P., and Kuder T.A., Apparent exchange rate mapping: relation to membrane permeability. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 26: 3231, (2018)

10.\* **Ludwig D.**, Laun F.B., Bachert P., and Kuder T.A., Austauschratenmessungen mittels doppelt-diffusionsgewichteter Bildgebung – Einfluss der Membranpermeabilität. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. German Chapter 21: P26, (2018)

11. **Ludwig D.**, Korzowski A., Ruhm L., Ladd M.E., and Bachert P., Three-dimensional 31P Radial Echo-Planar Spectroscopic Imaging In Vivo at 7T. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 26: 1247, (2017)

12. **Ludwig D.**, Korzowski A., and Bachert P., Three-Dimensional Bloch-Siegert B1 mapping for 31P MRS at 7 T by means of echo-planar acquisition techniques. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. UHF-Workshop Heidelberg (2016)

# Literaturverzeichnis

- [AB05] Yaniv Assaf und Peter J Basser. „Composite hindered and restricted model of diffusion (CHARMED) MR imaging of the human brain“. In: *Neuroimage* 27.1 (2005), S. 48–58.
- [Abr61] Anatole Abragam. *The principles of nuclear magnetism*. 32. Oxford university press, 1961.
- [Agr+02] Peter Agre, Landon S King, Masato Yasui, Wm B Guggino, Ole Petter Ottersen, Yoshinori Fujiyoshi, Andreas Engel und Søren Nielsen. „Aquaporin water channels—from atomic structure to clinical medicine“. In: *The Journal of physiology* 542.1 (2002), S. 3–16.
- [Aja+08] Santiago Aja-Fernández, Marc Niethammer, Marek Kubicki, Martha E Shenton und Carl-Fredrik Westin. „Restoration of DWI data using a Rician LMM-SE estimator“. In: *IEEE transactions on medical imaging* 27.10 (2008), S. 1389–1403.
- [And+00] AW Anderson, J Xie, J Pizzonia, RA Bronen, DD Spencer und JC Gore. „Effects of cell volume fraction changes on apparent diffusion in human cells“. In: *Magnetic resonance imaging* 18.6 (2000), S. 689–695.
- [Ass+08] Yaniv Assaf, Tamar Blumenfeld-Katzir, Yossi Yovel und Peter J Basser. „Ax-Caliber: a method for measuring axon diameter distribution from diffusion MRI“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 59.6 (2008), S. 1347–1354.
- [Bar+15] Stephanie L Barnes, Anna G Sorace, Mary E Loveless, Jennifer G Whisenant und Thomas E Yankeelov. „Correlation of tumor characteristics derived from DCE-MRI and DW-MRI with histology in murine models of breast cancer“. In: *NMR in Biomedicine* 28.10 (2015), S. 1345–1356.
- [Bar+16] Thaís M Barbosa, Roberto Rittner, Cláudio F Tormena, Gareth A Morris und Mathias Nilsson. „Convection in liquid-state NMR: expect the unexpected“. In: *RSC advances* 6.97 (2016), S. 95173–95176.
- [Ber+17] Marco Bertleff, Sebastian Domsch, Frederik B Laun, Tristan A Kuder und Lothar R Schad. „1D and 2D diffusion pore imaging on a preclinical MR system using adaptive rephasing: Feasibility and pulse sequence comparison“. In: *Journal of Magnetic Resonance* 278 (2017), S. 39–50.
- [Ber+18] David B Berry, Benjamin Regner, Vitaly Galinsky, Samuel R Ward und Lawrence R Frank. „Relationships between tissue microstructure and the diffusion tensor in simulated skeletal muscle“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 80.1 (2018), S. 317–329.

- [BKZ04] Matt A Bernstein, Kevin F King und Xiaohong Joe Zhou. *Handbook of MRI pulse sequences*. Elsevier, 2004.
- [BLN20] Jan Brabec, Samo Lasič und Markus Nilsson. „Time-dependent diffusion in undulating thin fibers: Impact on axon diameter estimation“. In: *NMR in Biomedicine* 33.3 (2020), e4187.
- [Blo46] Felix Bloch. „Nuclear induction“. In: *Physical review* 70.7-8 (1946), S. 460.
- [Blo53] Felix Bloch. *The principle of nuclear induction*. Kungl. boktryckeriet PA Norstedt & söner, 1953.
- [Bre+20] James O Breen-Norris, Bernard Siow, Claire Walsh, Ben Hipwell, Ioana Hill, Thomas Roberts, Matt G Hall, Mark F Lythgoe, Andrada Ianus, Daniel C Alexander u. a. „Measuring diffusion exchange across the cell membrane with DEXSY (Diffusion Exchange Spectroscopy)“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 84.3 (2020), S. 1543–1551.
- [Cal11] Paul T Callaghan. *Translational dynamics and magnetic resonance: principles of pulsed gradient spin echo NMR*. Oxford University Press, 2011.
- [Cas05] Neil A Castle. „Aquaporins as targets for drug discovery“. In: *Drug discovery today* 10.7 (2005), S. 485–493.
- [CMR97] Thomas L Chenevert, Paul E McKeever und Brian D Ross. „Monitoring early response of experimental brain tumors to therapy using diffusion magnetic resonance imaging“. In: *Clinical cancer research* 3.9 (1997), S. 1457–1466.
- [CP54] Herman Y Carr und Edward M Purcell. „Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments“. In: *Physical review* 94.3 (1954), S. 630.
- [Dem+17] Kerstin Demberg, Frederik Bernd Laun, Johannes Windschuh, Reiner Umatsum, Peter Bachert und Tristan Anselm Kuder. „Nuclear magnetic resonance diffusion pore imaging: experimental phase detection by double diffusion encoding“. In: *Physical Review E* 95.2 (2017), S. 022404.
- [Dem+18] Kerstin Demberg, Frederik Bernd Laun, Marco Bertleff, Peter Bachert und Tristan Anselm Kuder. „Experimental determination of pore shapes using phase retrieval from q-space NMR diffraction“. In: *Physical Review E* 97.5 (2018), S. 052412.
- [Dem+19] Kerstin Demberg, Frederik Bernd Laun, Peter Bachert, Mark Edward Ladd und Tristan Anselm Kuder. „Stimulated echo double diffusion encoded imaging of closed pores: Influence and removal of unbalanced terms“. In: *Physical Review E* 100.4 (2019), S. 042408.
- [Des95] Thomas M Deswiet. „Diffusive edge enhancement in imaging“. In: *Journal of Magnetic Resonance, Series B* 109.1 (1995), S. 12–18.
- [Dic50] WC Dickinson. „Dependence of the F 19 nuclear resonance position on chemical compound“. In: *Physical Review* 77.5 (1950), S. 736.

- [DLK14] Bibek Dhital, Jochen Leupold und Valerij G Kiselev. „PFG filter for oscillating gradient diffusion measurements“. In: *Proc. Int. Soc. Magn. Reson. Med.* Bd. 22:6885. (2014).
- [Ein05] Albert Einstein. „Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen“. In: *Annalen der physik* 4 (1905).
- [Est+01] Nuria Esturau, Francesc Sánchez-Ferrando, José Adrián Gavin, Christian Roumestand, Marc-André Delsuc und Teodor Parella. „The use of sample rotation for minimizing convection effects in self-diffusion NMR measurements“. In: *Journal of Magnetic Resonance* 153.1 (2001), S. 48–55.
- [Fie+10] Els Fieremans, Dmitry S Novikov, Jens H Jensen und Joseph A Helpern. „Monte Carlo study of a two-compartment exchange model of diffusion“. In: *NMR in Biomedicine* 23.7 (2010), S. 711–724.
- [Gre07] Denis S Grebenkov. „NMR survey of reflected Brownian motion“. In: *Reviews of Modern Physics* 79.3 (2007), S. 1077.
- [Haa+99] E. Mark Haacke, Robert W. Brown, Michael R. Thompson und Ramesh Venkatesan. *Magnetic resonance imaging. physical principles and sequence design*. New York [u.a.]: Wiley-Liss, 1999.
- [Hah50] Erwin L Hahn. „Spin echoes“. In: *Physical review* 80.4 (1950), S. 580.
- [Her+15] Stefan Andreas Hertel, Xindi Wang, Peter Hosking, M Cather Simpson, Mark Hunter und Petrik Galvosas. „Magnetic-resonance pore imaging of nonsymmetric microscopic pore shapes“. In: *Physical Review E* 92.1 (2015), S. 012808.
- [HHG13] Stefan Hertel, Mark Hunter und Petrik Galvosas. „Magnetic resonance pore imaging, a tool for porous media research“. In: *Physical Review E* 87.3 (2013), S. 030802.
- [HHG15] SA Hertel, M Hunter und P Galvosas. „Magnetic Resonance Pore Imaging: Overcoming the resolution limit of MRI for closed pore systems“. In: *Microporous and Mesoporous Materials* 205 (2015), S. 44–47.
- [Hu+06] Jie Hu, AS Verkman, Jie Hu und AS Verkman. „Increased migration and metastatic potential of tumor cells expressing aquaporin water channels“. In: *The FASEB Journal* 20.11 (2006), S. 1892–1894.
- [Hui03] Thierry AGM Huisman. „Diffusion-weighted imaging: basic concepts and application in cerebral stroke and head trauma“. In: *European radiology* 13.10 (2003), S. 2283–2297.
- [Iba+11] Keiji Ibata, Shinichi Takimoto, Toshinori Morisaku, Atsushi Miyawaki und Masato Yasui. „Analysis of aquaporin-mediated diffusional water permeability by coherent anti-stokes Raman scattering microscopy“. In: *Biophysical journal* 101.9 (2011), S. 2277–2283.

- [Jen+05] Jens H Jensen, Joseph A Helpert, Anita Ramani, Hanzhang Lu und Kyle Kaczynski. „Diffusional kurtosis imaging: the quantification of non-gaussian water diffusion by means of magnetic resonance imaging“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 53.6 (2005), S. 1432–1440.
- [Jia+16] Xiaoyu Jiang, Hua Li, Jingping Xie, Ping Zhao, John C Gore und Junzhong Xu. „Quantification of cell size using temporal diffusion spectroscopy“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 75.3 (2016), S. 1076–1085.
- [Jon10] Derek K Jones. *Diffusion mri*. Oxford University Press, 2010.
- [JPS05] Sune Nørhøj Jespersen, Michael Pedersen und Hans Stødkilde-Jørgensen. „The influence of a cellular size distribution on NMR diffusion measurements“. In: *European Biophysics Journal* 34.7 (2005), S. 890–898.
- [KF11] Martin A Koch und Jürgen Finsterbusch. „Towards compartment size estimation in vivo based on double wave vector diffusion weighting“. In: *NMR in Biomedicine* 24.10 (2011), S. 1422–1432.
- [KL15] Tristan Anselm Kuder und Frederik Bernd Laun. „Effects of pore-size and shape distributions on diffusion pore imaging by nuclear magnetic resonance“. In: *Physical Review E* 92.2 (2015), S. 022706.
- [Kni49] Walter D Knight. „Nuclear magnetic resonance shift in metals“. In: *Physical Review* 76.8 (1949), S. 1259.
- [Kom+11] Michal E Komlosh, Evren Özarslan, Martin J Lizak, Ferenc Horkay, Vincent Schram, Noam Shemesh, Yoram Cohen und Peter J Basser. „Pore diameter mapping using double pulsed-field gradient MRI and its validation using a novel glass capillary array phantom“. In: *Journal of magnetic resonance* 208.1 (2011), S. 128–135.
- [KPH88] Jörg Kärger, Harry Pfeifer und Wilfried Heink. „Principles and application of self-diffusion measurements by nuclear magnetic resonance“. In: *Advances in Magnetic and optical resonance*. Bd. 12. Elsevier, 1988, S. 1–89.
- [Kud+12] Tristan A Kuder, Bram Stieltjes, Peter Bachert, Wolfhard Semmler und Frederik B Laun. „Advanced fit of the diffusion kurtosis tensor by directional weighting and regularization“. In: *Magnetic resonance in medicine* 67.5 (2012), S. 1401–1411.
- [Kud+13] Tristan Anselm Kuder, Peter Bachert, Johannes Windschuh und Frederik Bernd Laun. „Diffusion pore imaging by hyperpolarized xenon-129 nuclear magnetic resonance“. In: *Physical review letters* 111.2 (2013), S. 028101.
- [Kud14] Tristan Anselm Kuder. *Diffusions-Poren-Bildgebung mittels kernmagnetischer Resonanz*. 2014.

- [Lam+17] Björn Lampinen, Filip Szczepankiewicz, Danielle van Westen, Elisabet Englund, Pia C Sundgren, Jimmy Lätt, Freddy Ståhlberg und Markus Nilsson. „Optimal experimental design for filter exchange imaging: Apparent exchange rate measurements in the healthy brain and in intracranial tumors“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 77.3 (2017), S. 1104–1114.
- [Las+11] Samo Lasič, Markus Nilsson, Jimmy Lätt, Freddy Ståhlberg und Daniel Topgaard. „Apparent exchange rate mapping with diffusion MRI“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 66.2 (2011), S. 356–365.
- [Las+16] Samo Lasič, Stina Oredsson, Savannah C Partridge, Lao H Saal, Daniel Topgaard, Markus Nilsson und Karin Bryskhe. „Apparent exchange rate for breast cancer characterization“. In: *NMR in Biomedicine* 29.5 (2016), S. 631–639.
- [Lat+94] Lawrence L Latour, Karel Svoboda, Partha P Mitra und Christopher H Sotak. „Time-dependent diffusion of water in a biological model system.“ In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91.4 (1994), S. 1229–1233.
- [Lau+11] Frederik Bernd Laun, Tristan Anselm Kuder, Wolfhard Semmler und Bram Stieltjes. „Determination of the defining boundary in nuclear magnetic resonance diffusion experiments“. In: *Physical review letters* 107.4 (2011), S. 048102.
- [Lau+12] Frederik Bernd Laun, Tristan Anselm Kuder, Andreas Wetscherek, Bram Stieltjes und Wolfhard Semmler. „NMR-based diffusion pore imaging“. In: *Physical Review E* 86.2 (2012), S. 021906.
- [Lau73] Paul C Lauterbur. „Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance“. In: *nature* 242.5394 (1973), S. 190–191.
- [Le +86] Denis Le Bihan, Eric Breton, Denis Lallemand, Philippe Grenier, Emmanuel Cabanis und Maurice Laval-Jeantet. „MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders.“ In: *Radiology* 161.2 (1986), S. 401–407.
- [Lee+20] Hong-Hsi Lee, Antonios Papaioannou, Sung-Lyoung Kim, Dmitry S Novikov und Els Fieremans. „A time-dependent diffusion MRI signature of axon caliber variations and beading“. In: *Communications biology* 3.1 (2020), S. 1–13.
- [Li+17] Hua Li, Xiaoyu Jiang, Jingping Xie, John C Gore und Junzhong Xu. „Impact of transcytolemmal water exchange on estimates of tissue microstructural properties derived from diffusion MRI“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 77.6 (2017), S. 2239–2249.
- [Lid07] D.R. Lide. *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 88th Edition*. Taylor & Francis, 2007. ISBN: 9780849304880.

- [Lie+14] Daniel Liewald, Robert Miller, Nikos Logothetis, Hans-Joachim Wagner und Almut Schüz. „Distribution of axon diameters in cortical white matter: an electron-microscopic study on three human brains and a macaque“. In: *Biological cybernetics* 108.5 (2014), S. 541–557.
- [Lit+20] Sebastian Littin, Feng Jia, Phillip Amrein, Huijun Yu, Arthur Magill, Tristan Anselm Kuder, Mark E. Ladd, Frederik Laun, Sebastian Bickelhaupt und Maxim Zaitsev. „Single channel non-linear breast gradient coil for diffusion encoding“. In: *Proc. Int. Soc. Magn. Reson. Med.* Bd. 28:1134. (2020).
- [Lud+21] Dominik Ludwig, Frederik Bernd Laun, Mark E. Ladd, Peter Bachert und Tristan Anselm Kuder. „Apparent exchange rate imaging: on its applicability and the connection to the real exchange rate“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* (2021). DOI: <https://doi.org/10.1002/mrm.28714>.
- [Lud17] Dominik Ludwig. „Radially-sampled 31P Echo-Planar Spectroscopic Imaging in vivo at 7T“. Masterarbeit. Universität Heidelberg, 2017.
- [Man+78] Peter Mansfield, IL Pykett, PG Morris und RE Coupland. „Human whole body line-scan imaging by NMR“. In: *The British journal of radiology* 51.611 (1978), S. 921–922.
- [Mar+20] Jan Martin, Sebastian Endt, Andreas Wetscherek, Tristan Anselm Kuder, Arnd Doerfler, Michael Uder, Bernhard Hensel und Frederik Bernd Laun. „Twice-refocused stimulated echo diffusion imaging: Measuring diffusion time dependence at constant T1 weighting“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 83.5 (2020), S. 1741–1749.
- [MG58] Saul Meiboom und David Gill. „Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times“. In: *Review of scientific instruments* 29.8 (1958), S. 688–691.
- [MH95] Partha P Mitra und Bertrand I Halperin. „Effects of finite gradient-pulse widths in pulsed-field-gradient diffusion measurements“. In: *Journal of Magnetic Resonance, Series A* 113.1 (1995), S. 94–101.
- [Mid+19] Christine Middleton, Mark D Hannel, Andrew D Hollingsworth, David J Pine und David G Grier. „Optimizing the synthesis of monodisperse colloidal spheres using holographic particle characterization“. In: *Langmuir* 35.20 (2019), S. 6602–6609.
- [Mit95] Partha P Mitra. „Multiple wave-vector extensions of the NMR pulsed-field-gradient spin-echo diffusion measurement“. In: *Physical Review B* 51.21 (1995), S. 15074.
- [Mor+00] Susumu Mori, Walter E Kaufmann, Godfrey D Pearlson, Barbara J Crain, Bram Stieltjes, Meiyappan Solaiyappan und Peter CM Van Zijl. „In vivo visualization of human neural pathways by magnetic resonance imaging“. In: *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society* 47.3 (2000), S. 412–414.

- [Mor+13] Susumu Mori, Kenichi Oishi, Andreia V Faria und Michael I Miller. „Atlas-based neuroinformatics via MRI: harnessing information from past clinical cases and quantitative image analysis for patient care“. In: *Annual review of biomedical engineering* 15 (2013), S. 71–92.
- [Mos+90] Michael E Moseley, Y Cohen, J Mintorovitch, L Chileuitt, H Shimizu, J Kucharczyk, MF Wendland und PR Weinstein. „Early detection of regional cerebral ischemia in cats: comparison of diffusion-and T2-weighted MRI and spectroscopy“. In: *Magnetic resonance in medicine* 14.2 (1990), S. 330–346.
- [MS07] Eric McCoy und Harald Sontheimer. „Expression and function of water channels (aquaporins) in migrating malignant astrocytes“. In: *Glia* 55.10 (2007), S. 1034–1043.
- [Muk+00] Pratik Mukherjee, Mark M Bahn, Robert C McKinstry, Joshua S Shimony, Thomas S Cull, Erbil Akbudak, Abraham Z Snyder und Thomas E Conturo. „Differences between gray matter and white matter water diffusion in stroke: diffusion-tensor MR imaging in 12 patients“. In: *Radiology* 215.1 (2000), S. 211–220.
- [NHV18] Khieu-Van Nguyen, Edwin Hernández-Garzón und Julien Valette. „Efficient GPU-based Monte-Carlo simulation of diffusion in real astrocytes reconstructed from confocal microscopy“. In: *Journal of Magnetic Resonance* 296 (2018), S. 188–199.
- [Nil+13] Markus Nilsson, Jimmy Lätt, Danielle van Westen, Sara Brockstedt, Samo Lasič, Freddy Ståhlberg und Daniel Topgaard. „Noninvasive mapping of water diffusional exchange in the human brain using filter-exchange imaging“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 69.6 (2013), S. 1572–1580.
- [Nov+19] Dmitry S Novikov, Els Fieremans, Sune N Jespersen und Valerij G Kiselev. „Quantifying brain microstructure with diffusion MRI: Theory and parameter estimation“. In: *NMR in Biomedicine* 32.4 (2019), e3998.
- [NVF20] NVIDIA, Péter Vingelmann und Frank H.P. Fitzek. *CUDA, release: 10.2.89*. 2020. URL: <https://developer.nvidia.com/cuda-toolkit>.
- [Pan+14] Eletheria Panagiotaki, Simon Walker-Samuel, Bernard Siow, S Peter Johnson, Vineeth Rajkumar, R Barbara Pedley, Mark F Lythgoe und Daniel C Alexander. „Noninvasive quantification of solid tumor microstructure using VERDICT MRI“. In: *Cancer research* 74.7 (2014), S. 1902–1912.
- [PAZ19] Marco Palombo, Daniel C Alexander und Hui Zhang. „A generative model of realistic brain cells with application to numerical simulation of the diffusion-weighted MR signal“. In: *NeuroImage* 188 (2019), S. 391–402.
- [Pow+92] Jack G Powles, MJD Mallett, Gerald Rickayzen und WAB Evans. „Exact analytic solutions for diffusion impeded by an infinite array of partially permeable barriers“. In: *Proceedings of the Royal Society of London. Series A: Mathematical and Physical Sciences* 436.1897 (1992), S. 391–403.

- [Pri+98] William S Price, Alexander V Barzykin, Kikuko Hayamizu und M Tachiyaya. „A model for diffusive transport through a spherical interface probed by pulsed-field gradient NMR“. In: *Biophysical journal* 74.5 (1998), S. 2259–2271.
- [PTP46] Edward M Purcell, Henry Cutler Torrey und Robert V Pound. „Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid“. In: *Physical review* 69.1-2 (1946), S. 37.
- [PY50] WG Proctor und FC Yu. „The dependence of a nuclear magnetic resonance frequency upon chemical compound“. In: *Physical Review* 77.5 (1950), S. 717.
- [Rak+06] Rebecca Rakow-Penner, Bruce Daniel, Huanzhou Yu, Anne Sawyer-Glover und Gary H Glover. „Relaxation times of breast tissue at 1.5 T and 3T measured using IDEAL“. In: *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 23.1 (2006), S. 87–91.
- [Rau20] Julian Rauch. „Apparent exchange rate mapping by magnetic resonance imaging: Sequence development and validation experiments“. Masterarbeit. Universität Heidelberg, 2020.
- [Reu12] Luis Reuss. „Water transport across cell membranes“. In: *eLS* (2012).
- [Roe+15] Matthias C Roethke, Tristan A Kuder, Timur H Kuru, Michael Fenchel, Boris A Hadaschik, Frederik B Laun, Heinz-Peter Schlemmer und Bram Stieltjes. „Evaluation of diffusion kurtosis imaging versus standard diffusion imaging for detection and grading of peripheral zone prostate cancer“. In: *Investigative radiology* 50.8 (2015), S. 483–489.
- [Ros+12] Andrew B Rosenkrantz, Eric E Sigmund, Glyn Johnson, James S Babb, Thais C Mussi, Jonathan Melamed, Samir S Taneja, Vivian S Lee und Jens H Jensen. „Prostate cancer: feasibility and preliminary experience of a diffusional kurtosis model for detection and assessment of aggressiveness of peripheral zone cancer“. In: *Radiology* 264.1 (2012), S. 126–135.
- [Sac+13] Stefano Sacanna, Mark Korpics, Kelvin Rodriguez, Laura Colón-Meléndez, Seung-Hyun Kim, David J Pine und Gi-Ra Yi. „Shaping colloids for self-assembly“. In: *Nature communications* 4.1 (2013), S. 1–6.
- [Sch+17] Franz Schilling, Susana Ros, De-En Hu, Paula D’Santos, Sarah McGuire, Richard Mair, Alan J Wright, Elizabeth Mannion, Robin JM Franklin, André A Neves u. a. „MRI measurements of reporter-mediated increases in transmembrane water exchange enable detection of a gene reporter“. In: *Nature biotechnology* 35.1 (2017), S. 75.
- [Sen04] Pabitra N Sen. „Time-dependent diffusion coefficient as a probe of geometry“. In: *Concepts in Magnetic Resonance Part A: An Educational Journal* 23.1 (2004), S. 1–21.

- [She+10] Noam Shemesh, Evren Özarlan, Michal E Komlosch, Peter J Basser und Yoram Cohen. „From single-pulsed field gradient to double-pulsed field gradient MR: glean new microstructural information and developing new forms of contrast in MRI“. In: *NMR in Biomedicine* 23.7 (2010), S. 757–780.
- [Sil+18] Emilia V Silletta, Zhe Xu, Mena Youssef, Stefano Sacanna und Alexej Jerschow. „Monitoring Molecular Transport across Colloidal Membranes“. In: *The Journal of Physical Chemistry B* 122.18 (2018), S. 4931–4936.
- [Sli13] Charles P Slichter. *Principles of magnetic resonance*. Bd. 1. Springer Science & Business Media, 2013.
- [Smo06] Marian Smoluchowski von. „Zur kinetischen theorie der brownschen molekularbewegung und der suspensionen“. In: *Annalen der physik* 326.14 (1906), S. 756–780.
- [Søn+14] Casper K Sønderby, Henrik M Lundell, Lise V Søggaard und Tim B Dyrby. „Apparent exchange rate imaging in anisotropic systems“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 72.3 (2014), S. 756–762.
- [SRC20] Yuval Scher, Shlomi Reuveni und Yoram Cohen. „Constant gradient FEX-SY: A time-efficient method for measuring exchange“. In: *Journal of Magnetic Resonance* 311 (2020), S. 106667.
- [Sta+05] Greg J Stanisz, Ewa E Odrobina, Joseph Pun, Michael Escaravage, Simon J Graham, Michael J Bronskill und R Mark Henkelman. „T1, T2 relaxation and magnetization transfer in tissue at 3T“. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 54.3 (2005), S. 507–512.
- [Ste65] EO Stejskal. „Use of spin echoes in a pulsed magnetic-field gradient to study anisotropic, restricted diffusion and flow“. In: *The Journal of Chemical Physics* 43.10 (1965), S. 3597–3603.
- [Sti+01] Bram Stieltjes, Walter E Kaufmann, Peter CM Van Zijl, Kim Fredericksen, Godfrey D Pearlson, Meiyappan Solaiyappan und Susumu Mori. „Diffusion tensor imaging and axonal tracking in the human brainstem“. In: *Neuroimage* 14.3 (2001), S. 723–735.
- [Suh+03] Ki-Jeong Suh, Young-Shick Hong, Vladimir D Skirda, Vitaly I Volkov, Chung-Yung J Lee und Cherl-Ho Lee. „Water self-diffusion behavior in yeast cells studied by pulsed field gradient NMR“. In: *Biophysical chemistry* 104.1 (2003), S. 121–130.
- [Swa+15] Iain Swan, M Reid, PWA Howe, MA Connell, M Nilsson, MA Moore und GA Morris. „Sample convection in liquid-state NMR: why it is always with us, and what we can do about it“. In: *Journal of magnetic resonance* 252 (2015), S. 120–129.

- [Tai+08] Matthew J Tait, Samira Saadoun, B Anthony Bell und Marios C Papadopoulos. „Water movements in the brain: role of aquaporins“. In: *Trends in neurosciences* 31.1 (2008), S. 37–43.
- [Tam+08] Tsutomu Tamada, Teruki Sone, Yoshimasa Jo, Shinya Toshimitsu, Takenori Yamashita, Akira Yamamoto, Daigo Tanimoto und Katsuyoshi Ito. „Apparent diffusion coefficient values in peripheral and transition zones of the prostate: comparison between normal and malignant prostatic tissues and correlation with histologic grade“. In: *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 28.3 (2008), S. 720–726.
- [Tia+17] Xin Tian, Hua Li, Xiaoyu Jiang, Jingping Xie, John C Gore und Junzhong Xu. „Evaluation and comparison of diffusion MR methods for measuring apparent transcytolemmal water exchange rate constant“. In: *Journal of Magnetic Resonance* 275 (2017), S. 29–37.
- [Tor56] Henry C Torrey. „Bloch equations with diffusion terms“. In: *Physical review* 104.3 (1956), S. 563.
- [Van+17] Casper Van Der Wel, Rohit K Bhan, Ruben W Verweij, Hans C Frijters, Zhe Gong, Andrew D Hollingsworth, Stefano Sacanna und Daniela J Kraft. „Preparation of colloidal organosilica spheres through spontaneous emulsification“. In: *Langmuir* 33.33 (2017), S. 8174–8180.
- [Van92] Nicolaas Godfried Van Kampen. *Stochastic processes in physics and chemistry*. Bd. 1. Elsevier, 1992.
- [Wan+99] Janaka P Wansapura, Scott K Holland, R Scott Dunn und William S Ball Jr. „NMR relaxation times in the human brain at 3.0 tesla“. In: *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 9.4 (1999), S. 531–538.
- [Wes+10] Gisbert Westphal, Gerhard Kristen, Wilhelm Wegener, Peter Ambatiello, Helmut Geyer, Bernard Epron, Christian Bonal, Georg Steinhauser und Franz Götzfried. „Sodium Chloride“. In: *Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry*. American Cancer Society, 2010. ISBN: 9783527306732.
- [Wol+20] Michael Woletz, Franziska Gantner, Benedikt Hager, Peter Gruber, Siawoosh Mohammadi, Zoltan Nagy, Aleksandr Ovsianikov und Christian Windischberger. „3D-printed phantom for validating diffusion MRI models“. In: *Proc. Int. Soc. Magn. Reson. Med.* Bd. 28:4495. (2020).
- [Zha+11] Hui Zhang, Penny L Hubbard, Geoff JM Parker und Daniel C Alexander. „Axon diameter mapping in the presence of orientation dispersion with diffusion MRI“. In: *Neuroimage* 56.3 (2011), S. 1301–1315.
- [Zha+12] Hui Zhang, Torben Schneider, Claudia A Wheeler-Kingshott und Daniel C Alexander. „NODDI: practical in vivo neurite orientation dispersion and density imaging of the human brain“. In: *Neuroimage* 61.4 (2012), S. 1000–1016.

- [Zic16] Klaus Zick. *Diffusion NMR User Manual*. Version 004. Bruker Corporation. Sep. 2016.



# Danksagung

Wissenschaft entsteht im Gespräch

*Werner Heisenberg*

An dieser Stelle ist es Zeit, mich bei allen zu bedanken, die Teil dieser Arbeit waren und mich dabei oder auf dem Weg dorthin unterstützt haben.

Prof. Peter Bachert danke ich für die Zeit in seiner Gruppe während meiner Bachelor- und Masterarbeit und für die anschließende Übernahme der Betreuung der Doktorarbeit.

Prof. Lothar Schad danke ich für die Erstellung des 2. Gutachtens.

Ein besonderer Dank geht an Tristan, der mich während meiner Arbeit vorzüglich betreut hat und in vielen Diskussionen sehr zur „Entstehung der Wissenschaft“ oder in diesem Kontext vielmehr der Entstehung der Dissertation beigetragen hat. Aber auch die anderen Diskussionen, sei es zur Politik und schlecht programmierten Programmen beziehungsweise ganzen Betriebssystemen, haben die Arbeit immer wieder aufgelockert. Vielen Dank Tristan.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen jetzigen und ehemaligen Mitglieder meiner Arbeitsgruppe. Besonders genannt seien hier Kerstin und (Julian)<sup>2</sup>. Aber auch bei meiner alten Arbeitsgruppe möchte ich mich herzlich bedanken. Vor allem Johannes, Andi, Jan, Steffen und Johnny haben sehr dazu beigetragen, dass ich mich während der gesamten Zeit am DKFZ und auch außerhalb sehr wohl gefühlt habe.

Thank you Karel for your help with the spectrometer, the diffusion probe, assistance with chemistry problems, proof-reading of all the abstracts and spending long days, evenings and even whole weekends fixing and also blaming the machine. I really enjoyed working with you.

Zuletzt möchte ich mich noch bei meiner gesamten Familie bedanken, die diesen Weg überhaupt erst möglich gemacht hat. Vor allem aber bei Johannes, Frederik und Sarah. Danke, dass ihr immer für mich da seid.