Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin

Fachhochschule Münster University of Applied Sciences

Validation der Einsatzmöglichkeiten der NMR-MOUSE *(Nuclear Magnetic Resonance-Mobile Universal Surface Explorer)* am Menschen

Masterthesis
im Studiengang Biomedizinische Technik
Fachhochschule Münster

Vorgelegt von Darius Kornetka
geb. am 08.05.1986 in Posen

Betreuer	Prof. Dr. Stöber
DLR Betreuer	Priv.-Doz. Dr. Zange

Durchgeführt am Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt (e.V.)

Köln, den 11.08.2010

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung **4**
1 Einleitung **6**
2 Grundlagen **7**
2.1 Physikalischer Hintergrund 7
2.1.1 Kernmagnetische Resonanz 7
2.1.2 Relaxationsmechanismen 10
2.2 Die NMR-MOUSE mit Lift 11
2.2.1 Messungsmöglichkeiten und Sequenzen 13
2.2.2 Prinzip der Profilmessung und Signalakkumulation 14
2.2.3 Relaxationsverteilung, Hintergrund: Fourier- und Laplace Transformation 15
2.3 Medizinischer Hintergrund 17
2.3.1 Anatomie der Haut 17
2.3.2 Physiologie des Wasserhaushaltes 19
2.3.3 Mikrogravitation 20
3 Fragestellung **21**
4 Material und Methoden **22**
4.1 Probanden 23
4.2 Parameterwahl der NMR-MOUSE Profilmessung 23
4.2.1Anforderungen an die Parameter 23
4.2.2 Begründung der Parameterwahl der NMR-MOUSE Hautprofilmessung 26
4.3 Versuchsaufbau der NMR-MOUSE Messungen 28
4.4 Versuchsablauf der Hautprofilmessung mit der NMR-MOUSE 29
4.5 Erkennung und Vermessung der Dicken von Dermis und Subkutis anhand der NMR-MOUSE Profile 31
4.6 Referenzmessung durch Ultraschall 34
4.7 Vermessung der Hautschicht mithilfe von Ultraschall 35
4.8 Messungen zur Bestimmung der T_2-Relaxationsverteilung 36
4.9 Analyse der T_2 Messungen zur Bestimmung der Relaxationsverteilung 38
4.10 Statistische Auswertung der NMR-MOUSE Profile und T_2 Relaxationsverteilungen 41
5 Ergebnisse **42**
5.1 Schichtdicken der Haut bestimmt mit der NMR-MOUSE 42
5.2 Die Dicke der Hautschichten gemessen mit Ultraschall 46
5.3 Vergleich zwischen der Messmethode NMR-MOUSE und Ultraschall 47

5.4 Relaxationsverteilung aus dem CPMG Echozug 49
6 Diskussion 53
6.1 Probanden 53
6.2 Methodendiskussion 54
6.2.1 Reliabilitätsmessungen von Hautprofilen mit der NMR-MOUSE 54
6.2.2 Referenzmessung von Hautprofilen mit dem Ultraschall 57
6.2.3 Vergleich der NMR-MOUSE Messergebnisse mit dem Goldstandard 59
6.2.4 Statistische Analyse zwischen den Zuständen der Haut 60
6.3 Hautschichtdickenvergleich mit der Literatur 61
6.4 Venöse Okklusion als physiologische Änderung 63
6.5 NMR-MOUSE als Methode zur Bestimmung der Relaxationsverteilung 64
6.6 Schlussfolgerungen 66
6.7 Verbesserungen 67
7 Ausblick 68
Quellen 69
Abbildungsverzeichnis 72
Tabellenverzeichnis 73
Anhang 74
Eigenständigkeitserklärung 80

Zusammenfassung

Die NMR-MOUSE (mobile universal surface explorer) ist eine auf der magnetischen Resonanz beruhende mobile Messmethodik. Zur Evaluierung der NMR-MOUSE am menschlichen Körper wurde die Studie „Schichtdickenmessung in der Haut mit NMR-MOUSE“ am DLR, Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin, an zehn gesunden männlichen Probanden durchgeführt. Das Ziel dieser Studie bestand darin, die Reproduzierbarkeit der NMR-MOUSE an der lebenden menschlichen Haut zu überprüfen. Es wurden jeweils fünf Messungen an der Innenseite des Arms vollzogen. Um eine Zustandsänderung der Haut herbeizuführen, wurde der Arm venös gestaut. Als Referenzmethode wurde ein medizinischer Ultraschallkopf mit 10 MHz eingesetzt.

Mit beiden Methoden konnten die Hautschichten Dermis und Subkutis differenziert werden. Mit der NMR-MOUSE ergaben sich folgende Durchschnittswerte:

- für die Dermis 1230 ±180 µm
- für die Subkutis 1740 ±840 µm
- für die Gesamtdicke 2970 ± 830 µm

Die Ultraschallmessung ergab, dass die Dermis durchschnittlich bei dieser um 213 µm dicker und die Subkutis um 350 µm niedriger gegenüber der NMR-MOUSE ist. Für beide Methoden gilt, dass für die Dermis deutlich niedrigere Standardabweichungen als für die Subkutis vorliegen. Der Ultraschall liefert den Hinweis, dass die zum Teil hohen Standardabweichungen auf die anatomischen Unregelmäßigkeiten der Haut zurückzuführen sind und die Hautschichtenübergänge in der NMR-MOUSE anders gewählt werden müssen.

Auf Grund des ähnlichen Ergebnisses der NMR-MOUSE mit dem Ultraschall, ist momentan wegen der langen Messdauer der Ultraschall die Methode der Wahl.

Des Weiteren wurden an 5 gesunden Probanden Messungen zur T_2 Relaxation in definierten Schichten durchgeführt. Die Schichten konnten durch die Hautprofilierung und Ultraschallmessung jeweils eindeutig der Dermis und der Subkutis zugeordnet werden. Mittels einer regulierten numerischen inversen Laplace Transformation wurde aus der T_2 Abklingkurve die Verteilung der Relaxation berechnet. Daraus ergaben sich große Anteile von kurzen T_2 Zeiten von etwa 10 ms bei der Dermis. Innerhalb der subkutanen Schicht variierte der Anteil von Proband zu Proband. Im

Mittel ist der Anteil der langen T2 Relaxationen von 60 ms bis 200 ms mit der Spitze bei etwa 100 ms häufiger vertreten. Eine stoffliche Zuordnung durch die Relaxationenszeiten ist nicht eindeutig und hat besonders im subkutanen Gewebe eine hohe Variabilität.

Wie auch bei der Hautprofilmessung besteht das größte Problem in der Messzeit. Da diese etwa 9 min beträgt, wird ein zeitliches Mittel einer physiologischen Reaktion gebildet. Letztlich ist durch die lange Messdauer sowohl bei der Hautprofilmessung als auch bei der Relaxationsmessung ein sinnvoller Einsatz zur Untersuchung von physiologischen Zusammenhängen fraglich.

1 Einleitung

Die kernmagnetische Resonanz NMR (engl: Nuclear Magnetic Resonance) ist ein physikalisches Prinzip, das als weit verbreitetes beschädigungsfreies Verfahren sowohl spektroskopisch als auch bildgebend Verwendung findet.

Der umfassende Gebrauch der NMR ist u. a. durch zwei Faktoren eingeschränkt. Zum einen durch die Tatsache, dass das zu untersuchende Objekte zum NMR-Spektrometer gebracht werden muss und zum anderen durch dessen Größe, da es in das Magnetfeld des Gerätes passen muss. Durch eine mobile einseitige NMR-MOUSE (mobile universal surface explorer) werden diese Einschränkungen zum Teil behoben. Dieser Sensor ist so aufgebaut, dass die Probe an die offen zugängliche Seite zur Vermessung gebracht und nicht in ein Gehäuse positioniert wird. Neben der hohen Mobilität des Sensors ist die kostengünstige Anschaffung zu erwähnen. Der Nachteil der NMR-MOUSE besteht in dem schwächeren und inhomogenen Magnetfeld.

Ursprünglich wurden die offenen Sensoren in der Bohrlochvermessung angewandt, indem mit einem NMR-Spektrometer die Gesteinsformationen kontrolliert wurden. Zeitlich parallel wurde diese Methode für folgende Anwendungsgebiete entwickelt: Messung des Feuchtegehalts in der Erde, im Brückendeck, im Baumaterial und zur Kontrolle von Verpackungs- und Nahrungsmitteln. Allgemein wird die NMR Methode in der Chemie, in der Biologie, in der Medizin und in der Materialwissenschaft benutzt. Für die Medizin ist von besonderer Bedeutung, dass nicht-invasive und in situ Messungen durchgeführt werden können (Blümich *et al.,* 2006).

Im Gegensatz zu verwandten Geräten nutzt die NMR-MOUSE keinen Supraleiter, sondern einen Permanentmagneten. Sie arbeitet mit Frequenzen zwischen 10 und 20 MHz mit einem Magnetfeldgradienten von bis zu 20 T/m. Das Gewicht liegt je nach Model unter einem bis vier Kilogramm. Die Eindringtiefe ist limitiert auf typischerweise 15 mm (Blümich & Casanova, 2006).

2 Grundlagen

Zunächst wird das Prinzip der kernmagnetischen Resonanz mit den Relaxationsmechanismen beschrieben. Es folgen ein Überblick über die Anatomie und Physiologie der Haut, über den Wasserhaushalt der Haut und den Einfluss durch die Mikrogravitation auf diese. Den Abschluss der grundlegenden Informationen bildet die Methode der NMR-MOUSE.

2.1 Physikalischer Hintergrund

2.1.1 Kernmagnetische Resonanz

Die erstmalige Entdeckung der Wechselwirkung zwischen einem äußeren Magnetfeld und dem magnetischen Moment erfolgte durch Pieter Zeeman. Dieser beschreibt die Aufspaltung der Spektrallinien von Atomen z.B. durch ein Interferometer unter Einfluss eines äußeren Magnetfeldes (Zeeman Effekt) (Halliday *et al*, 2003).

Alle Atomkerne, die eine ungerade Anzahl von Protonen oder Neutronen haben, besitzen einen Spin. Der Spin (to spin = drehen) ist eine quantenmechanische Größe, die zur Folge hat, dass sich das Teilchen um sich selbst dreht. Die Tatsache, dass der Atomkern eine Masse m besitzt, führt zu einem Eigendrehimpuls. Dieser bewirkt die räumlich feste Anordnung der Drehachse. Zudem kommt es durch die Rotation der elektrischen Ladung des Atomkerns (Protonen im Kern sind positiv geladen) zu einem magnetischen Dipolmoment μ. Durch dieses wird der Spin feststellbar, denn die Anordnung der Spindrehachse entspricht dem des Magnetfeldvektors. Der Magnetfeldvektor kann durch ein appliziertes Magnetfeld beeinflusst werden, die Änderung der Lage wird durch die Induktion einer Spannung auf die äußeren Spulen gemessen. Gleichzeitig ändert sich mit der Magnetfeldausrichtung die Rotationsachse des Spins um eine Ausweichbewegung, die sogenannte Präzessionsbewegung. Durch Anlegen eines äußeren Magnetfeldes richten sich die Spins also auf Grund ihres magnetischen Dipolmomentes entlang der Magnetisierungsrichtung aus und ergeben eine Gesamtmagnetisierung M_z entlang der Richtung des äußeren Magnetfeldes, welches für gewöhnlich als B_z definiert wird (Weishaupt *et al*, 2009).

Die Spins präzidieren um die Richtung des angelegten Magnetfeldes mit der Lamorfrequenz ω_L:

$$\omega_L = \gamma * B_0 \qquad (2.1)$$

mit:

ω_L: Lamorfrequenz [MHz]

γ: Gyromagnetisches Verhältnis für Protonen 42,58 MHz/T

B_0: äußeres Magentfeld [T]

Der Zusammenhang zwischen dem kernmagnetischen Dipolmoment μ und dem Spindrehimpuls P wird durch das gyromagnetische Verhältnis γ beschrieben:

$$\mu = \gamma * P \qquad (2.2)$$

Die Energie der Wechselwirkung zwischen den Kernpins und dem appliziertem Magnetfeld hängt von der Magnetfeldstärke ab:

$$E = - \mu * B_0 \qquad (2.3)$$

Der Hamilton-Operator für die Wechselwirkung zwischen dem kernmagnetischen Dipol und dem applizierten Magnetfeld entlang der B_0 Richtung beträgt:

$$\hat{H} = - \gamma h B_0 \hat{I}_z \qquad (2.4)$$

Dabei ist:

h $\hat{I}_z$: der hermitische Operator, der in der betrachteten Z-Richtung den Spindrehimpuls beschreibt. Er wird anstelle des Spindrehimpulses P benutzt.

h: ist die Planck'sche Konstante dividiert durch 2 π.

$\hat{I}_z$ hat den Eigenwert $m_I = - I / - I +1, \ldots, I +1$, welcher der Spinquantenzahl entspricht. Die Energie des Kerns im Magnetfeld ist in eine bestimmte Menge von gequantelten

Energieniveaus - γ h B_0 m_I. Der ^{1}H Kern hat mit I = ½ zwei Energieniveaus mit m_I = ½ und m_I = - ½ (McDonald & Newling, 1998).

Auf Grund der gequantelten Energieniveaus der Spins können diese sich im äußeren Magnetfeld entweder parallel oder antiparallel ausrichten. Dabei ist eine parallele Ausrichtung energetisch günstiger und daher häufiger vertreten. Dieser Unterschied führt zur messbaren Gesamtmagnetisierung M_z und beträgt etwa 7ppm. Die Gesamtmagnetisierung M_z ist proportional zur äußeren Magnetfeldstärke B_o (Weishaupt *et al*, 2009).
Zur Anregung der Kernmagnetischen Resonanz wird die magnetische Komponente eines elektromagnetischen, hochfrequenten Pulses genutzt, der die Resonanzbedingung erfüllen muss, um Energie in das System zu bringen. Dabei wird diese durch die Lamorfrequenz erfüllt.
Die Anregung bewirkt, dass die Spins kippen. Die Gesamtmagnetisierung in B_z Richtung sinkt, dafür entsteht eine Magnetisierung transversal zur ursprünglichen B_z Richtung, die sogenannte M_{xy} Magnetisierung.
Zudem wird die Phasenkohärenz der Präzession der Spins um die B_z Richtung erzwungen. Die querverlaufende, rotierende Präzession der Spins führt durch positive Interferenz zu einer magnetischen Komponente, welche durch Induktion einer gegenelektromotorischen Kraft in einem abgestimmten LC Kreis detektiert werden kann (McDonald & Newling, 1998) (Weishaupt *et al*, 2009).

Dieser Prozess ist auch durch die klassische Physik zu beschreiben. Demnach ist ein Großteil der Magnetisierung entlang des applizierten Magnetfeldes im Gleichgewicht. Erst bei der Störung der Magnetisierung erfährt sie ein Drehmoment entsprechend der Änderung des Drehimpulses:

$$dP / dt = \mu \times B_0 \qquad (2.5)$$
$$= - \gamma P \times B_0$$

mit:

P_z konstant und P_x α cos(γ B_0 t) und P_y α sin(γ B_0 t).

Ein HF Puls, der die Energieniveaus I = 1/2 gleichermaßen besetzt und die Magnetisierung von der z-Achse auf die xy-Ebene kippt, wird 90° Puls genannt (Kippwinkel beträgt 90°). Ein 180° Puls bewirkt die Invertierung der Magnetisierung (McDonald & Newling, 1998).

2.1.2 Relaxationsmechanismen

Zwei unabhängige Prozesse führen dazu, dass der stabile Zustand wieder eingenommen wird und das MR Signal, ebenso wie die transversale Magnetisierung, verschwindet.

Spin Gitter Relaxation

Das Energiegleichgewicht wird wieder hergestellt und die Gesamtmagnetisierung stellt sich zurück auf die z-Achse ein, wenn die Spins ihre Energie an das Gitter abgeben. T_1 hängt von der äußeren Magnetfeldstärke und der inneren Molekülbewegung ab. Die Relaxationskonstante T_1 ist die Zeit, nach der 63% der ursprünglichen longitudinalen Magnetisierung wieder erreicht sind:

$$T_1 : M_z(t) = M_0 * (1 - e^{-\frac{t}{T_1}}) \qquad (2.6)$$

Spin Spin Relaxation

Die Ausbreitung der Präzessionsphasen führt zur Auslöschung des kernmagnetischen Dipolmoments senkrecht zum Magnetfeld B_0. Sie wird durch die Wechselwirkung der Spins untereinander hervorgerufen (McDonald & Newling, 1998). Die Relaxationskonstante T_2 ist die Zeit nach einem 90° Puls, in der die transversale Magnetisierung auf 37% zerfallen ist. Dabei gilt immer $T_1 \geq T_2$ (McDonald & Newling, 1998).

Durch die konstanten Inhomogenitäten des B_o Magnetfeldes kommt es zum freien Induktionsabfall (engl.: Free Induction Decay, FID). Äquivalent zur T_2 Relaxation führen die Inhomogenitäten zur Dephasierung der Spins mit der schnelleren Zeitkonstante T_{2*} (Weishaupt *et al*, 2009):

$$T_2 : M_{xy}(t) = M_0 * (e^{-\frac{t}{T_2}}) \qquad (2.7)$$

2.2 Die NMR-MOUSE mit Lift

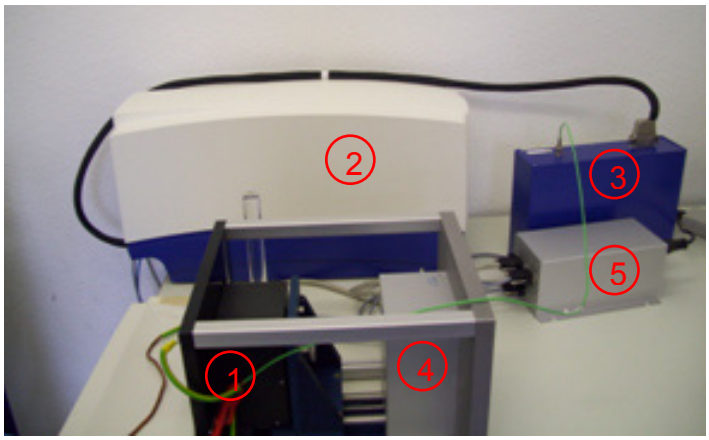

Abbildung 1: NMR-MOUSE (1) mit Spektrometer (2), Vorverstärker (3), Lift (4) und Liftsteuerung (5)

Die NMR-MOUSE ist eine Entwicklung der RWTH Aachen mit dem Verwendungszweck für makromolekulare Analysen. Die Hauptbestandteile der NMR-MOUSE sind: ein Permanentmagnet und die Sende- und Empfangsspule im Schwingkreis. Darüber hinaus gehören das Gestell, der Lift zur Positionsänderung und die damit verbundene Eindringtiefe der NMR-MOUSE dazu. Hinzukommt das Spektrometer und der Vorverstärker von Bruker und die Liftansteuerung von ACC Aachen.

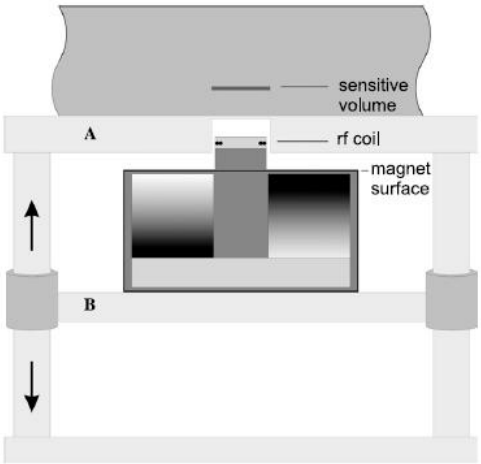

Abbildung 2: Schematische Darstellung der NMR-MOUSE mit Lift und Messobjekt (Blümich *et al.*, 2005)

Die Geometrie des Magneten besteht aus zwei Permanentmagneten, die eine gegensätzliche Polung aufweisen und auf einem eisernen Bügel u-förmig

aufgetragen sind. Die offene Form definiert eine Schicht über der Oberfläche, an der die Resonanzbedingung für die Messung eines NMR-Signals erfüllt ist (Blümich *et al.,* 2006). Mit Hilfe des Lifts wird diese sensitive Schicht bewegt, wodurch ein Tiefenprofil erstellt werden kann. Die sensitive Schicht wird durch den Gradienten des Magneten, der etwa 20 T/m beträgt, und durch die Frequenz des Anregungsimpulses bestimmt. Die Schichtselektion wird also durch den Magnetfeldgradienten und die Lamorfrequenz der Kerne in einer bestimmten Region des Magnetfeldgradienten festgelegt. Eine Repositionierung der NMR-MOUSE oder des Objekts ermöglicht eine Untersuchung von verschiedenen Regionen des Objekts (Blümich *et al.*, 2008). Die Breite der angeregten Schicht wird mit der Dauer des HF Pulses bestimmt, der dann ein an den Magnetgradienten angepasstes Frequenzband sendet. Dabei sind bei diesem NMR-MOUSE Typ Schichtbreiten von 50 µm, 100 µm und 150 µm softwareseitig wählbar.

Bei der in dieser Studie verwendeten NMR-MOUSE beträgt die Feldstärke 0,47 T, daher ergibt sich aus dem Produkt des gyromagnetischen Verhältnisses und der Feldstärke die Lamorfrequenz $\omega_L = \gamma * B_0$

42,58 MHz/T * 0,47 T = 20,0126 MHz.

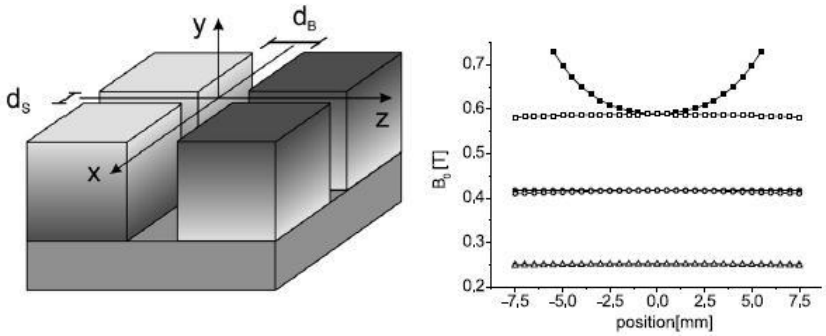

Abbildung 3: Links: Darstellung der Magnetgeometrie mit der Polarisationsrichtung in Graustufen. Abstand d_s=2 mm zwischen gleichgerichteten Magneten und d_B =14 mm zwischen entgegengesetzt polarisierten Magneten.

Rechts: Resultierendes Magnetfeld B_0 mit der Magnetfeldstärke: gefüllte Punkte in z-Richtung, leere Punkte in x-Richtung mit den Abständen 0 mm (oben), 10 mm (Mitte) und 20 mm (unten) von der Magnetoberfläche (Blümich *et al.*, 2005)

2.2.1 Messungsmöglichkeiten und Sequenzen

Mit der NMR-MOUSE können Signalamplitude und -intensität durch die Messung der T_2 Relaxationszeit bestimmt werden. Dabei dient die CPMG Sequenz (nach den Erfindern: Carr, Purcell, Meiboom, Gill benannt) der T_2 Relaxationszeitmessung. Mit Hilfe der Saturation Recovery-Sequenz wird die T_1 Relaxationszeit indirekt bestimmt. Zusätzlich kann der Selbstdiffusions-Koeffizient mit der NMR-MOUSE gemessen werden (Blümich *et al.*, 2004).

<u>Saturation Recovery-Sequenz</u>

Die Saturation Recovery-Sequenz dient zur Messung der longitudinalen Relaxationszeit T_1. Hierbei wird zuerst durch eine Reihe von aperiodischen 90° Pulsen die longitudinale Magnetisierung zerstört. Es folgt eine Rückkehr ins thermische Gleichgewicht. Die momentane longitudinale Relaxation kann durch einen 90° Puls in die Transversalebene gekippt werden, wo sich auch die Empfangs- und Sendespule befindet. Daher kann der Aufbau der longitudinalen Magnetisierung nur indirekt mit der NMR-MOUSE detektiert werden. Die Zeitvariable zwischen den Pulsen muss dabei variiert werden, um den Verlauf der longitudinalen Magnetisierung abzutasten (Blümich *et al.*, 2008).

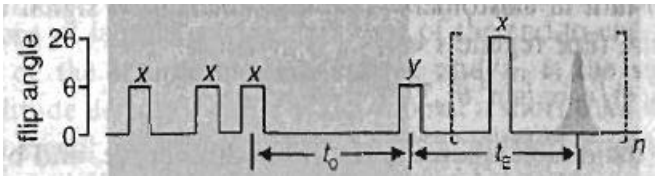

Abbildung 4: Saturation Recovery-Sequenz (Blümich *et al.*, 2008)

<u>CPMG Sequenz</u>

Die CPMG Sequenz, welche auch „Spin Echo“ genannt wird, hat zum Ziel durch wiederholte Echos, das T_2 Signal aufrecht zu erhalten und damit dessen Messung zu ermöglichen. Durch einen 90° Puls wird ein FID (free induction decay) erzeugt. Dieser ist so kurzlebig, dass er meist innerhalb der Totzeit der Sende- und Messspule liegt und nicht erfasst werden kann. Daher wird ein 180° Puls nach der halben Echozeit $T_E/2$ ausgesandt. Er bewirkt eine Refokussierung der Spins, welche dann wieder dephasieren und nach der halben Echozeit $T_E/2$ erneut refokussiert werden. Die Refokussierung der Spins durch den 180° Puls wird je nach Abtastdauer des Signals wiederholt.

Die Vorgänger Version der CPMG ist die Hahn-Echo Sequenz (nach Erwin Hahn). Diese verwendet den 90° Puls zur Anregung und einen nach $T_E/2$ folgenden 180° Puls zur Refokussierung (Blümich *et al.*, 2005)(Blümich *et al.*, 2008).

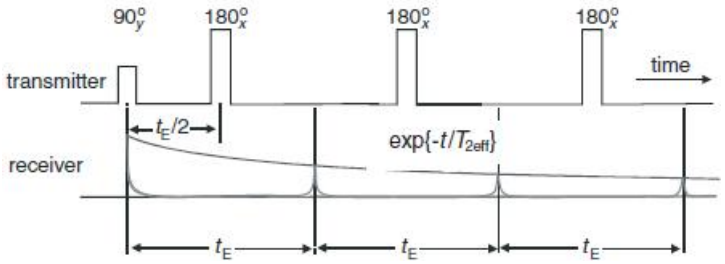

Abbildung 5: CPMG Sequenz (Blümich *et al.*, 2004)

Dabei ist t_E die Echo Zeit und T_2 die transversale Relaxationszeit.

<u>T_{2eff} statt T_2</u>

Im Gegensatz zu der CPMG Sequenz in einem homogenen Magnetfeld erhalten wir kein reines T_2, sondern ein T_2 effektiv. Dies ist durch die inhomogenen B_0, B_1 Felder bedingt, die zu einem Off-Resonanzeffekt führen. Zusätzlich haben die Spins unterschiedliche Drehachsen. Durch den Anregungsimpuls und das applizierte B_1 Magnetfeld mit der Resonanzfrequenz wird die magnetische Rotationsbewegung definiert. Der Flipwinkel ist aufgrund der erwähnten Inhomogenitäten nicht ideal 90° oder 180°. Daher bewirkt der 180° Puls nicht nur eine Refokussierung der Spins, sondern zum Teil auch eine longitudinale Magnetisierung. Aus diesem Grund ist T_{2eff} eine Mischung aus T_1 und T_2. Allgemein gilt: $T_{2eff} > T_2$ (Blümich *et al.*, 2008).

2.2.2 Prinzip der Profilmessung und Signalakkumulation

Profile des Messobjekts werden erstellt, indem das Objekt meist von der maximalen Eindringtiefe aus bis zum Übergang zur Luft hin schrittweise, Schicht für Schicht, gescannt wird. Das bedeutet jeder Schicht wird eine Signalintensität zugeordnet, so dass diese nebeneinander gelegt das Profil ergeben.

Mit der NMR-MOUSE lassen sich viele Parameter bezüglich der Messung variieren. Für die Güte des Signals ist das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR Signal to Noise Ratio) wesentlich. Um ein geeignetes Signal zu erhalten, wird das Prinzip der Signalakkumulation verwendet. Dieses erhöht die Sensitivität aus mehreren nacheinander folgenden reproduzierbaren Messungen einer bestimmten Schicht.

Das Signal S wird mit $n * S$ verstärkt, wohingegen das Rauschen mit $\sqrt{n} * R$ zunimmt. Daraus resultiert ein SNR von:

$$SNR : \frac{n * S}{\sqrt{n} * R} = \sqrt{n} * \frac{S}{R} \qquad (2.8)$$

Das bedeutet, dass das Signal-Rausch-Verhältnis mit dem Faktor $\sqrt{n}$ verbessert werden kann (Parameter: Anzahl der Scans). Alle weiteren Messparameter sind in den Vorversuchen erklärt.

2.2.3 Relaxationsverteilung, Hintergrund: Fourier- und Laplace Transformation

Die transversale Relaxationszeit T_2 oder genauer T_{2eff} ist ein gewebespezifischer Parameter und dient der Klassifizierung der Schicht. Einer Schicht können mehrere charakteristische Relaxationszeiten zugeordnet werden. Um zu diesen zu gelangen, werden mathematischen Transformationen verwendet.

Hier werden nun die Grundlagen der Zeit-Bereich (auch Originalraum) und Frequenz-Raum (auch Bildraum) Transformation erläutert.

Die Fourier-Transformation hat vor allem in der Signal- und Bildverarbeitung einen hohen Stellenwert und dient zur analytischen Lösung von Partiellen Differentialgleichungen.

<u>Fourier-Transformation</u>

$$F(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} \mathrm{f(t)}\, \mathrm{e}^{-j\omega t}\, \mathrm{dt} \qquad (2.9)$$

mit: $F(\omega)$: Fourier-Transformierte

ω : Frequenzvariable

$-j$: imaginär Teil

Mit der Fourier-Transformation (FT) werden Zeitfunktionen in Bildfunktionen umgewandelt und mittels der inversen FT in umgekehrter Richtung. Eine der wichtigsten Eigenschaften ist dabei, dass die Faltung im Zeitbereich durch Fourier-Transformation zu einer Multiplikation im Frequenzraum wird. Es gilt ebenfalls die Umkehrung von Faltung im Frequenzraum zur Multiplikation im Zeitbereich (diese

Eigenschaft ist für die Laplace Transformation essentiell, mehr zur Faltung im Kapitel: 4.5 Erkennung und Vermessung der Dicken von Dermis und Subkutis anhand der NMR-MOUSE Profile).

Die diskrete Fourier-Transformation (DFT) dient zur Analyse von numerischen, endlichen oder periodischen Signalen oder deren Ausschnitte. Mit der schnellen Fourier-Transformation (FFT) steht ein Algorithmus zur Verfügung, mit dem eine Produktzerlegung und Hintereinanderschaltung von Transformationen erfolgt. Das Geschwindigkeitsoptimum ist bei einer Länge von 2^n erreicht (Blatter, 2009).

Laplace Transformation

Die Laplace Transformation (LT) ist die Verallgemeinerung der Fourier-Transformation. Die LT ist für kausale Zeitfunktionen (t<0) einsetzbar, die im Gegensatz zur Fourier-Transformation nicht abklingen müssen und exponentiell ansteigen können (Blatter, 2009):

$$F(s) = \int_0^\infty \mathrm{f(t)}\, \mathrm{e}^{-\mathrm{st}}\, \mathrm{dt} \qquad (2.10)$$

Durch Ersetzen des rein imaginären Exponenten $-j\omega t$ der Fourier-Transformation durch ein Real- und Imaginärteil $-st = -(\sigma + j\omega)t$ wird die Konvergenz von praktisch vorkommenden Zeitfunktionen in der Laplace Transformation erreicht.

Die Laplace Transformation ist ein wichtiges Instrument zur Beschreibung von Systemen in der Regelungstechnik. Für gewöhnlich liefert ein linear zeitinvarianten Systems (linear time-invariant system LTI) eine spezifische Systemantwort auf einen Dirac Impuls δt. Ein lineares zeitinvariantes System ist unabhängig gegenüber zeitlicher Verschiebung und besitzt eine Proportionalität bei veränderlichen Parametern. Die Laplacetransformierte der Impulsantwort ist die Transferantwort $H(s)$, welche die Frequenzantwort $H(i * \omega)$ ergibt (Weber, 2003).

Inverse Laplace Transformation

$$\mathrm{f(t)} = \frac{1}{2\pi i} \int_{\gamma c} F(s) \mathrm{e}^{\mathrm{st}}\, \mathrm{ds} \qquad (\mathrm{t} > 0) \qquad (2.11)$$

Die Pol- und Nullstellen der Transferfunktion sind charakteristisch für diese, so dass die inverse Laplace Transformation der Transferfunktion die Zeitfunktion des Systems angibt. Diese kann für gewöhnlich in Korrespondenz Tabellen nachgeschlagen werden (Weber, 2003)(Blatter, 2009).

Regelungstechnisch betrachtet bildet die T2 Zerfallskurve durch den CPMG Echo Zug die Transferfunktion der Laplace transformierten H(s). Mit der inversen Laplace Transformation erhalten wir die Impulsantwort im Zeitbereich f(t). Bei dem System handelt es sich allerdings nicht um ein linear zeitinvariantes System und da die inverse Laplace Transformation nicht numerisch stabil ist, müssen entsprechende robuste numerische Algorithmen verwendet werden (Weber, 2003).

Die Algorithmen zur numerischen inversen Laplace Transformation werden im Kapitel 4.9 „Analyse der T2 Messungen zur Bestimmung der Relaxationsverteilung“ erläutert.

2.3 Medizinischer Hintergrund

2.3.1 Anatomie der Haut

Die Körperoberfläche wird von der Haut bedeckt (1,5-1,8 m^2) und geht an den Körperöffnungen in die Schleimhaut über. Die Haut wird in die Schichten: Epidermis, Dermis und Subkutis (oder Hypodermis) unterteilt (s. Abb. 6), welche sich wiederum weiter differenzieren lassen. Das Gesamtgewicht beträgt etwa 11-15 Kg, ohne Subkutis etwa 3 Kg. Die Aufgaben der Haut bestehen unter anderem im Schutz des Körpers und der Temperatur- und Wasserregulation (Schiebler *et al*, 1999).

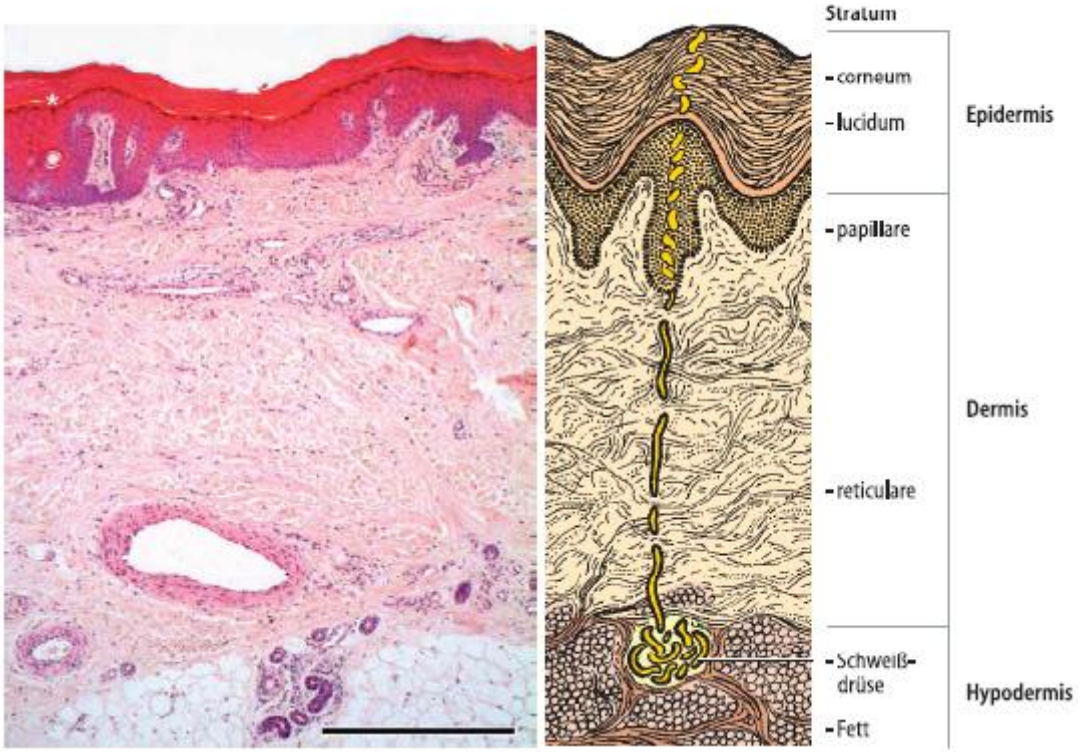

Abbildung 6: Hautschichten (Balken links hat die Länge 1 mm)(Junqueira *et al*, 2005)

Epidermis

Die Epidermis (auch Oberhaut) hat eine durchschnittliche Dicke von 50 µm, sie kann bis zu 0,2 mm betragen, außer an Handteller und an der Fußsohle, wo sie etwa 1 mm beträgt. In Abhängigkeit von der Beanspruchung kann die Epidermis eine Dicke von 2 mm oder mehr haben. Die Epidermis besteht zum größten Teil (85%) aus Keratinozyten. Diese sind Epithelzellen, die sich in Horn umwandeln können. Den restlichen Teil von 15% bilden Spezialzellen. Die Epithelzellen werden in der untersten Zelllage neu gebildet und wandern in etwa 30 Tagen zur Oberfläche. In der mittleren Epithellage kommt es zur Verhornung. Auf Grund der großen Zahl an Zellen, die in diesem Prozess beteiligt sind, können drei Schichten in der Epidermis unterschieden werden: Stratum germinativum (Regenerationsschicht), Stratum granulosum (Verhornungsschicht), Stratum corneum (Hornhaut) (Schiebler *et al*, 1999).

Dermis

Die Dermis (auch Lederhaut) bestehend aus Bindegewebe kann in zwei weitere Schichten unterteilt werden: Stratum papillare und Stratum reticulare. Sie unterscheiden sich in der jeweiligen Dichte und Anordnung der Fasern. Die

Papillarschicht (Stratum papillare) grenzt an die Epidermis an, wobei diese beiden miteinander verzahnt sind. Die Basalmembran, die zwischen der Epidermis und der Dermis liegt, befestigt die Epidermis an der Dermis.
Zusätzlich kann man die Dermis in zwei Typen kategorisieren: die Felderhaut ist von der Leistenhaut, durch die Verzapfung zur Epidermis gut voneinander unterscheidbar. Die Felderhaut bildet den größten Teil der Haut. Die Leistenhaut (z.B. Handinnenfläche, Beugeseite der Finger und Zehen) bildet ein typisches erblichbedingtes Muster an der Oberfläche.
Der Papillarschicht folgt die Geflechtschicht (Stratum reticulare), die der Haut durch die Kollagenfaserbündel eine hohe Zerreißfestigkeit gibt. Durch den hohen Anteil an Interzellularsubstanzen besitzt die Dermis ein hohes Wasserbindungsvermögen (Schiebler *et al*, 1999). Die Dicke der Dermis hängt stark von dem jeweiligen Ort ab und kann 1,5 mm bis 4 mm betragen (Junqueira *et al*, 2005).

Subkutis

Die Subkutis (auch Unterhaut) verbindet durch größtenteils lockeres Bindegewebe die Haut mit den darunterliegenden Strukturen, wie Muskelfaszien oder Knochenhaut. In ihr verlaufen die zur Haut führenden Nerven und Blutgefäße, darüber hinaus befinden sich dort die Drüsen und Haarwurzeln. Die Subkutis enthält außerdem einen großen Anteil an Fettzellen. Daher kann die Dicke in Abhängigkeit vom Fettspeicher stark variieren (Schiebler *et al*, 1999).

2.3.2 Physiologie des Wasserhaushaltes

Die Haut ist als Wasserspeicher und Temperaturregulierungsorgan an vielen Stoffaustauschprozessen beteiligt, wie etwa der Hauttemperatursenkung durch Transpiration. Bei diversen Krankheiten dient die Haut als Zwischenspeicher für Wasser und zusätzlichen abzuführenden Stoffen, wie z.B. bei Nierenpatienten.
Der Wasseranteil des menschlichen Körpers unterscheidet sich in Abhängigkeit vom Geschlecht und vom Alter. So beträgt der Wassergehalt eines Erwachsenen etwa 65%. Das Gewebe Fett hat generell einen niedrigeren Wasseranteil (10-30%) als andere Gewebe (Haut 72%, Muskeln 76%).
Flüssigkeitsräume können in intrazellulären und extrazellulären Raum unterteilt werden. Der intrazelluläre Raum umfasst die Körperzellen, welche einen sehr

inhomogenen Raum bezüglich der Flüssigkeitsverteilung bilden. Der extrazelluläre Raum wird in drei Kompartimente aufgeteilt:

- das Interstitium, welcher der Flüssigkeitsraum ist, der alle Zellen außerhalb des Blutstroms umschließt
- das Blutplasma
- die epithelialen Lumina (transzelluläre Flüssigkeit), welches Flüssigkeitsräume sind, die von Epithelzellen umschlossen werden (z.B. Magen-Darm-Trakt, Harnblase)

Der Flüssigkeitsaustausch zwischen intravaskulärem Raum (innerhalb des Blutkreislaufes) und interstitiellem Raum erfolgt über die Kapillaren und wird durch die hydrostatischen und kolloidosmotischen Drücke hervorgerufen. Die Kapillarwand verhält sich dabei wie eine poröse Membran, so dass die Druckdifferenz zwischen Interstitium und Kapillargefäß zum Flüssigkeitsaustausch führt. Das Ausströmen aus dem Kapillargefäß ins Interstitium (Auswärtsfiltration) erfolgt durch den höheren hydrostatischen Druck im Gefäß gegenüber dem Interstitium. Die Einwärtsfiltration ergibt sich durch die Druckdifferenz aus dem kolloidosmotischen Drücken des Blutplasmas und des Interstitiums (Schmidt & Thews, 1995).

2.3.3 Mikrogravitation

Durch die Mikrogravitation, die im Weltraum herrscht, erfährt der menschliche Körper Änderungen in seiner Physiologie. Diese betreffen folgende Bereiche: Herz-Kreislaufsystem, Blutkomponenten, Wasserregulation, Muskulo-Skelettales System, menschliches Wahrnehmungs- und Gleichgewichtssystem (www.nsbri.org, 2009).

<u>Wasserverschiebung</u>

Auf Grund der fehlenden Gravitation kommt es zur Flüssigkeitsverschiebung vom unteren in den oberen Körper. Dies bewirkt sichtbare Änderungen am Menschen, welche auch „puffy face“ und „bird legs“ genannt werden. Das Gesicht schwillt durch das zusätzliche Wasser aus den Beinen an, welche wiederum an Umfang abnehmen. Hervorgerufen wird dieser Effekt u.a. durch den fehlenden hydrostatischen Druck.

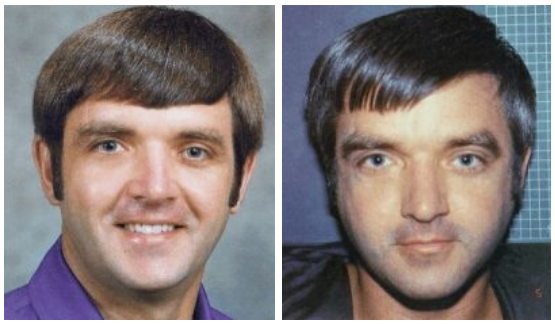

Abbildung 7: links: normaler Zustand. rechts: „puffy face“ (www.nsbri.org, 2009)

Nachdem also eine Flüssigkeitsverschiebung stattgefunden hat, wird durch die Nieren die erhöhte Flüssigkeitsmenge reguliert, indem diese ausgeschieden wird. Nebenbei ist dieser Vorgang dafür verantwortlich, dass Astronauten zunächst keinen Durst verspüren, weil das gesamte Flüssigkeitsniveau unter dem der erdnormalen Physiologie liegt. Über einen längeren Zeitraum nimmt das Herz an Volumen ab, da die benötigte Herzleistung bei fehlender Gravitation und geringerem Blutvolumen sinkt. Es wird daher ein „weltraumnormaler“ Zustand erreicht (www.nsbri.org, 2009).

3 Fragestellung

Die Analyse des menschlichen Körpers ist ein neuer Anwendungsbereich in der NMR-Lift-MOUSE und noch sehr unzureichend erforscht. Als Versuchsobjekt stellt der Mensch viele Herausforderungen dar, die zu beachten und zu lösen sind. Die lebende Haut ist, wie bereits beschrieben, ein heterogenes Organ. Zum einen ist es ein Temperaturregulierungsorgan, dessen Physiologie empfindlich auf Druck und Hitze reagiert. Zum anderen erfüllt es eine wichtige Funktion als Speicherorgan für z.B. Fett und Wasser.

Zunächst ist eine Versuchsanordnung gesucht, die keinen oder einen minimalen Einfluss auf die Physiologie der Haut hat und weitere technische Probleme berücksichtigt, die mit dem Menschen einhergehen. So ist der Körper eine Antenne für elektromagnetische Strahlung. In diesem Fall sind Hochfrequenz (HF) Störeinflüsse von 15 bis 25 MHz von besonderem Interesse, welche in der Messung beseitigt werden müssen. Die Optimierung des Messablaufs der NMR-MOUSE in

Bezug auf Messdauer, Kontrast und Auflösung bildet den Schluss der Vorbereitungen.

Hier wird die Studie „Schichtdickenmessung in der Haut mit NMR-MOUSE“ (SHN) vorgestellt, die an gesunden Probanden durchgeführt wird. Das Ziel der Studie ist, durch die Messung mit der NMR-MOUSE eine morphologische Aussage über die Schichten treffen zu können, diese zu quantifizieren und voneinander zu differenzieren, sowie die Reproduzierbarkeit der Messung zu überprüfen. Zudem soll die Hypothese untersucht werden, dass experimentell induzierte Wassereinlagerungen in der Haut gegenüber dem Normalzustand mit der NMR-MOUSE gemessen werden können.
Ebenfalls sollen Messungen zur Relaxometrie in zwei ausgewählten Schichttiefen, die zu unterschiedlichen morphologischen Schichten gehören an denselben Probanden durchgeführt werden. Das Ziel ist hierbei, eine charakteristische Relaxationsverteilung der Schichten zu extrahieren und damit einen Rückschluss auf die stoffliche Information zu erhalten. Dies könnte insbesondere Änderungen im Verhältnis von Wasser- und Fettgehalt anzeigen.

Die Studie wird im Rahmen des virtuellen Institutes „Portable NMR“ der Helmholtz-Gemeinschaft durchgeführt und dient der Prüfung, ob es sinnvoll ist die NMR-MOUSE als Medizinprodukt zu qualifizieren. Das Gerät besitzt folglich noch keine CE-Kennung als Medizinprodukt. Das DLR ist qualifiziert für die Herstellung von Medizingeräten und stellt durch geeignete Maßnahmen die gefahrfreie Anwendung des Gerätes am Menschen sicher.
Des Weiteren dient die Arbeit zur Erstellung eines Nutzerhandbuches und zur Vorbereitung für eine klinische Studie an Dialysepatienten, die einen sinnvollen Einsatz der NMR-MOUSE in der Medizin belegen soll.

4 Material und Methoden

Mit der NMR-MOUSE werden nicht invasiv die Änderungen der Dicke und die Signalstärkenänderungen in einzelnen Schichten der Haut als Folge von

herbeigeführten Veränderungen des Flüssigkeitvolumens gemessen. Dabei wird die Haut von gesunden Probanden an der Innenseite des Unterarms zum Vergleich sowohl im nativen Zustand als auch während eines venösen Blutstaus gemessen.
Weiterhin wird dieselbe Hautstelle einer Relaxationszeit Messung unterzogen und die native Haut mit der Zustandsänderung durch eine durchblutungsfördernde Salbe verglichen.

4.1 Probanden

An der Hautprofilmessung haben teilgenommen zehn gesunde männliche Probanden im Alter von 23 bis 57 Jahren (Mittelwert: 34; Standardabweichung: 13,2) mit einem Body Mass Index (BMI) zwischen 20,81 und 30,75 (Mittelwert: 24,2; Standardabweichung: 2,75).
An den Messungen der Relaxationsverteilung haben fünf gesunde männliche Probanden teilgenommen, diese haben ein Alter zwischen 24 bis 57 Jahren (Mittelwert: 35,2 Standardabweichung: 14,1) mit einem Body Mass Index (BMI) zwischen 21,9 und 29,6 (Mittelwert: 24,7; Standardabweichung: 3,1).

Folgende Ausschlusskriterien wurden definiert:

- Störung der Blutgerinnung
- Thrombose in der Anamnese
- Herzschrittmacher
- metallisches Implantat in der untersuchten Extremität
- Teilnahme an einer anderen klinischen Studie innerhalb der letzten 30 Tage vor Beginn dieser Untersuchung
- Keine schriftlich vorliegende Einverständniserklärung vor Beginn der Studie
- Jeder andere Zustand, der nach Ansicht des Prüfers den Probanden für die Aufnahme in die Studie als ungeeignet erscheinen lässt

4.2 Parameterwahl der NMR-MOUSE Profilmessung

4.2.1Anforderungen an die Parameter

Mit den Vorversuchen muss ein geeigneter Kompromiss zwischen der Messdauer und der Qualität der Datenakquisition gefunden werden. Die Messdauer muss so

angepasst werden, dass sie dem Probanden zumutbar ist. Insbesondere auf Grund des venösen Staus am Unterarm muss dies medizinisch unbedenklich bleiben.

Folgende Parameter können bezüglich der geforderten Messung optimiert werden:

- Echozeit (ET) und Anzahl der Echos im CPMG Echozug
- Recycle Delay (RD) (Verzögerungszeit zum Aufbau entlang der B_0 Magnetisierung)
- Anzahl der Scans
- Liftschrittlänge, Anfangs- und Endposition des Liftes
- Schichtdicke, HF-Puls Frequenz, HF-Puls Sende- und Akquisitionszeit, Phasenkorrektur des Empfangsignals
- Empfangsverstärkung (receiver gain)
- „noise level“ zur Messung des Störuntergrundes

Die geforderte Messung basiert auf dem Zerfall der Quermagnetisierung nach der Relaxationszeit T_2 und dient zur Bestimmung der Signalintensität. Hierfür wird das Signal durch die CPMG Sequenz erfasst. Die Signalintensität bestimmt sich aus dem Integral des Signals. Sie ist ein Maß für die T_2 Zeit (je länger die T_2 Zeit, desto größer das Integral) und die Protonendichte.
Für die Normierung der Signalintensität wird eine Wichtungsfunktion benutzt. Durch diese wird die Signalintensität annähernd unabhängig von der Protonendichte, so dass diese nur noch von der T_2 Zeit abhängt, welche wiederum gewebeabhängig ist.

$$w(i_i, i_f, j_i, j_f, t_E) = \frac{i_i - i_f}{j_i - j_f} \sum_{j=j_i}^{j_f} S(jt_E) / \sum_{i=i_i}^{i_f} S(it_E) \qquad (4.1)$$

Die Wichtungsfunktion w benutzt den initialen Integrationsbereich des Signals $S(it_E)$ von i_i bis i_f, um den folgenden Teil (von j_i bis j_f) des Signals $S(jt_E)$ zu normieren (Blümich *et al.*, 2005).

Die maximale Signallänge ergibt sich aus dem Produkt der Echozeit und der Anzahl der Echos. Für die resultierende Messdauer einer Schicht wird, zusätzlich zur Signallänge, die Dauer der Pulslänge des HF Pulses und die Akquisitionszeit summiert. Um die Messzeit zu verkürzen, wird nicht das Signal bis zum kompletten Nullabfall der Quermagnetisierung akquiriert, sondern bis etwa zu 1/3 bis 1/2 der initialen Signalintensität. Dieser Zeitpunkt muss also angepasst werden.

Bei der Variation der Echozeit und der Anzahl der Echos, muss für einen direkten Vergleich das Produkt beider konstant bleiben, um die Messdauer des Signals gleich zu lassen.

Das Empfangsignal besteht aus einem imaginären und realen Teil. Die Phasenkorrektur dient dazu, das Intensitätsverhältnis zwischen diesen Teilen des Signals auf 1 zu 10 zu bringen, welches nach Angaben von Bruker Minispec bereits akzeptabel ist.
Die HF-Puls Frequenz ergibt sich aus einem Sende- und Reflektionstest. Dabei werden HF Pulse vom Bruker Spektrometer an den Schwingkreis gesendet. Die Reflektion der gesendeten Leistung wird von dem Schwingkreis detektiert. Bei einer minimalen Reflektion ergibt sich ein optimales Tuning. Nach Bruker sind bereits unter 10% Reflektion akzeptabel.

Der Recycle Delay ist die Zeitverzögerung zwischen zwei nacheinander folgenden Messungen derselben Schicht, um eine Magnetisierung der ^1H Kerne entlang der B_0 Richtung wiederherzustellen. Es gilt einen geeigneten Kompromiss aus Messdauer und Signalintensität zu finden. Der Recycle Delay wird aus der T_1 Relaxationszeit bestimmt, da immer $T_1 \geq T_2$ gilt. Dies ist wichtig um eine T1 Wichtung zu vermeiden.
Die Wahl eines geeigneten Recycle Delay kann einen T_1 gewichteten Kontrast erzeugen, wenn die zu untersuchenden Schichten sich in der T_1 Zeit unterscheiden.
Wird der Recycle Delay einer Schicht T_1 Zeit angepasst, kann es zur Signalsättigung in anderen Schichten kommen. Dadurch wird die Intensität dieser Schichten geringer.

Die Schichtdicke wurde auf 50 µm eingestellt, welche die kleinste mögliche Wahl ist, um die höchste Auflösung zu erzielen. Eine Verbesserung der Auflösung führt gleichzeitig zu einer Verschlechterung der Sensitivität. Die Schrittweite wurde an die Auflösung angepasst, das bedeutet, dass die gemessenen Schichten aneinander angrenzen. Die resultierende Auflösung beträgt 50 µm.
Der vom Magneten vorgegebene maximale Messabstand von 5800 µm kann durch die Spacer reduziert werden, die den Abstand der Sende- und Empfangsspule von dem Permanentmagneten variieren (s. Abb.2). Wird dieser Abstand verkleinert, nimmt zugleich der Abstand des Sensors zum sensitiven Bereich zu, der aus dem Magnetfeldgradienten und der Anregungsfrequenz definiert wird. Damit sinkt die

Sensitivität des Sensors und die Wirkung der HF Spule, aber die maximale Eindringtiefe nimmt zu. Aus diesem Grund wurde der Spacer, der eine Dicke von 2000 µm hat, entfernt, so dass die maximale Eindringtiefe von 3800 µm auf 5800 µm stieg.

Letztlich bestimmt die Anzahl der Schichten die Gesamtdauer einer Profilmessung. Daher wurden sinnvolle Grenzen für die Messung bestimmt. Der Startpunkt liegt bei 5500 µm (um zu vermeiden, dass der Sensor gegen die Plexiglasabschirmung stößt) und der Endpunkt bei 200 µm (vorher ist kein Signal zu messen). Insgesamt werden 106 Schichten aufgenommen.

Vor jeder Messung wird die Höhe des Störuntergrunds („noise level“) bestimmt. Zunächst wird hierfür der von den Geräten hervorgerufene Rauschpegel durch das Script „noise level“ ohne Objekt gemessen. Der genormte RMS (Root Mean Square) des Störuntergrunds wird herausgegeben (1,0-1,3). Wird eine Probe (das folgende gilt vor allem für lebende Objekte, die im Sinne einer Antenne HF Signale auffangen) in den sensitiven Bereich der NMR-MOUSE gebracht, sollte der RMS nur auf Werte zwischen 1 und 2 steigen, damit der gesamte Rauschpegel eine sinnvolle Erfassung des Messsignals zulässt. Die Position des Liftes sollte bei der aktiven Messung des Störuntergrunds so gewählt sein, dass der sensitive Bereich der NMR-MOUSE sicher im zu untersuchenden Gewebe liegt.
Um der HF Störung, die der Mensch empfängt, entgegenzuwirken, wird ein offenes geerdetes Kupferkabel, das als Antenne mit dem NMR-MOUSE Gestell und der Masse des HF-Schwingkreises verbunden ist, am Arm des Probanden angebracht. Diese Vorgehensweise führt zu einem „noise level“ von 1 bis 1,1.

4.2.2 Begründung der Parameterwahl der NMR-MOUSE Hautprofilmessung

Die Integrationsgrenzen der Wichtungsfunktion i und j wurden so gewählt, dass ein Verhältnis von 1 zu 3 entsteht. Dies entspricht dem empfohlenen Erfahrungswert des Instituts für Makromolekulare Chemie der RWTH Aachen. Verglichen mit der nicht normierten Signalintensität ist die normierte Signalintensität stärker rauschbehaftet und hat daher einen schlechteren Wert der SNR (Signal to Noise Ratio). Dieser Umstand führt dazu, dass für die Studie die nicht normierten Signalintensitäten herangezogen wurden.

Die Phasenkorrektur zur Optimierung des Verhältnisses zwischen dem imaginären und realen Teil des Signals wird mit einem Detektionswinkel von 345° erreicht.
Ein optimales Tuning des Schwingkreises wird bei 19,35 MHz erreicht.

Die Zeitdauer des Recycle Delay wird mit 125% der höchsten T_1 Zeit gewählt. Dafür muss die Wiederherstellung der Magnetisierung in Schichten aus unterschiedlichen Bereichen gemessen und durch einen Fit die T_1 Zeit bestimmt werden.

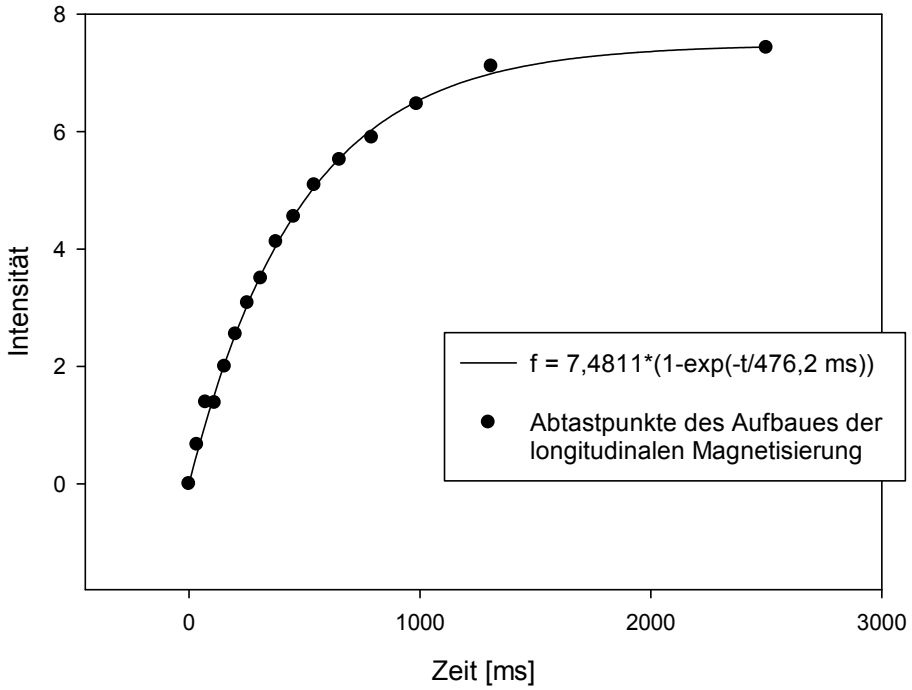

Abbildung 8: Bestimmung der T_1 Relaxation der ^1H Spins in einer Hautschicht 5 mm unter der Hautoberfläche. T_1 beträgt hier: 476 ms

Die nachfolgende Tabelle zeigt T_1 Zeiten von zwei Probanden in unterschiedlichen morphologischen Schichten.

Tabelle 1: T_1 Zeit Messung in zwei Probanden bei drei Hauttiefen

Tiefe	1000µm	2500µm	5000µm
ms	357	172	286
Tiefe	1000µm	2500µm	5000µm
ms	357	179	476

Die längste gemessene T_1 Zeit beträgt 476,2 ms, daraus ergibt sich mit dem Faktor 1,25 eine Zeit für den Recycle Delay von 595,24 ms. Nach Angaben und Erfahrungsberichten des Instituts für Makromolekulare Chemie der RWTH Aachen sind Werte für den Recycle Delay von 600 ms bei Hautmessung sinnvoll.

Zur Überprüfung wurden einige vereinzelte T_2 Zeiten in unterschiedlichen Schichten gemessen. Diese liegen deutlich unter der T_1 Zeit.

Die verwendeten Messparameterfür die Hautprofilmessungen sind:

recycle delay: 0.6 s
scans: 8
frequency: 19.35 MHz
receiver gain: 105 dB
rf pulses: 5.5 us (9/2 dB)
echo time(TE): 0.0645 ms
acquisition time: 0.021 ms
number of echoes: 500
Nominal resolution: 50
Spacer: 0
Initial depth: 5500
Final depth: 200
Step size: -50
W function integration limits: [167,500]/[1,167]

4.3 Versuchsaufbau der NMR-MOUSE Messungen

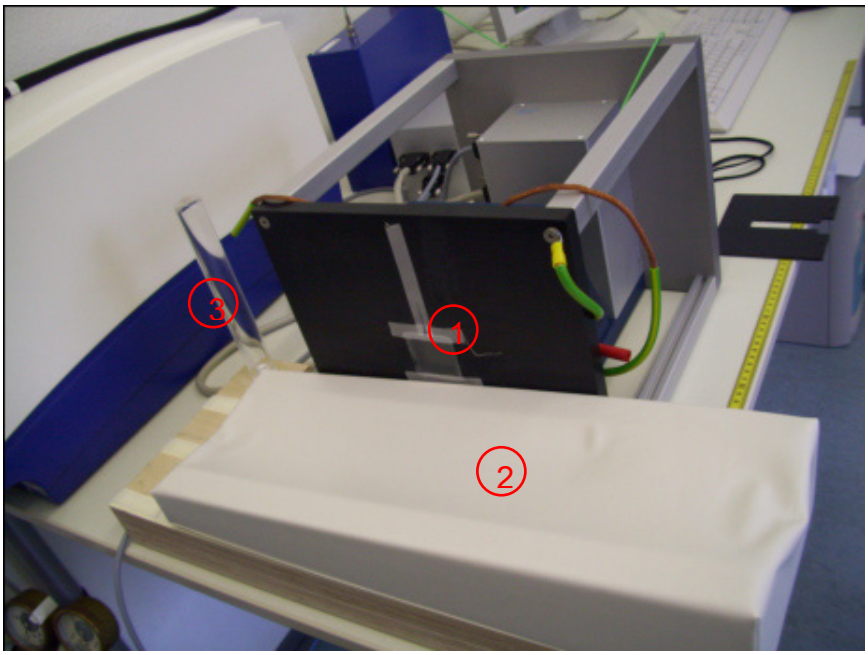

Abbildung 9: NMR-MOUSE (1) mit Armstütze (2) und Haltegriff (3)

In der Studie wird die NMR-MOUSE um 90° gegenüber der Normalposition gekippt, um den Probanden zu ermöglichen, den Arm bequem zu legen und vor allem, so dass der Arm ohne Druck durch das Eigengewicht an den sensitiven Bereich der NMR-MOUSE liegt. Die Haut wird an der Innenseite des Unterarms vermessen.
Neben der NMR-MOUSE liegt die Armstütze mit Haltegriff. Das Armkissen ist ein herkömmliches Blutabnahmekissen, welches mit Klettklebestreifen versehen ist, um durch seine keilförmige Form die geeignete Höhe für den jeweiligen Probanden zu finden. Um einem möglichen Verrutschen des Arms entgegenzuwirken, sind an der Armstütze und an der NMR-MOUSE Gumminoppen angebracht.

Der venöse Stau wird über eine Blutdruckmanschette erzeugt und durch ein Druckregelsystem, das mit einer Luftdruckflasche gespeist wird, geregelt. Der Druck wird in weniger als 2 s aufgebaut und danach konstant gehalten. Das schnelle Aufpumpen durch Druckluft erweist sich allgemein als verträglicher, als ein langsamer Druckaufbau durch manuelles Pumpen.

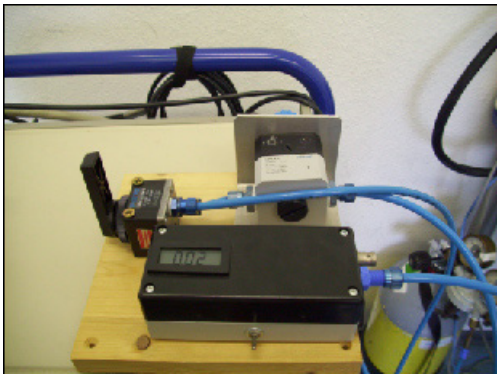

Abbildung 10: Druckregelung für den venösen Stau

Die Raumtemperatur wurde durch eine Klimaanlage zentral auf 21,5 °C +/- 1 °C geregelt.

4.4 Versuchsablauf der Hautprofilmessung mit der NMR-MOUSE

Der linke Arm des Probanden, welcher bei allen Probanden untersucht wurde, wird vor Beginn der Messung am Oberarm mit der Blutdruckmanschette versehen, wie bei der medizinischen Blutdruckmessung. Dies ist notwendig, um eine Umpositionierung des Arms zwischen den Messungen zu vermeiden. Es folgt der „noise ratio“ Test mit der Kupfererdung. Wenn dieser zufriedenstellend ist, wird die Kupfererdung mit

Leukosilk befestigt. Der Arm wird dann so positioniert, dass der Proband ihn für die erforderliche Zeit unbewegt halten kann und dass kein Druck auf die zu untersuchende Stelle ausgeübt wird. Über die komplette Messung hin soll der Arm unbewegt bleiben.

Der Versuchsablauf ist unterteilt in eine erste NMR-Messung im natürlichen Zustand und einer zweiten Messung während einer venösen Okklusion, die 5 min vor der NMR-Messung aufgebaut wurde.
Der Vorgang der ersten Messung dauert ca. 14 min. Anschließend wird eine venöse Okklusion durch Anlegen von 85 mBar (64,6 mmHg) bis 90 mBar (68,4 mmHg) an der Manschette erzeugt. Dabei schwillt der Arm an, da es zu einem stark verminderten oder unterbrochenen Abfluss des Blutes über die Venen kommt. Nach etwa fünf Minuten bleibt das Blutvolumen konstant. Ebenfalls ist zu dieser Zeit der steady state der totalen Hämoglobinmenge erreicht, welcher in den Testläufen mit einem NIRS (Near Infrared Spectroscopy) gemessen wurde (Heuser, 2008). (Zum Vergleich: Die Venenverschlussplethysmographie am Arm verwendet einen Druck von etwa 60 mmHg (Schmidt & Thews, 1995)).

Durch den venösen Stau kommt es zu keiner Unterbrechung des arteriellen Blutzuflusses, jedoch kann es zu einer Blauverfärbung des Unterarmes führen. In den ersten Minuten während des venösen Staus können Sensibilitätsstörungen wie Kribbeln oder Gefühlsverlust auftreten. Falls der Stau als sehr schmerzhaft und unangenehm empfunden werden sollte, wird der Versuch abgebrochen.
Es ist sichergestellt, dass der „Mittlere Arterielle Druck“ nicht überschritten wird, so dass der arterielle Zufluss nicht unterbrochen wird. Der Mittlere Arterielle Druck (MAD) berechnet sich wie folgt:
MAD = Diastolischer Wert + 1/3 * (Systolischer Wert – Diastolischer Wert)
Normale Werte liegen etwa bei 120 zu 80 mmHg mit natürlichen Schwankungen.

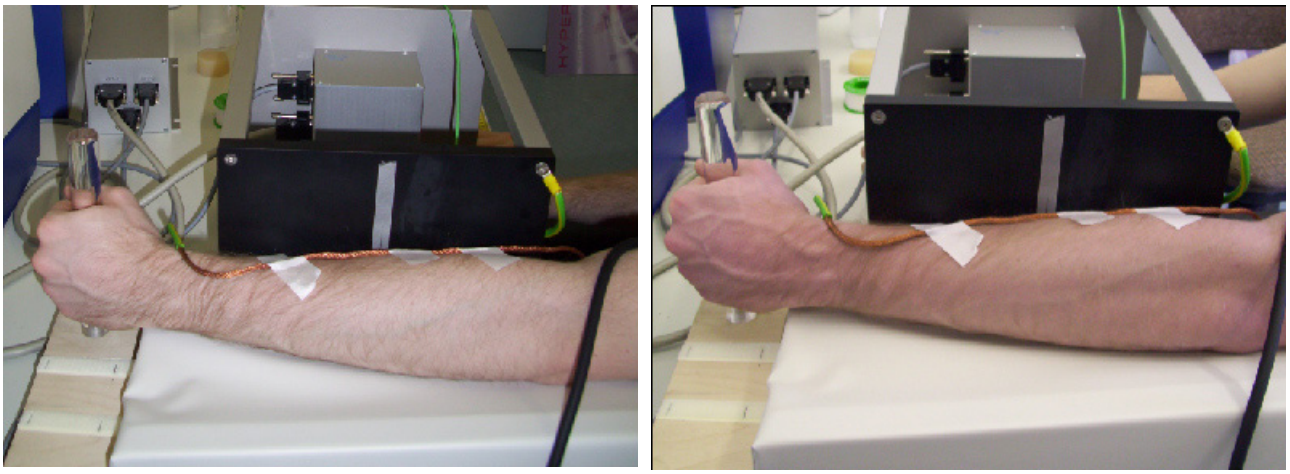

Abbildung 11: NMR-MOUSE Messung mit befestigtem HF Schirmungskabel:
links: normaler Zustand rechts: venöse Okklusion

Nach einer Wartezeit von fünf Minuten wird die zweite Messung gestartet. Unmittelbar nach Ende der Messung wird der Stau gelöst und der Proband aufgefordert, den Arm hoch zu halten und im Sinne der Muskelpumpe zu bewegen, damit das gestaute Blut wieder abfließen kann.

Um die Reproduzierbarkeit zu prüfen, wurde die Messung mit mindestens einem Tag Abstand an jedem Probanden insgesamt fünfmal durchgeführt. Die Messstelle definiert sich aus der Entfernung zwischen dem sensitiven Bereich der NMR-MOUSE und dem Haltegriff der Armablage. Die Gesamtdauer einer Messung inkl. Vorbereitung beläuft sich auf ca. 40 min. Die Messungen wurden immer in der Zeit von 11 bis 16 Uhr im gleichen Raum durchgeführt.

4.5 Erkennung und Vermessung der Dicken von Dermis und Subkutis anhand der NMR-MOUSE Profile

Bei der Datenauswertung ergibt sich die Problematik die Dicken der Dermis und der Subkutis anhand feststehender Erkennungspunkte objektiv zu erhalten. Eine manuelle und damit subjektive Auswertung ist zu vermeiden, daher ist eine Automatisierung erwünscht, um eine maximale Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit innerhalb und zwischen den Probanden zu erreichen.

Folgendes Verfahren wurde verwendet:

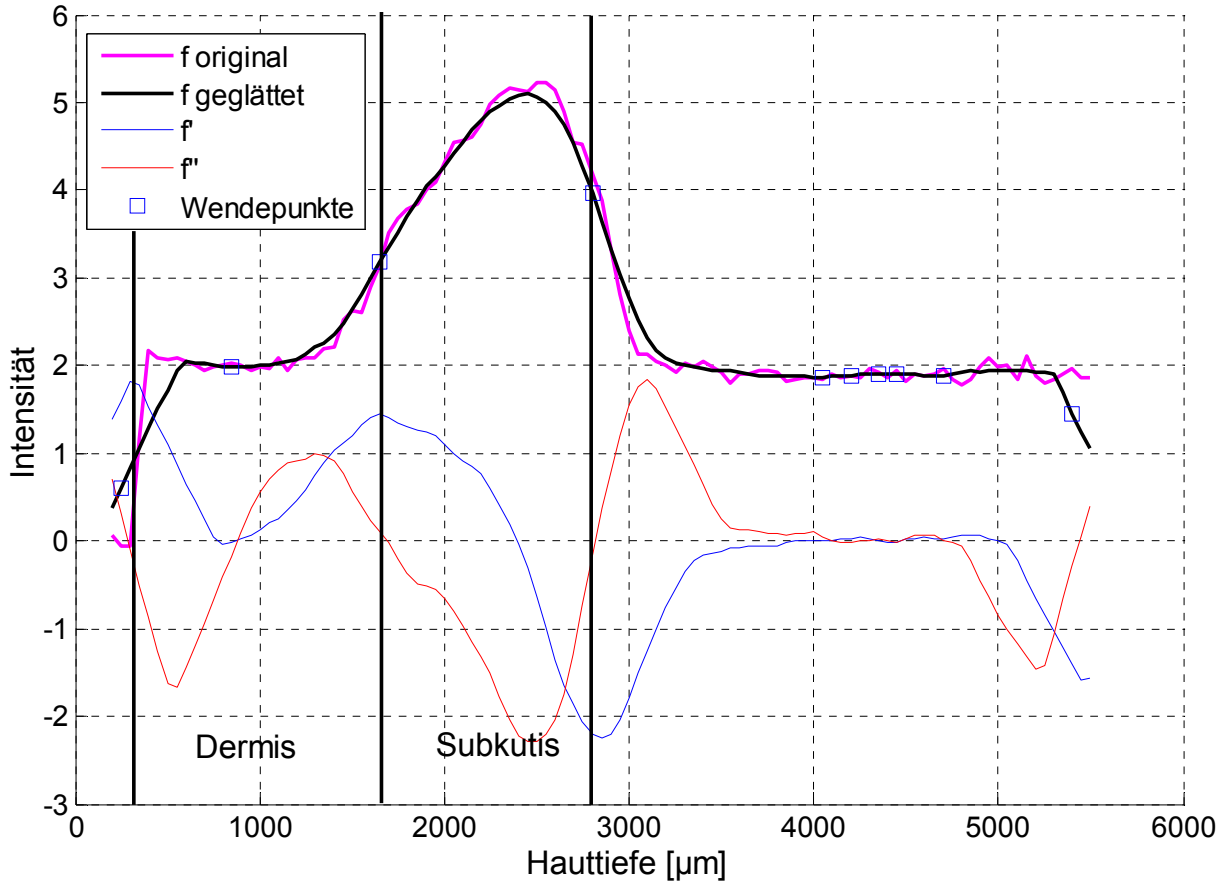

Abbildung 12: Identifikation und Vermessung der anatomischen Hautschichten anhand eines NMR-MOUSE-Profils:
Die Dicke der Dermis (incl. Epidermis) wird als Differenz zwischen dem ersten initialen Messwert, der nicht wieder abfällt und dem ersten Wendepunkt in der Steigung nach dem Plateau definiert. Die Subkutis wird als Differenz zwischen dem Ende der Dermis und dem Wendepunkt in der Senkung definiert:
originale Messwerte (magenta), geglättete Messwertreihe (schwarz), erste Ableitung (blau), zweite Ableitung (rot), Wendepunkte der originalen Messwerte (Blaue Kästchen)

Die originalen Messwerte (im Bild magenta) werden zunächst mit einer Faltung geglättet. Dies wird mit einer Faltungsfunktion, die einen gleitenden Mittelwert nachbildet, bewerkstelligt. Bei der Faltung wird das ursprüngliche Signal mit dem konstruiertem Mittelwert vermischt. Dieser besteht aus einem Vektor mit 9 Zahlen mit der Summe 1 ohne Gewichtung (also 1/9):

$$g'(x) = (g * h)\ (x) = \int_{-\infty}^{+\infty} h(x')\ g(x - x')\ d^W x' \qquad (4.1)$$

mit:

h(x): Faltungsmaske

g´(x): resultierende Funktion

Eine Faltung von g(x) mit h(x) ergibt eine neue Funktion g´(x), die in einer (eventuell gewichteten) Umgebung von x definiert verändert wird (Jähne, 2005).

Die Faltung führt einen Vorlauf und Anhang an Nullwerten mit sich, die von der Kurve abgeschnitten werden, um die ursprüngliche Länge der Kurve zu erhalten.
Die resultierende Kurve (im Bild schwarz) wird benutzt, um die Wendepunkte zu bestimmen. Bei der ursprünglichen Messwertkurve ist dies nicht sinnvoll, da diese rauschbehaftet ist. Das notwendige Kriterium besteht in einem Nulldurchgang der zweiten Ableitung (im Bild rot), das hinreichende Kriterium im Vorzeichenwechsel.
Die Ableitungen werden aus infinitesimalen Differenzen gebildet. Die ermittelten Wendepunkte werden dann automatisch ausgegeben und im Plot markiert. Ableitungen haben den Nebeneffekt, dass sie das Rauschen um ein vielfaches verstärken, daher werden diese ebenfalls mit der oben erwähnten Faltungsfunktion geglättet. Hier entsteht ebenfalls ein Vorlauf und Anhang mit Nullwerten, der beschnitten wird. Dieses Verfahren wird bei allen Messreihen gleichermaßen verwendet.
Da die Epidermis nicht differenziert bestimmt werden kann, wird sie als Teil der Dermis angesehen. Die Dicke der Dermis wird als Differenz zwischen dem ersten initialen Messwert, der nicht wieder abfällt und dem ersten Wendepunkt in der Steigung nach dem Plateau definiert. Die Subkutis wird als Differenz zwischen dem Ende der Dermis und dem Wendepunkt in der Senkung definiert.
(Anmerkung: Das Beschneiden, der gefalteten Kurven hat keinen Einfluss auf das Ergebnis, da die Dicke der Hautschichten, welche die Differenz zwischen zwei Punkten ist, gemessen wird und die exakte Lage des Wendepunkts keine Rolle spielt.)

4.6 Referenzmessung durch Ultraschall

Um einen Goldstandard als Referenz zur NMR-MOUSE Messung zu erhalten, wurde eine Ultraschalluntersuchung der Haut durchgeführt. Hierfür wurde das Ultraschallgerät „GE Healthcare, Logiq7/Logiq7 Pro“ mit einem 10 MHz B Mode Linear Schallkopf von einem Arzt der Fliegerärztlichen Untersuchungsstelle des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin verwendet. Es wurde eine benutzerdefinierte Einstellung verwendet. Diese sind im Einzelnen:

B-Mode
Gn 50 (Gain)
E/A 3/3
Skala A/O/O (A: hellen Reflektoren werden größere Graustufen Pixelwerte zugeordnet; O: S-förmige Gewebeunterschiede werden für ein Signalband hervorheben → stärkerer Kontrast)
D 2 cm (Depth)
DR 72 (Dynamic Range)
FR 32 Hz
AO 90%
Fokus 1 cm

Durchgeführt wurde ein randomisierter Versuch, um die Wiedererkennung des Probanden und ein mögliches Erinnern an den vorangegangenen Messwert auszuschließen. Jeder Proband wurde in zwei Messungsreihen dreimal vermessen. Die Dauer einer Messungsreihe betrug etwa fünf Minuten.

Damit bei der Ultraschallmessung kein Druck vom Schallkopf auf die Haut ausgeübt wurde, wurde viel Gel verwendet. Der Arzt hatte besonders auf die Winkelstellung des Ultraschallkopfes zu achten, um winkelbedingte Laufzeitenfehler minimal zu halten. Das Ultraschallgel, welches einen höheren Wärmeleitungskoeffizienten hat als Luft, wurde zuvor im Wasserbad auf etwa 30 °C erwärmt, damit es etwa die Temperatur der Haut hat und sich die Durchblutung der Haut nicht durch Abkühlung vermindert.

Die Anfangstemperatur im Untersuchungsraum betrug 24,5°C, nach einer Stunde stieg die Temperatur auf 26,5°C in Folge der Erwärmung durch das Ultraschallgerät.

Des Weiteren wurde auf folgende Faktoren geachtet, die einen Einfluss auf die Physiologie der Haut oder auf die Messung haben könnten:

- Die Messungen wurden zwischen 14 und 16 Uhr durchgeführt.
- Derselbe Raum wurde verwendet.
- Derselbe Arzt unternahm alle Messungen.

- Ein Testlauf wurde unternommen.
- Die mit der NMR-MOUSE vermessene Stelle wurde für die Ultraschallmessungen zuvor markiert.

4.7 Vermessung der Hautschicht mithilfe von Ultraschall

Bei einer angenommenen mittleren Ultraschallgeschwindigkeit von 1540 m/s und einem Schallkopf mit 10 MHz ergibt sich eine maximale axiale Auflösung von:

$$\lambda = c / \nu = \frac{1540 \frac{\mathrm{m}}{\mathrm{s}}}{10\,\mathrm{MHz}} = 154\,\mu\mathrm{m} \qquad (4.2)$$

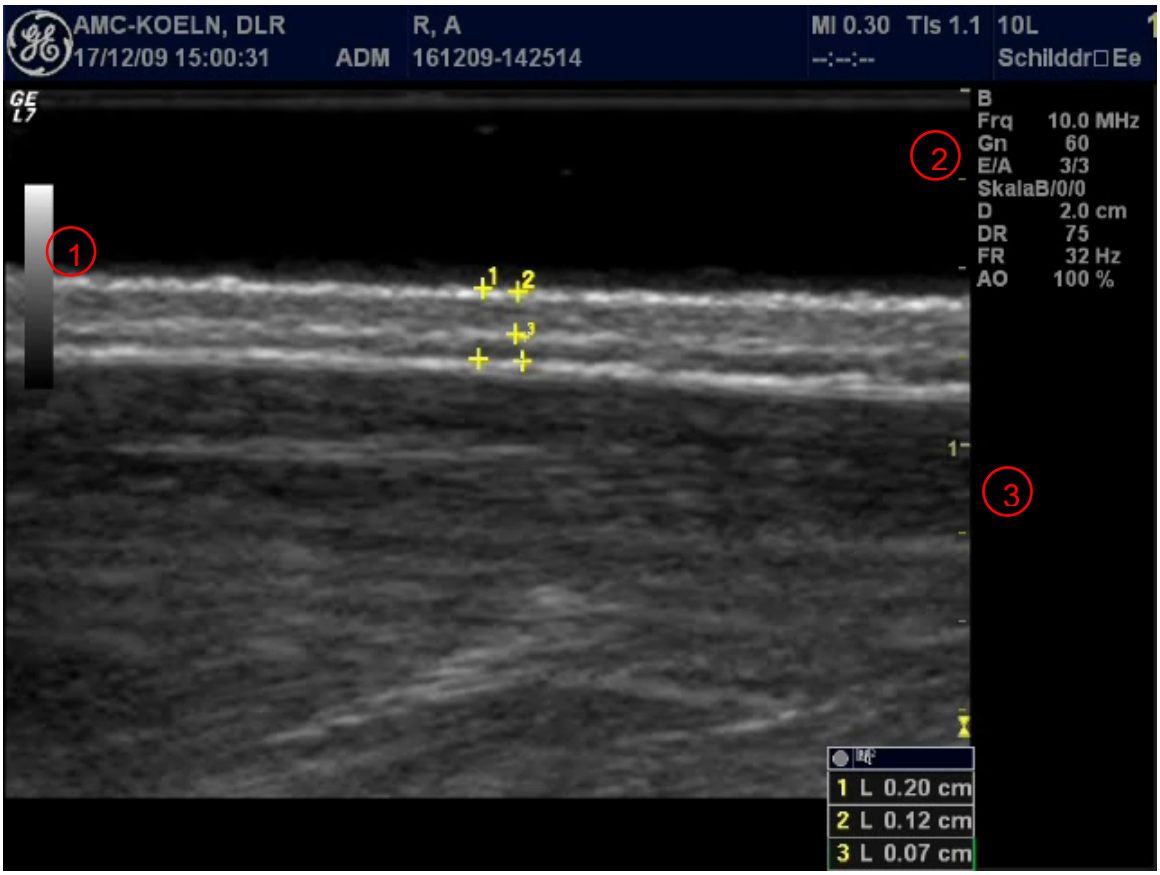

Abbildung 13: Ultraschallmessung der Hautschichtdicke mit: den Dickenangaben (in gelb: 1:Gesamtdicke, 2: Dermis, 3: Subkutis), der Echointensität (rot: 1), den Messparametern (rot: 2) und der Eindringtiefenlegende (rot: 3)

Die Schichttiefenmessungen wurden von „Edge to Edge“ markiert und vermessen. Das bedeutet, dass vom Anfang der ersten Grenzschicht bis zum Anfang der

folgenden neuen Grenzschicht markiert und vermessen wurde. Dies wurde jeweils für den Gesamtabstand (erstes Echo bis zur Faszie), der Dermis und für die Subkutis durchgeführt.

4.8 Messungen zur Bestimmung der T_2-Relaxationsverteilung

Im Vergleich zur Profilmessung wurden bei der T_2 Relaxometrie nur zwei Schichten vermessen, die jeweils der Subkutis und der Dermis zugeordnet werden können. Die Information für die eindeutige Zuordnung wurde aus der NMR-MOUSE Profilmessung und der Ultraschalluntersuchung entnommen. Der Proband musste weiterhin für die Dauer der Messung bewegungslos verharren, damit die Anregung in und das Signal aus der gleichbleibenden Schicht kommen. Für eine T_2 Messung wurde pro Schicht eine Dauer von bis zu 10 Minuten eingeplant.

Die zu ermittelnden Messparameter wurden auf eine hohe Signalsensitivität und Intensität hin optimiert. Den zeitaufwendigen Teil der Messung bilden die Anzahl der Scans, die Spanne der Signalabtastung und die Anzahl der Echos. Die Anzahl der Echos und die Signalabtastung bestimmen die maximale zeitliche Verfolgung des Zerfalls der transversalen Magnetisierung. Für die Signalsensitivität und die weitere Auswertung und Bearbeitung ist es wichtig, das Rauschen maximal zu eliminieren. Dabei wird mit Hilfe des Prinzips der Signalakkumulation (siehe Kapitel 2.2.2) ein besseres Signal-zu-Rausch-Verhältnis erreicht.

Folgende Parameter wurden zur T2 Relaxationsmessung verwendet:

recycle delay: 4 s
scans: 128
frequency: 19.35 MHz
receiver gain: 105 dB
rf pulses: 5.5 us (9/2 dB)
echo time(TE): 0.1 ms
acquisition time: 0.01 ms
number of echoes: 2000
Nominal resolution: 100
Spacer: 2000

Die hohe Scananzahl von 128 sorgt für ein gutes Signal-Rausch–Verhältnis. Um eine erhöhte Sensitivität zu erreichen, wurde eine Schichtdicke von 100 µm gewählt, ebenso wurde ein Platzhalter mit einer Dicke von 2000 µm verwendet, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern. Dieser wird zwischen dem Sensor und dem Permanentmagneten gebracht. Durch die geringere Entfernung des Sensors zur

sensitiven Schicht nimmt die Signalintensität im Vergleich zu einer höheren Entfernung zu. Eine Anzahl von 2000 Echos gewährleistet die Messung des Signalverlaufs bis 200 ms. Die Dauer der Messung beläuft sich auf etwa 9 Minuten.

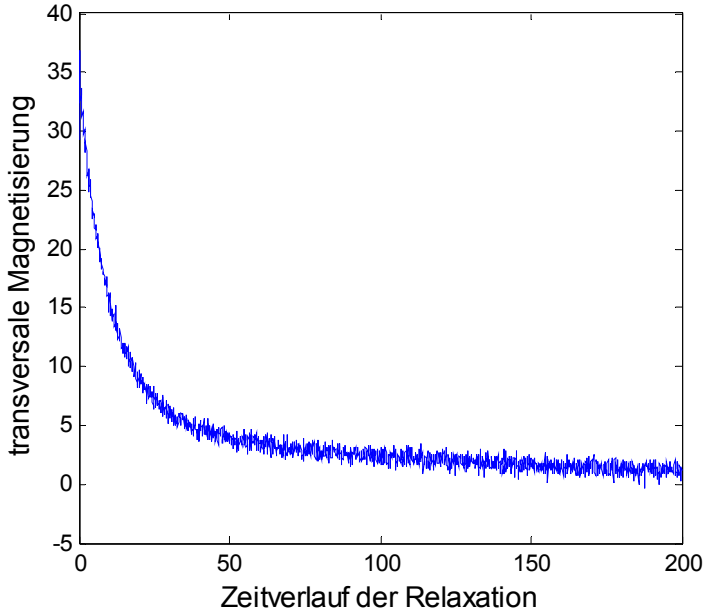

Abbildung 14: CPMG Echozug einer Schicht in der Dermis

Eine physiologische Änderung innerhalb der Haut wurde durch die durchblutungsfördernde Salbe „Finalgon“ herbeigeführt. Dazu wurde die Salbe auf die gemessene Hautpartie aufgebracht und nach einer Einwirkzeit von 5 Minuten wurden die T_2 Relaxationen wiederholt aufgenommen. Nach einer Wartezeit von insgesamt 60 Minuten nach Auftragen der Salbe, wurde die Hautstelle erneut vermessen. Das bedeutet insgesamt wurde je eine Schicht in der Dermis und Subkutis dreimal einer Messung unterzogen.
Hierbei sollte geprüft werden, ob potentielle Änderungen im Verhältnis von Wasser- und Fettgehalt in den verschiedenen Gewebeschichten gemessen werden können.
Um eine Information über die Reliabilität der T_2 Relaxometrie zu erhalten, wurde ein Proband wiederholt im normalen unveränderten Zustand vermessen. Es wurden fünf Wiederholungen der zwei Schichten aufgenommen, wobei die Messungen an unterschiedlichen Tagen in der Zeit zwischen 13 bis 15 Uhr stattfanden.

Um einen Vergleich zwischen den verschiedenen Messungen zu ermöglichen wurden die Daten auf Basis des größten Werts auf den Betrag „1“ normiert. Anschließend wurden sie über die fünf Probanden gemittelt und die

Standardabweichungen wurden ebenfalls über die normierten Daten gebildet. Das gleiche Verfahren wurde bei den Reproduktionsmessungen verwendet.

4.9 Analyse der T_2 Messungen zur Bestimmung der Relaxationsverteilung

Die Messung der Relaxationsverteilung kann nur als indirektes Messverfahren durchgeführt werden. Durch den CPMG Echozug wird der zeitliche Verlauf der T_2 Relaxation erfasst. Daraus ergibt sich das inverse mathematische Problem: $y_k = O_k x_k + \varepsilon_k \quad k = 1,...,N_y$ (Gl. 4.3) mit dem Operator: O_k, dem Messfehler oder Rauschen ε_k und der gesuchten Information x_k.

Die direkte Inversion von linearen Operator-Gleichungen (linear operator equation) sind generell schlecht definierte bzw. unterbestimmte Probleme und liefern zusätzlich durch Messfehler eine große Anzahl von Lösung. Daher müssen diese Inversionen reguliert werden (Provencher II, 1982).

Die regelungstechnische Betrachtungsweise aus Kapitel „2.2.3 Relaxations-verteilung, Hintergrund: Fourier- und Laplace Transformation“ führt zur Lösung durch die numerische inverse Laplace Transformation.

Nach (Schalla & Weiss, 1998) gibt es zwei Hauptideen für die numerische inverse Laplace Transformation: die Fourierreihenentwicklung und die numerische Integration in der komplexen Ebene, welche durch einen gewichteten kleinste-Quadrate-Schätzer (weighted least squares) ausgewertet werden. Nach (Koskela *et al*, 2004) ist die Auswertung des Integrals durch die weighted least squares Methode zur Standardmethode bei Relaxationsverteilungen geworden, wobei dort eine neue Methode zur inversen Laplace Transformation vorgeschlagen wird.

Ein vielfach anwendbarer Algorithmus wurde bereits 1982 von Provencher beschrieben und als Programm in der Computersprache Fortan implementiert.

Das Problem wird als gewichteter kleinste-Quadrate-Schätzer mit der Addition einer Quadratischen Gleichung, welcher als Regler dient, formuliert.

Der Operator O_k wird oft als linearer Integrationsoperator angenähert mit der bekannten Funktion $\mathrm{F}_k(\lambda)$ und dem gesuchten $\mathrm{s}(\lambda)$:

$$y_k = \int_a^b \mathrm{F}_k(\lambda)\ \mathrm{s}(\lambda)\,\mathrm{d}\lambda + \sum_{i=1}^{N_L} L_{ki}\beta_i + \varepsilon_k \qquad (4.4)$$

Der Lösungsschritt der Gl.4.3 besteht in der Umformung in ein lineares algebraisches Gleichungssystem:

$$y_k = \sum_{m=1}^{N_g} \mathrm{C_m F}_k(\lambda_\mathrm{m})\ \mathrm{s}(\lambda_\mathrm{m}) + \sum_{i=1}^{N_L} L_{ki}\beta_i + \varepsilon_k \qquad (4.5)$$

mit: Gewichtung $\mathrm{C_m}$ als Quadraturformel

was wiederum umgeschrieben werden kann zu:

$$y_k = \sum_{i=1}^{N_x} \mathrm{A_{kj} x}_j + \varepsilon_k \qquad (4.6)$$

mit: x_j : Lösungsvektor N*1 $\mathrm{s}(\lambda_\mathrm{m})$ und β_i

$\mathrm{A_{kj}}$: M*N Matrix mit $\mathrm{C_m F}_k(\lambda_\mathrm{m})$ und L_{ki}

Ein alternatives Lösungsverfahren innerhalb des Programms funktioniert über ein Repertoire an Basisfunktionen, die in die Gl.4.4 substituiert werden. Eine detaillierte Beschreibung ist bei (Provencher I, 1982) zu finden.
Die gewöhnlich least square Methode ist die Minimierung der folgenden Funktion:

$$V(0) = \left\| M_\varepsilon^{-1/2}(y - Ax) \right\|^2 \qquad \rightarrow \text{minimieren (4.7)}$$

mit: $M_\varepsilon^{-1/2}$ Kovarianzmatrix von ε

Die Reglung erfolgt durch Addition des gewichteten Terms:

$$V(0) = \left\| M_\varepsilon^{-1/2}(y - Ax) \right\|^2 + \alpha^2 \left\| r - Rx \right\|^2 \rightarrow \text{minimieren (4.8)}$$

mit: α Regelungsgewichtung

r und R sind Arrays, die benutzerdefiniert sind und Verhaltensvorhersagen beinhalten können, so dass Abweichungen von x stärker beachtet werden.

Die numerische Lösung erfolgt durch orthogonale Zerlegung (orthogonal decomposition) und unter Verwendung der quadratischen Programmierungs-Methode (quadratic programming) (Provencher I, 1982) Dieses Thema kann im Rahmen dieser Arbeit nur am Rande angeschnitten werden. Für weitere Vertiefung wird folgende Literatur empfohlen: „Numerical Optimization“, Nocedal, J., Wright, S.J., Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, 3. Auflage 1999.

Das verwendete Programm in MatLab (Copyright (c) 2009, Iari-Gabriel Marino) ist eine Emulation des Originals in Fortran. Die Rechenzeit des Programms ist proportional zur dritten Potenz der Anzahl der Parameter, die die Lösung ausmachen. Die Anzahl der Parameter ist dabei die Zahl der Exponenten der Exponentialfunktion die an das T2 Signal gefittet wird. Eine genaue Beschreibung des originalen Programms kann unter Provencher II, 1982 nachgelesen werden.

Zur Bestimmung der Relaxationsverteilung nach Provencher wurde der Lösungsbereich für die Relaxationszeit auf 1 bis 1000 ms festgelegt, welcher auf der x-Achse logarithmisch aufgetragen wurde, was bei Verteilungen üblich ist. Es wurden 30 Punkte, die auf der logarithmischen Skala äquidistant sind, zur Näherung der inversen Laplace Transformation verwendet, um einen Kompromiss aus Rechenzeit und Verteilungsauflösung zu finden. Die Berechnungszeit liegt pro CPMG Echozug zwischen zwei und sechs Minuten.

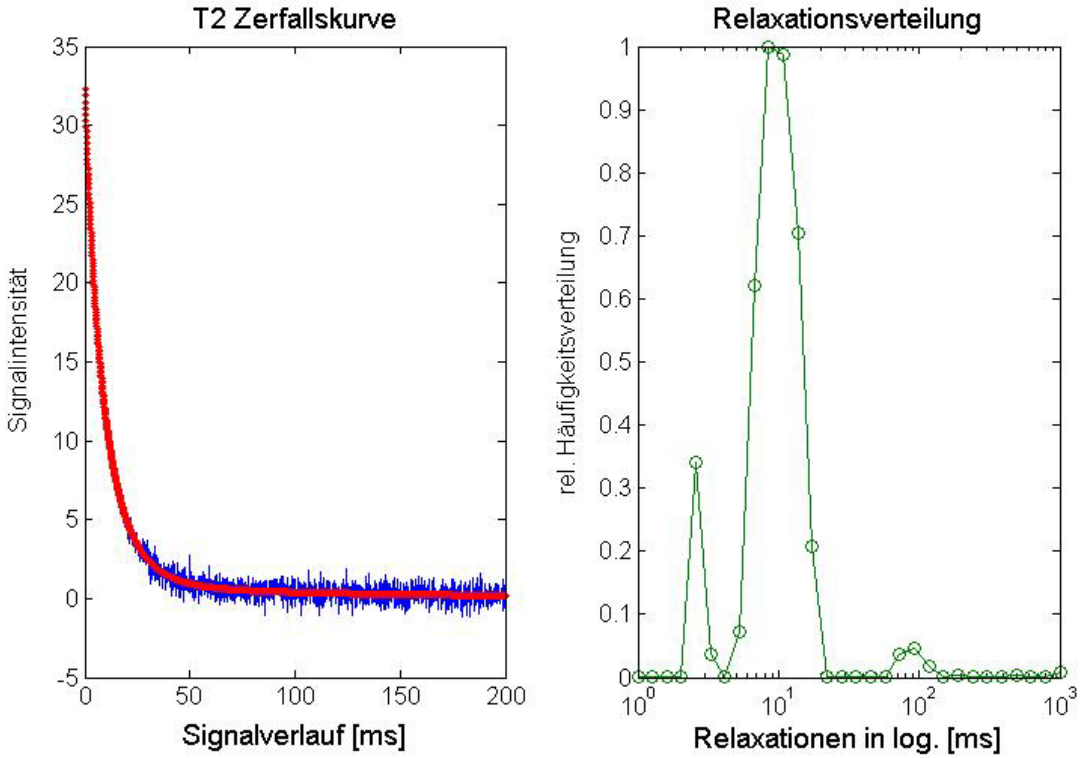

Abbildung 15: Darstellung der spin-Echos (blau) mit Fit-Kurve (rot) (links) und T_2 Relaxationsverteilung nach Provencher (rechts)

4.10 Statistische Auswertung der NMR-MOUSE Profile und T_2 Relaxationsverteilungen

Um eine Aussage über die Versuchsergebnisse und über die Reproduzierbarkeit der NMR-MOUSE Messungen treffen zu können, werden verschiedene Testverfahren in dem Programm SigmaPlot 11.0 angewandt.
Mit einem Test auf Unterschied soll herausgefunden werden, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den Schichtdicken im normalen und veränderten Zustand vorliegt. Es wird zunächst überprüft, ob die Werte normalverteilt sind. Liegt eine Normalverteilung vor, nachgewiesen durch den „Shapiro-Wilk Test“, so wird der „gepaarte T-Test“ verwendet. Andernfalls kommt der „Wilcoxon Test“ zum Einsatz, der auf der Rangbildung der Daten basiert. Es wird eine Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}05$ verwendet.

Die Varianzen der fünf Schichtdickenmessungen der Probanden sollen miteinander verglichen werden. Hierfür eignet sich die Varianzenanalyse. Bei Normalverteilung wird eine „One Way ANOVA“, ansonsten eine „Kruskal-Wallis One Way ANOVA on Ranks” verwendet. Das Signifikanzniveau beträgt $\alpha = 0{,}05$.

Die Messergebnisse der NMR-MOUSE und des Ultraschalls werden statistisch durch den gepaarten T-Test mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}05$ nach signifikanten Unterschieden hin analysiert.
Ferner werden sie deskriptiv mit Mitteln der Statistik im folgenden Kapitel dargestellt. Dazu gehören die Mittelwerte, die Standardabweichung und die Konfidenzintervalle.
Das Konfidenzintervall der Messwerte wird ermittelt, um ein statistisches Maß für die Reproduzierbarkeit der Messwerte und deren Streuung zu erhalten. Es wird eine 95 %-Konfidenzintervall um den Erwartungswert, welcher bei Stichproben wie dieser der Mittelwert ist, gewählt. Da die Standardabweichung unbekannt ist, wird diese durch die Stichprobenstandardabweichung geschätzt. Es besteht eine t-Verteilung mit n-1 Freiheitsgraden.

Zur Überprüfung des Einflusses durch Finalgon auf die T_2 Relaxationsverteilung werden charakteristische Punkte in der Verteilung (z.B. Peaks) durch den T-Test mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}05$ auf signifikante Änderungen untersucht.

Des Weitern wird die Reproduzierbarkeit der T_2 Relaxationsverteilung in der Dermis und Subkutis mit der Varianzenanalyse ANOVA überprüft.

5 Ergebnisse

5.1 Schichtdicken der Haut bestimmt mit der NMR-MOUSE

Die Variabilitäten der Einzelmessungen eines Probanden verglichen mit den Unterschieden zwischen den Probanden belaufen sich auf ähnliche Größen. Mitunter sind die intraindividuellen Unterschiede größer. Im Anhang sind die Schichtdicken der Dermis und Subkutis der einzelnen Messungen jedes Probanden tabellarisch dargestellt (Tabelle 8).

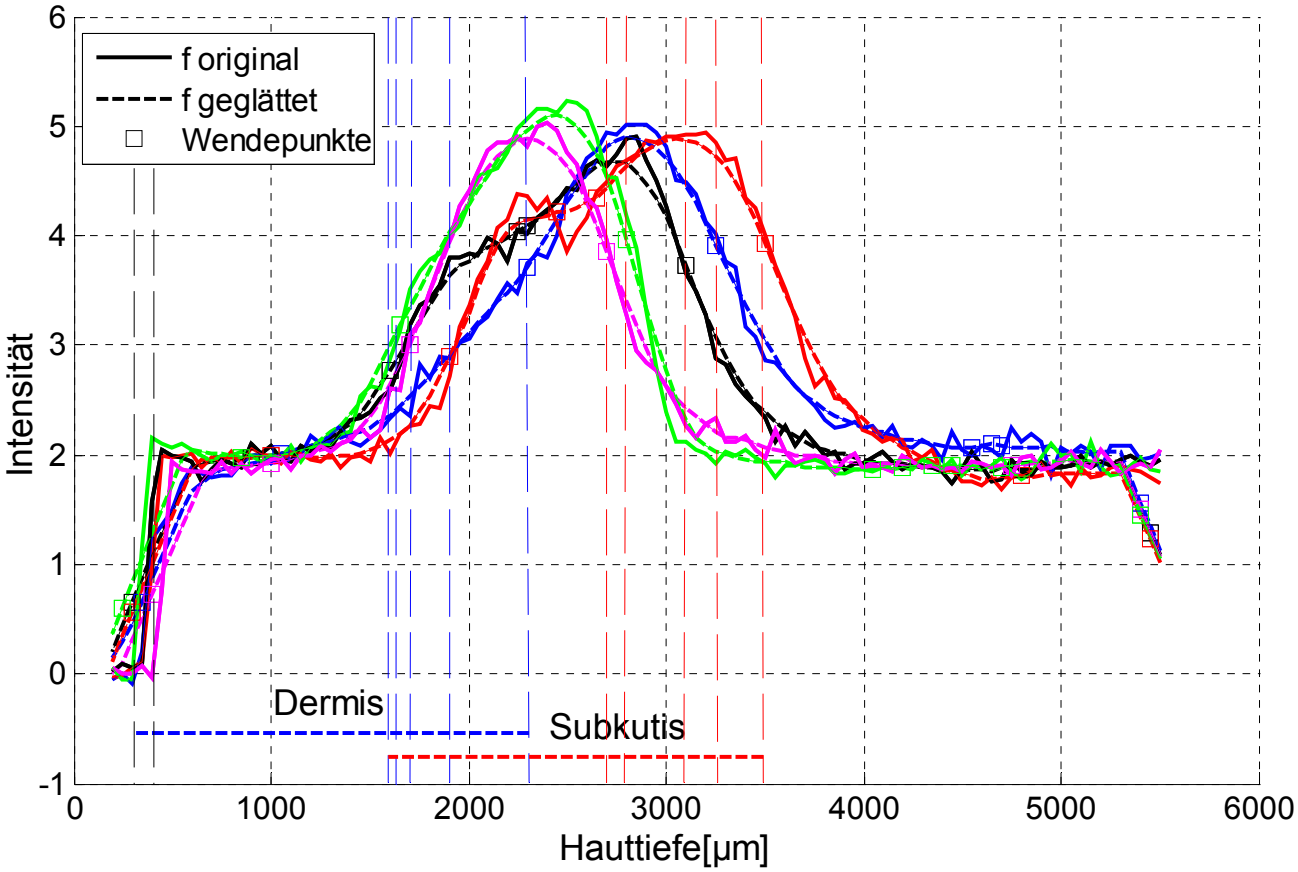

Abbildung 16: Auswertung der fünf Hautprofile eines Probanden zeigen die Variabilität der Hautschichten

Tabelle 2: Mittlere Dicke der Hautschichten +/-Standardabweichung über 5 Aufnahmen gemessen im normalen und Stauzustand mit der NMR-MOUSE [µm]. Die Gesamtdicke resultiert aus der Summe der beiden Schichten. *signifikante Unterschiede in den 5 Messungen der einzelnen Probanden zwischen normalen und Stauzustand.

	normal Zustand			Stau Zustand		
Proband Nr.	Dermis	Subkutis	Gesamtdicke	Dermis	Subkutis	Gesamtdicke
B	1500 ±286	1250 ±295	2700 ±333	1900 ±503	1600 ±646	3500 ±858
C	1150 ±160	3800 ±427	4950 ±526	1350 ±332	3650 ±466	5000 ±426
D	1200 ±141	1350 ±599	2550 ±725	1250 ±233	1550 ±728	2800 ±951
E	1250 ±172	1500 ±1345	2800 ±1320	1300 ±179	1300 ±737	2600 ±727
F	1300 ±71	800 ±114	2100 ±156	1350 ±55	800 ±91	2200 ±115
G	1250 ±222	2350 ±598	3650 ±592	1400 ±404	2100 ±1088	3500 ±1092
H	1500 ±230	1750 ±271	3250 ±42	1700 ±274	1600 ±425	3300 ±525
I	950 ±156	1850 ±89	2800 ±224	900 ±42	2000 ±216	2900 ±256
J	1150 ±239	1700 ±235	2850 ±329	1150 ±110	1850 ±299	2950 ±375
K	*1000 ±74	*1050 ±89	*2100 ±76	*1100 ±97	*1200 ±156	*2250 ±139
Mittelwert ±SD	1250 ±181	1750 ±846	2950 ±842	1350 ±294	1750 ±767	3100 ±810

Die Auflösung der NMR-MOUSE beträgt 50 µm daher werden die mittleren Hautschichtdicken auf 50 µm gerundet.

Die Standardabweichung des Mittelwertes über alle Probanden hat etwa die gleiche Größenordnung wie die Standardabweichungen der einzelnen Probanden.

Für das 95%-Konfidenzintervall der Messwerte gilt, dass dieses, wegen der hohen Abweichungen zwischen den Werten untereinander, zu eng ist, um die Messwerte zu erfassen. Der größte Teil der Messwerte (je nach Proband 3 bis 5) liegt außerhalb des 95%-Konfidenzintervalls. Dies gilt sowohl für die Dermis - als auch für die Subkutiswerte. Die Tabelle mit den Dicken der Hautschichten gemessen mit der NMR-MOUSE im nativen Zustand wird mit den Konfidenzintervallen für die Dermis und Subkutis im Anhang (siehe Tabelle 9) aufgeführt.

Nach dem „Shapiro-Wilk Test“ sind die Dicken der gemessenen Schichten normalverteilt. Eine Ausnahme bilden die Werte der Dermis bei Proband E. Bei den Probanden von B bis J deutet der Test auf Unterschied durch den gepaarten T-Test daraufhin, dass keine Signifikanz sowohl bei den Dermis- als auch bei den Subkutis-Messwerten vorliegt. Bei Proband K jedoch liegt ein signifikanter Unterschied in beiden Hautschichten zwischen dem normalen Zustand und der venösen Okklusion vor. Für den Proband E wurde auf Grund der fehlenden Normalverteilung zusätzlich

der „Wilcoxon Signed Rank Test“ durchgeführt, der den P-Wert P = 0,813 liefert und auf keine Signifikanz deutet.

Die Power Werte liegen bei den Dermis Tests zwischen 0,05 und 0,634, bei den Subkutis Tests zwischen 0,05 und 0,793.

Tabelle 3: Gepaarter T-Test zur Untersuchung signifikanter Änderung in der Schichtdicke zwischen normalen und stau Zustand

	Proband	B	C	D	E	F
Dermis	Normalver.	P = 0,246	P = 0,795	P = 0,272	P < 0,050	P = 0,135
	Signifikanz	P = 0,094	P = 0,185	P = 0,284	P = 0,442	P = 0,070
	Power	0,316	0,16	0,087	0,05	0,398
Subkutis	Normalver.	P = 0,378	P = 0,159	P = 0,613	P = 0,843	P = 0,314
	Signifikanz	P = 0,279	P = 0,460	P = 0,105	P = 0,804	P = 0,621
	Power	0,089	0,05	0,289	0,05	0,05

	Proband	G	H	I	J	K
Dermis	Normalver.	P = 0,489	P = 0,659	P = 0,103	P = 0,334	P = 0,314
	Signifikanz	P = 0,697	P = 0,292	P = 0,394	P = 1,000	P = 0,033
	Power	0,05	0,083	0,05	0,05	0,634
Subkutis	Normalver.	P = 0,892	P = 0,854	P = 0,269	P = 0,885	P = 0,492
	Signifikanz	P = 0,527	P = 0,687	P = 0,114	P = 0,390	P = 0,019
	Power	0,05	0,05	0,267	0,05	0,793

Beim Test der Gesamtpopulation der Schichtdicken der Dermis nach dem „Shapiro-Wilk Test“ liegt beim P-Wert mit P < 0,050 keine Normalverteilung vor. Der Test auf gleiche Varianzen wird mit P = 0,778 bestanden. In der Theorie ist die ANOVA robust, so dass die Daten analysiert wurden. Die „One Way ANOVA“ zeigt mit P = <0,001 einen Unterschied der Varianzen auf. Die Power beträgt 0,978.

Zum Vergleich wird die “Kruskal-Wallis One Way ANOVA on Ranks” herangezogen. Diese liefert das gleiche Ergebnis mit P = <0,001. Es liegt ein signifikanter Unterschied in den Varianzen zwischen den Gruppen vor.

Der Test der Gesamtpopulation der Schichtdicken der Subkutis führt zu einem P < 0,050 für die Normalverteilung und einem P = 0,456 für die Gleichheit der Varianzen. Beide ANOVA Tests zeigen mit P = <0,001 einen signifikanten Unterschied in den Varianzen zwischen den Gruppen auf. Die Power der ANOVA wird mit einem Wert von 1,0 angegeben.

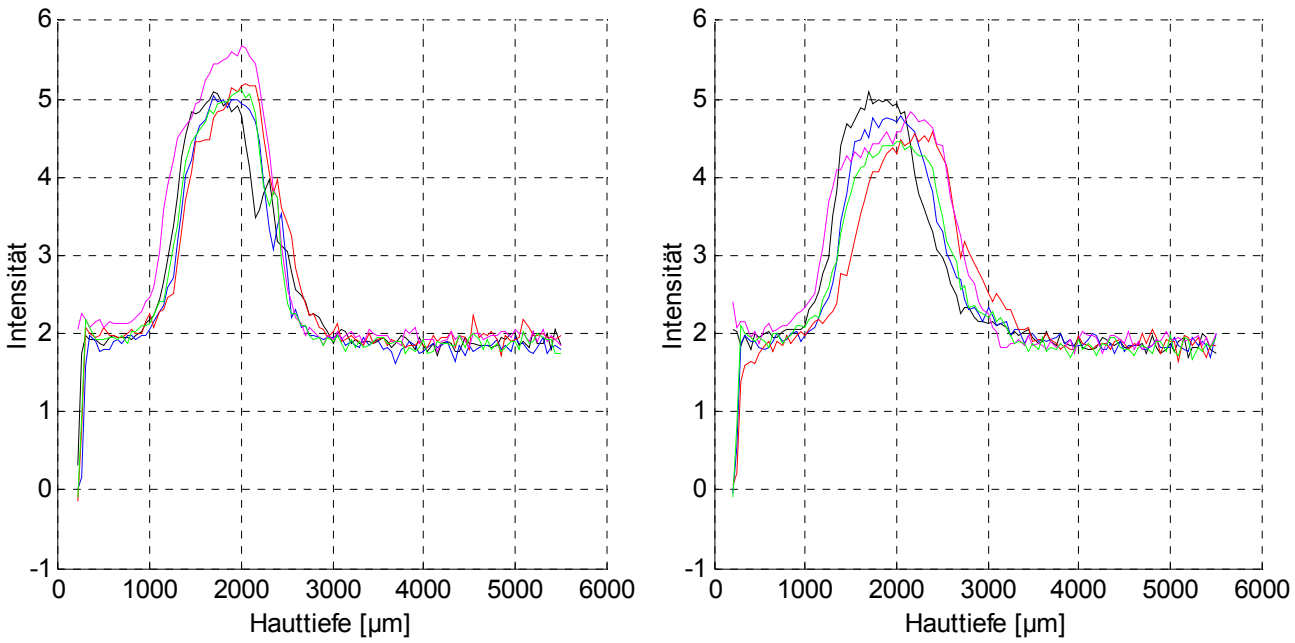

Abbildung 17: Die graphischen Darstellungen zeigen die fünf NMR-MOUSE Hautprofilmessungen des Probanden K, welche farblich voneinander getrennt sind. Auf der linken Seite sind die Messungen im normalen natürlichen Zustand und auf der rechten Seite die der venösen Okklusion vorzufinden. Proband K gehört zum oberen Quartil der homogenen Hautprofile.

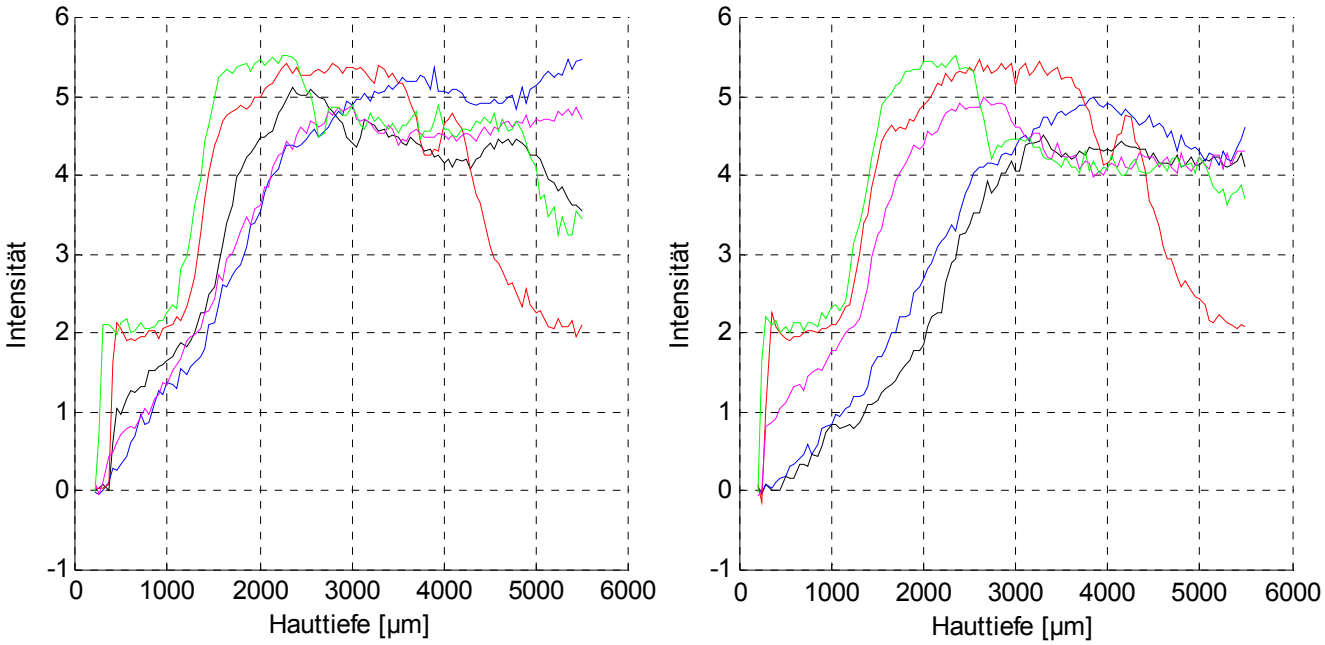

Abbildung 18: wie Abbildung 17 jedoch mit Proband C, der zum unteren Quartil der homogenen Hautprofile gehört. D.h. das Hautprofil ist sehr heterogen. links: normaler Zustand rechts: venöse Okklusion

Für die Fragstellung ist die Änderung der Schichtdicken bei Zustandsänderung interessant. In diesem Zusammenhang werden die Differenzen der Schichtdicken zwischen normalen Zustand und venöser Okklusion aufgeführt.
Im Anhang (siehe Tabelle 10) sind die Differenzen der einzelnen Messungen zu finden. In der folgenden Tabelle wird der Mittelwert mit Standardabweichung der Differenzen über die fünf Messungen dargestellt.

Tabelle 4: Differenzen zwischen der Kontrollmessung und der Staumessung der mittleren Hautschichtdicken gemessen mit der NMR-MOUSE. Positive Werte entsprechen einer Zunahme während der Okklusion [µm].

Proband	Dermis	Subcutis	Gesamt
B	400 ±409	350 ±644	800 ±634
C	200 ±251	-150 ±356	50 ±137
D	50 ±108	200 ±192	250 ±253
E	50 ±314	-200 ±1006	-200 ±760
F	50 ±55	0 ±42	100 ±84
G	150 ±588	-250 ±841	-150 ±686
H	200 ±351	-150 ±568	50 ±529
I	-50 ±117	150 ±144	100 ±57
J	0 ±154	150 ±325	100 ±349
K	100 ±42	150 ±76	150 ±74
MW ±SD	100 ±129	50 ±203	150 ±272

5.2 Die Dicke der Hautschichten gemessen mit Ultraschall

Die Ultraschallmesswerte werden original in der Maßeinheit cm angegeben, zum direkten Vergleich mit den NMR-MOUSE Daten sind sie in µm dargestellt. Bei allen Probanden bis auf einen erfolgten zwei Messreihen mit je drei Messungen. Bei dem Proband G liegen lediglich je zwei Messwerte für Dermis und Subkutis und ein Wert für die Gesamtdicke aus den Ultraschalltestläufen vor. Die Mittelwerte wurden auf die vom Hersteller angegeben Auflösung des Ultraschalls von 100 µm gerundet.

Die einzelnen Ultraschallmesswerte sind im Anhang zu finden (Tabelle 7).

Tabelle 5: Mittlere Hautschichtdicken gemessen mit Ultraschall [µm].
Für Proband G konnten auf Grund der geringen Anzahl der Messwerte keine Standardabweichungen gebildet werden.

	Dermis	Subkutis	Gesamt
B	1700 ±210	800 ±300	2400 ±340
C	1500 ±280	2700 ±510	4200 ±550
D	1200 ±120	900 ±290	2200 ±260
E	1600 ±150	800 ±100	2400 ±80
F	1400 ±140	700 ±50	2200 ±160
G	1700	1500	3000*
H	1500 ±170	1900 ±570	3400 ±630
I	1500 ±230	1700 ±230	3200 ±290
J	1100 ±230	1800 ±350	2300 ±300
K	1200 ±50	1100 ±220	2300 ±210
	*kein Durchschnitt		
MW ±SD	1400 ±212	1400 ±645	2750 ±670

5.3 Vergleich zwischen der Messmethode NMR-MOUSE und Ultraschall

Die Kontrollmessungen der beiden Messmethoden weisen unterschiedliche mittlere Hautschichtdicken auf. Für einen weiteren Vergleich werden hier die Differenzen zwischen den mittleren Hautschichtdicken der NMR-MOUSE Kontrollmessungen und der Ultraschallmessungen aufgeführt.

Tabelle 6: Differenz der mittleren Hautdicken zwischen der NMR-MOUSE Messung und der Ultraschallmessung in [µm].
Ein positiver Wert hat dabei die Bedeutung, dass die gemessene Schicht im Ultraschall gegenüber der NMR-MOUSE Messung dicker ist. Analog dazu steht ein negativer Wert für eine dickere Schicht gemessen durch die NMR-MOUSE.

Proband Nr.	Dermis	Subkutis	Gesamt
B	200	-450	-300
C	350	-1100	-750
D	0	-450	-350
E	350	-700	-400
F	100	-100	100
G	450	-850	-650
H	0	150	150
I	550	-150	400
J	-50	100	-550
K	200	50	200
Mittelwert	215 ±206	-350 ±431	-215 ±399

Die Dickenmesswerte durch den Ultraschall für die Dermis liegen durchschnittlich um 215 µm höher gegenüber der NMR-MOUSE. Die Subkutismesswerte fallen durchschnittlich um 350 µm niedriger bei der Ultraschallmessung gegenüber der NMR-MOUSE aus. Ebenso ist die Gesamtdicke gemessen durch NMR-MOUSE im Mittel um 215 µm größer. Zu beachten sind dabei Standardabweichungen der Differenz, die im Bereich eben dieser liegen (Dermis: 206 µm, Subkutis 431 µm, Gesamtdicke 399 µm).

Die mittleren Differenzen zwischen den Messmethoden deuten bereits auf Unterschiede in den Hautschichtdicken. Die Analyse durch den gepaarten T-Test zeigt den signifikanten Unterschied zwischen der NMR-Kontroll- und der Ultraschall-Kontrollmessung. Die Signifikanz liegt in den gemessenen Dicken der Hautschicht Dermis (mit: P=0,009 bei einer Power von 0,821) und in der Subkutis (P=0,03 bei einer Power von 0,561) vor. Die Gesamtdicke unterscheidet sich nicht signifikant voneinander (P=0,133). Wenngleich diese nicht signifikant ist, so zeigt die niedrige Power des T-Tests von P=0,208 an, dass die Aussage des Tests nicht als eindeutig angesehen werden darf.

Die mittleren Standardabweichungen der Hautschichdicken fallen für beide Messverfahren (NMR-MOUSE: Dermis:181 µm, Subkutis: 846 µm, Gesamtdicke: 836 µm - Ultraschall: Dermis: 212 µm, Subkutis: 645 µm, Gesamtdicke 670 µm) sehr ähnlich aus, wobei für die NMR-MOUSE die Standardabweichung bei der Subkutis und Gesamtdicke um etwa 100 µm größer ist. Bei der Dermis sind diese nahezu identisch.

Zur Übersicht und Zusammenfassung der Ergebnisse der Hautprofilmessungen sind hier die mittleren Dicken der einzelnen Messungen mit Standardabweichung nochmals graphisch zusammengefasst.

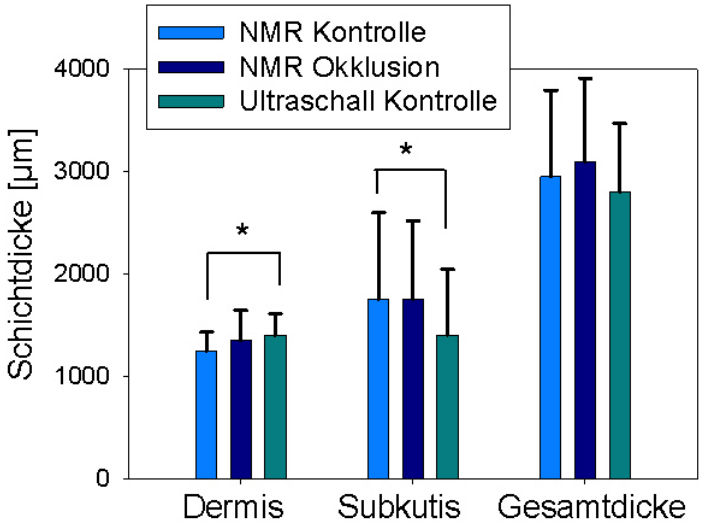

Abbildung 19: Übersicht der mittleren Hautdicken über alle 10 Probanden gemessen mit der NMR-MOUSE im normalen Zustand, mit venöser Okklusion und Ultraschallmessung. *zeigt einen signifikant Unterschied zwischen der NMR-Kontroll- und der Ultraschall-Kontrollmessung in der Dermis (P=0,009) und Subkutis (P=0,03) an.

5.4 Relaxationsverteilung aus dem CPMG Echozug

Zum Überblick der Messungen der fünf Probanden wird hier die mittlere Häufigkeitsverteilung der Relaxationen der Hautschichten Dermis und Subktuis dargestellt. Es wird nach den Zuständen: Kontrolle, 5 min Wirkungszeit und 60 min Wirkungszeit differenziert.

Mit einem gepaarten T-Test werden die relativen Häufigkeiten der Relaxation mit den Zeit 5,29 ms, 10,8 ms und 148,74 ms in der Dermis sowie 10,8 ms und 92,37 ms in der Subkutis nach Änderungen in den Zuständen untersucht.

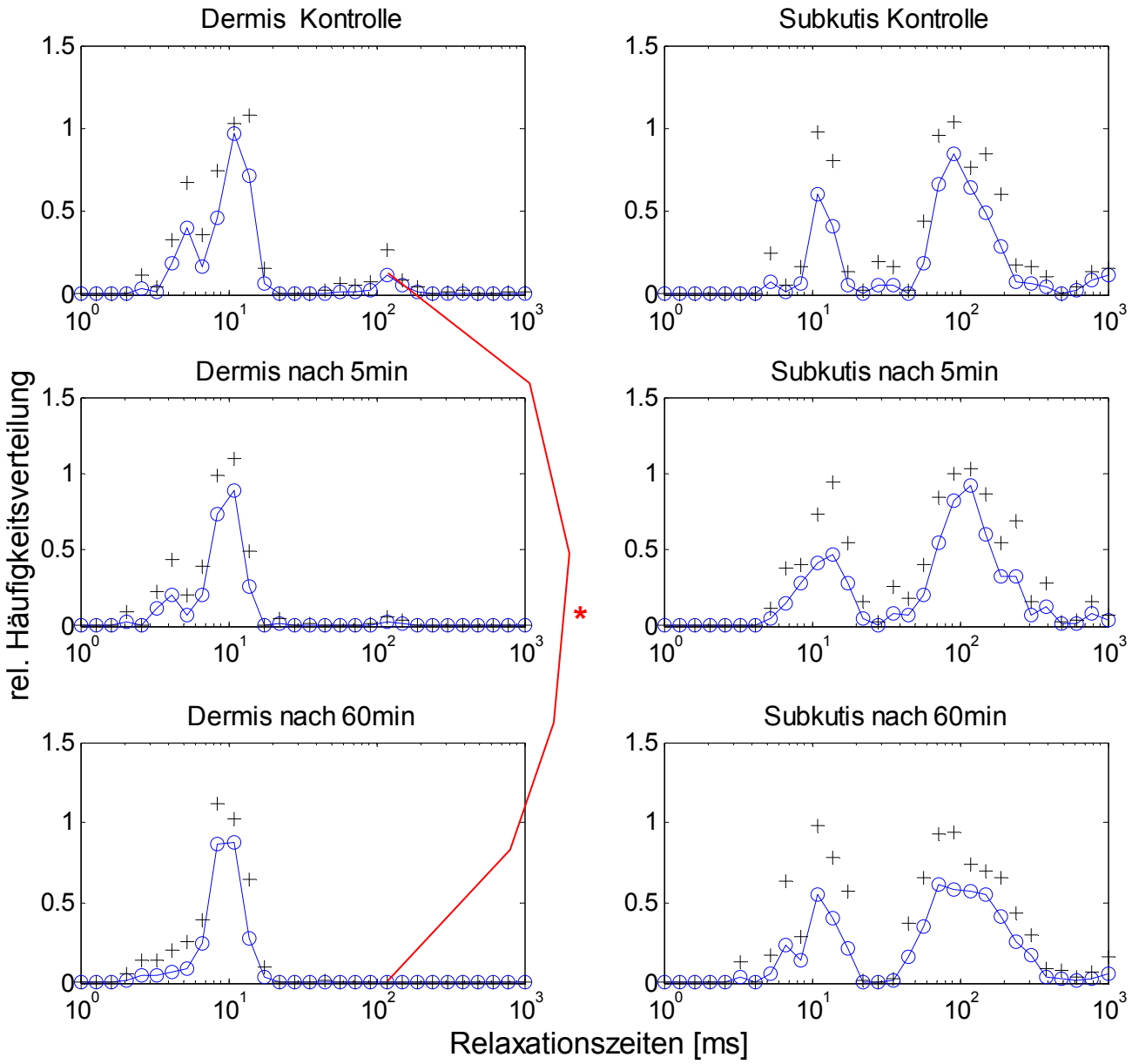

Abbildung 20: Linke Spalte: Die T_2 Relaxationsverteilung der ^{1}H-Spins in der Dermis vor und nach Auftragung Dermis vor und nach Auftragung von Finalgon (MW±SD, n=5)

Rechte Spalte: Die T2-Relaxationsverteilung der ^{1}H-Spins in der Subkutis vor und nach Auftragung von Finalgon (MW±SD, n=5)

* zeigt signifikante Änderung an.

Die Abbildung 20 zeigt einen Hauptpeak bei 10,8 ms in der Dermis. Die Nebenpeaks liegen bei 5,3 ms und bei 148,7 ms. Es ist zu beobachten, dass mit zunehmender Wirkungszeit des „Finalgon“ der Nebenpeak bei 148,7 ms an Intensität abnimmt und nach 60 Minuten verschwindet. Dieser Effekt ist Signifikant (P = 0,034). Bei diesem zu beobachteten Effekt ist die Standardabweichung sehr gering oder fast gleich null.

Im subkutanen Hautbereich sind zwei Hauptpeaks einer bei der kurzen Relaxationszeit 10,8 ms und einer bei der langen Relaxationszeit 92,4 ms zu finden. Die mittlere Relaxationsverteilung der Subkutis ist uneindeutig und hat hohe Standardabweichungen. Auch mit längerer Wirkungszeit des Finalgon verschiebt sich die Verteilung nicht zu einem eindeutigem Ergebnis. Es ist viel mehr eine breitere Streuung dieser festzustellen.

Der mittleren Relaxationsverteilung ist eine niedrigere Standardabweichung in der Dermis gegenüber der Schicht in der Subkutis zu entnehmen. Ebenso ist mit der Wirkungszeit des Finalgon der Anstieg der Standardabweichung in der Subkutis besonders auffällig. Im Mittel ist der Peak der langsamen Relaxationszeit in der Subkutis höher als der der schnellen Relaxationen und dieser gewinnt durch die Wirkung des Finalgon an Breite. Das bedeutet die Verteilung der Relaxation wird weiter und weniger spezifisch.

Tabelle 7: Gepaarter T-Test zur Änderungsüberprüfung der relativen Relaxationsanteile mit der Zeit 5,29 ms, 10,8 ms und 148,74 ms in der Dermis sowie 10,8 ms und 92,37 ms in der Subkutis

	Kontrolle Dermis - nach 5 min	Kontrolle Dermis - nach 60 min
5,29 ms	P = 0,122 Power: 0,251	P = 0,118 Power: 0,258
10,8 ms	P = 0,464 Power: 0,050	P = 0,10 Power: 0,295
148,74 ms	P = 0,165 Power: 0,185	P = 0,034 Power: 0,618
	Kontrolle Subkutis - nach 5 min	Kontrolle Subkutis - nach 60 min
10,8 ms	P = 0,487 Power: 0,050	P = 0,888 Power: 0,050
92,37 ms	P = 0,843 Power: 0,050	P = 0,258 Power: 0,101

Zur Bestimmung der Wiederholbarkeit der Ergebnisse von Einzelmessungen wurden 5 Messungen für beide Schichten an einem Probanden durchgeführt. Hier werden nun die mittleren Relaxationsverteilungen (± SD) der normierten Wiederholungsmessungen jeweils für die Dermis und Subkutis dargestellt.

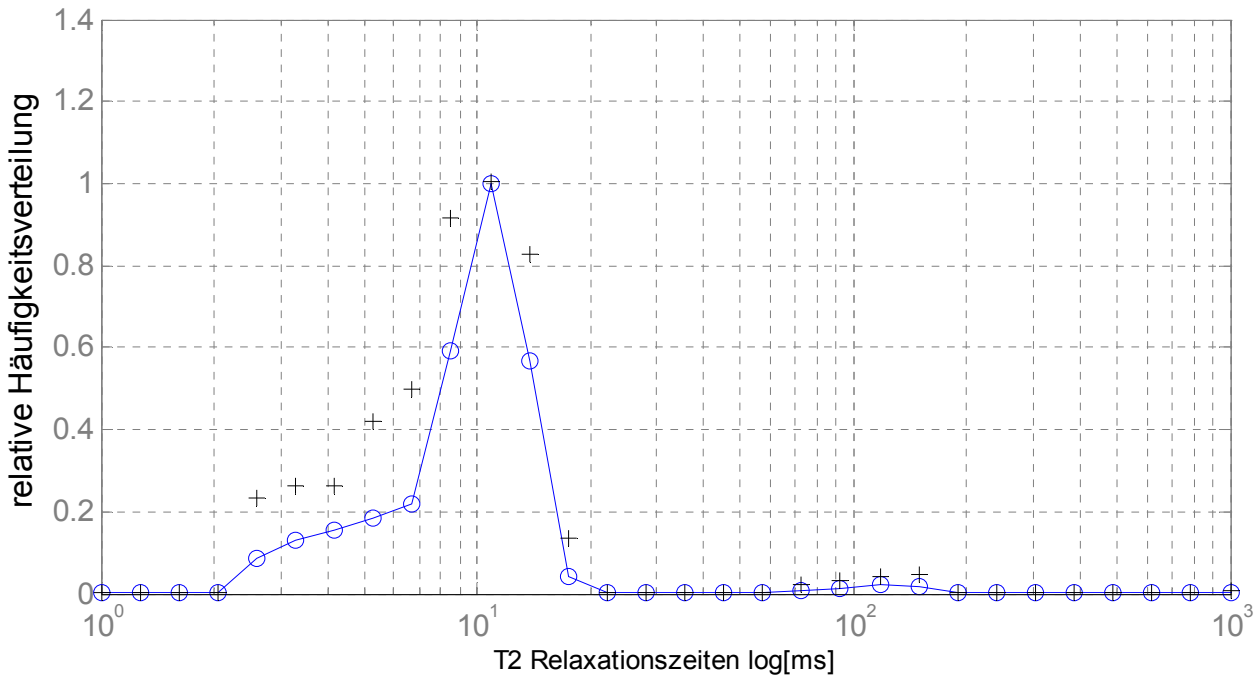

Abbildung 21: Beispiel der mittleren Relaxationsverteilung aus 5 Wiederholungsmessungen in der Dermis des Probanden B mit Standardabweichung nach oben (+)

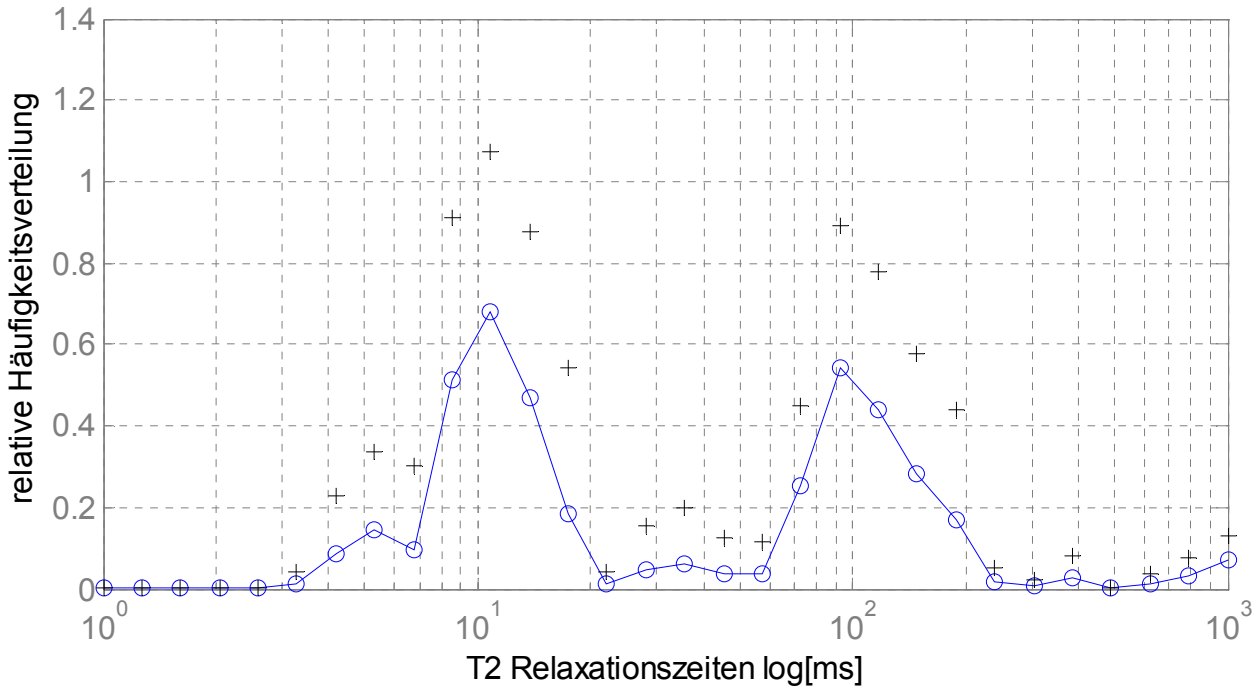

Abbildung 22: Beispiel der mittleren Relaxationsverteilung aus 5 Wiederholungsmessungen in der Subkutis des Probanden B mit Standardabweichung nach oben (+)

Die statistische Analyse durch eine „Oneway Repeated Measurements ANOVA“ ergibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Relaxationsmessungen in der Dermis (mit P= 0,126) und der Subkutis (mit P = 0,140). Die Power des Tests liegt jedoch für die Dermis nur bei 0,254 und die Subkutis bei 0,235. Die untersuchten Relaxationszeiten der Dermis und der Subktuis unterliegen nicht einer Normalverteilung (P < 0,050), daher wird zusätzlich eine Rang ANOVA durchgeführt. Die “Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks” ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Messungen in der Dermis (mit P = 0,009) und in der Subkutis (mit P = 0,001).

6 Diskussion

Die aufgestellte Hypothese, dass die NMR-MOUSE sich als neue Messmethode in der Physiologie zu Untersuchung von Flüssigkeitsverschiebungen in der Haut eignet, muss verworfen werden. Belegt werden kann dies durch die schlechte Reproduzierbarkeit der Schichtdicken innerhalb der Hautprofile der Probanden und besonders im zeitlichen Nachteil gegenüber der Referenzmethode Ultraschall.

Die Messung der Relaxation und deren Transformation liefert eine Verteilung der Relaxationszeiten, die jedoch schwierig zu interpretieren ist. Eine eindeutige stoffliche Zuordnung ist nicht möglich, daher können nur begrenzt physiologische Aussagen getroffen werden.

6.1 Probanden

Auf Grund des Zyklus unterliegen Frauen starken hormonellen Schwankungen, die zur Folge haben, dass Flüssigkeiten in die Haut eingelagert werden, welche in den ersten Testläufen, bei denen wir den Anspruch verfolgten auch geschlechtgemischte Gruppen zu untersuchen, deutlich zu erkennen waren. Es kommt hinzu, dass sich die Hautdicken zwischen Frauen und Männern generell unterscheiden. Daher verfolgte man das neue Ziel, indem man sich auf ausschließlich männliche Probanden festlegte, eine homogene Probandengruppe zu untersuchen.

Wegen der hohen Standardabweichung im Body Mass Index und des Alters ist letztlich die Probandengruppe nicht als sehr homogen einzustufen.

6.2 Methodendiskussion

6.2.1 Reliabilitätsmessungen von Hautprofilen mit der NMR-MOUSE

Bei der NMR-MOUSE Messung ergeben sich einige Limitationen in Bezug auf die Reproduzierbarkeit. Dabei ist zwischen Fehlern durch das Gerät/Messaufbau, den Einflüssen durch die Morphologie der Haut und physiologischen Reaktionen zu unterscheiden.

Da die Haut der Wärmeregulation des Körpers dient, ändert sich die Durchblutung der Haut schon bei Änderungen der Raumtemperatur um wenige Grad. Obwohl es eine Klimaanlage gab, variierte die Raumtemperatur um 3°C variierte. Die Temperaturänderungen waren hoch genug, um auch von den Probanden wahrgenommen zu werden. Einen Einfluss auf das Volumen von Blut und interstitieller Flüssigkeit in der der Haut und somit auf deren Schichtdicken kann weiterhin eine Variation des hydrostatischen Druckes bei unterschiedlichen Haltungen der Extremitäten vor der Messung haben. Bei längerer stehender Stellung mit senkrechter, zum Boden gerichteter Position der Arme kommt es zur Volumenzunahme durch den verminderten venösen Blutabfluss. Diese Einflüsse können betreffend auf die Schichtmessungen nicht quantifiziert werden, jedoch saßen die Probanden mindestens zwei Minuten vor den Messungen in der Messposition.

Die Haut bildet keine exakt homogene Schichtung über große Flächen aus. Auch sind Folikel und Haare, sowie Schweißdrüsen und deren Ausgänge in der Haut enthalten. Das erhöht ihre Heterogenität und dieser Umstand erschwert die Ermittlung der Hautprofile. Diese unterscheiden sich nicht nur zwischen den Probanden. Auch sind die intraindividuellen Unterschiede groß (siehe dazu Abbildung 16). Dieser Umstand lässt sich durch die hohen Standardabweichungen bei der Dickenmessung der Hautschichten belegen.

In den Hautprofilen ist zu erkennen, dass die Verzahnung von Dermis und Subkutis unterschiedlich stark ausgebildet ist. Diese unterscheidet sich zwischen den Probanden und hängt ebenso von der gemessenen Hautpartie ab (vergleich dazu Abb. 17 und 18).

Zu erwähnen ist noch, dass bei Proband C bei drei der fünf Messungen die Subkutis wegen der nicht ausreichenden Eindringtiefe der NMR-MOUSE nicht vollständig vermessen werden konnte (siehe Abb. 18).

Zu den Fehlern durch das Gerät, verursacht durch den Messaufbau, lässt sich Folgendes sagen: aus Erfahrungsberichten des Instituts für Makromolekulare Chemie der RWTH Aachen geht hervor, dass die Kippung um 90° der NMR-MOUSE aus der vertikalen in die horizontale Lage zu einem Messfehler von etwa 10 µm führt. Zu begründen ist dies durch die Schwerkraft, die sich auf die um µm genau positionierte Halterung der NMR-MOUSE auswirkt und so das Magnetfeld und den Sensitivenbereich verschiebt.

Die vermessende Hautposition ist durch den Messaufbau, genauer der zueinander festen Position der Armablage und dem sensitiven Bereich der NMR-MOUSE, vorgegeben. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Hautstelle um +/- 0,5 cm sowohl in distal/medial als auch lateral variierte.

Das wesentliche Problem bei der NMR-MOUSE Messung ist die Messdauer. Daraus resultieren weitere Probleme, die wiederum mit den lebenden Messobjekten, den Probanden/Patienten zusammenhängen. Es lässt sich nahezu unmöglich gewährleisten, dass sich ein Proband während der Messung nicht bewegt. Ein Beispiel für ein einmaliges größeres Bewegungsartefakt liefert Abbildung 17. Dort ist deutlich zu erkennen, dass sich der Proband bei der Eindringtiefe von etwa 1700 µm aus dem sensitiven Bereich bewegt hat, mit der Konsequenz, dass das Hautprofil erneut aufgezeichnet wurde.

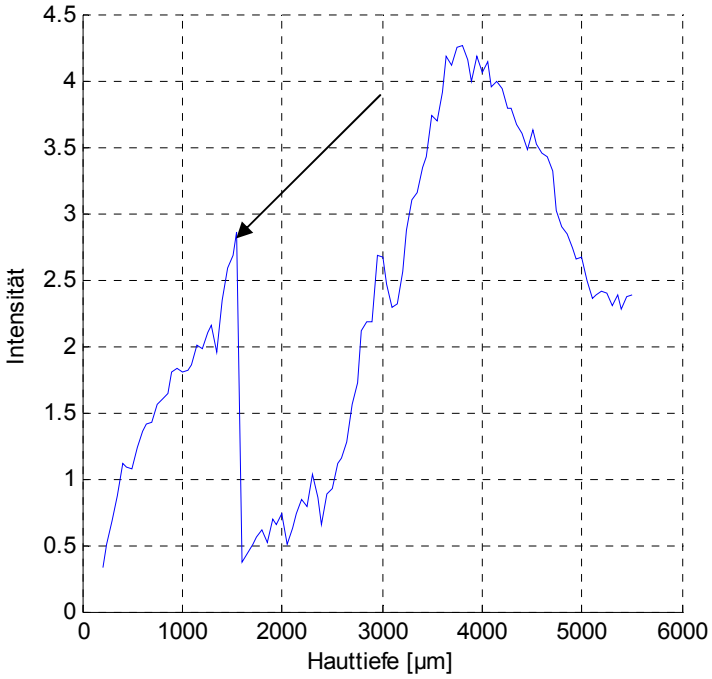

Abbildung 23: NMR-MOUSE Profil mit einem deutlich zu erkennenden Bewegungsartefakt (gekennzeichnet durch den Pfeil)

Bewegungsartefakte von kleinerem Umfang, die das Hautprofil verschmieren lassen, können nur sehr schwer bis gar nicht erkannt werden. Da Bewegungen in der Größenordnung der Messschichten der NMR-MOUSE dafür sorgen, dass diese in der Haut entweder mehrfach gemessen oder übersprungen werden. Das kann zu einer Streckung oder Stauchung des Profils führen.
Die Messung mit der NMR-MOUSE ist daher in sehr hohem Maße abhängig von der Selbstbeherrschung der Probanden.

Wie das nachfolgende Bild zeigt, ist die Auswertung durch Verwendung der Wendepunkte nicht bei allen Probanden eindeutig. Das ursprüngliche Signal ist relativ stark verrauscht, so dass sich mehrere lokale Wendepunkte ergeben. Darüber hinaus fehlt das für die Dermis typische Plateau, daher steigt das Signal stetig an.

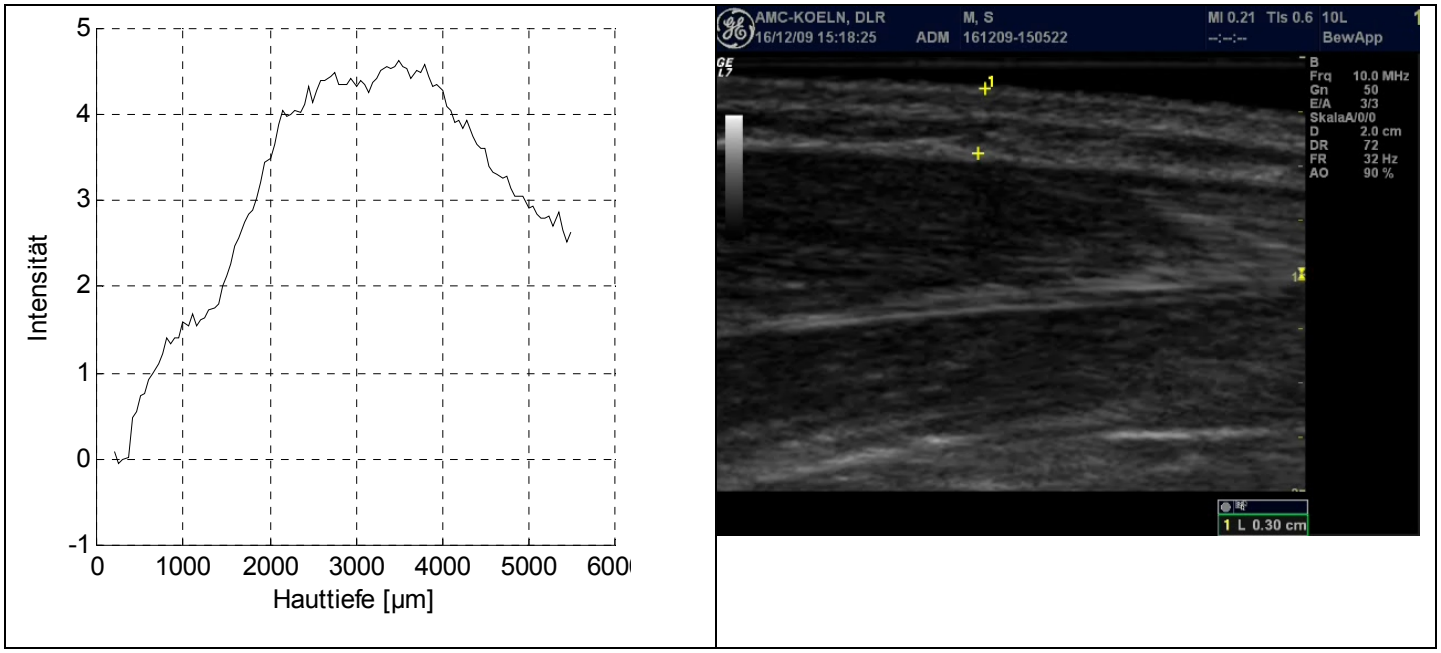

Abbildung 24: Untypisches NMR-MOUSE Profil (links),
Ultraschallbild des entsprechenden Probanden (rechts)

Die automatische Auswertung der NMR-MOUSE Profilmessungen anhand der Wendepunkte ist nicht eindeutig als richtig anzusehen. Vielmehr handelt es sich dabei um eine erste experimentelle Objektivierung. Einen Aufschluss über eine Optimierung der Auswertung wird im Methodenvergleich erwartet.

6.2.2 Referenzmessung von Hautprofilen mit dem Ultraschall

Die Messung der Haut durch den Ultraschall führt einige Nachteile mit sich. Zum einen ist die maximale axiale Auflösung des Ultraschalls mit 154 µm als Referenzmethode gegenüber dem zu validierenden Messsystem der NMR-MOUSE mit 50 µm niedriger. Zum anderen gehört die Hautvermessung nicht zur medizinischen Routineuntersuchung bzw. zur relevanten Untersuchungsmethode. Der untersuchende Arzt hat daher zwar generell viel Erfahrung in der Ultraschalldiagnostik, aber keine spezielle Expertise in der Untersuchung der Haut. Es ist aber immerhin gelungen, die Ultraschallparameter so zu optimieren, dass man die Schichtung der Haut sichtbar machen konnte. Eine prinzipielle Fehlerquelle bei der Vermessung von Ultraschallbildern liegt in der Notwendigkeit den Ultraschallkopf per Hand senkrecht zu halten. Die Schichtgrenzen wurden ferner manuell mit einem Cursor markiert, was angesichts des guten Bildkontrastes sehr eindeutig möglich war. Eine Winkeländerung des Schallkopfs hat eine Längenänderung auf Grund der falschen Laufzeit zur Folge. Dieser Fehler ist schwer quantifizierbar, es kann aber wegen der hohen Erfahrung und Routine des untersuchenden Arztes von einem Minimum ausgegangen werden. Trigonometrisch lässt sich durch den Kosinus schätzen, dass es bei 20° Kippung des Ultraschallkopfes es zu einem Längenfehler von 6,0% kommt (bei: 10° zu einem Fehler um 1,5%).

Aus diesen Gründen wurde ein Testlauf durchgeführt, gefolgt von der eigentlichen Messung, die aus mehreren Messwiederholungen bestand. Mit diesem Vorgehen sollten sich die Fehler aus der Messung mitteln.

Die Einflüsse durch den Druck des Schallkopfs auf die Haut sollten durch eine große Menge des Ultraschallgels minimiert werden, können aber weder ausgeschlossen, noch quantifiziert werden.

Ein weiterer unbekannter Fehler entsteht durch die Angabe der Längenmessung im Ultraschallbild, denn es werden auf 0,01 cm genaue Angaben gemacht, was 0,1 mm oder 100 µm entspricht. Die berechnete maximale axiale Auflösung liegt bei 154 µm. Daher kann von einem Rundungsfehler von +/- 50 µm ausgegangen werden.

Der entscheidende Vorteil gegenüber der NMR-MOUSE besteht in der vergleichsweise sehr schnellen Messung von wenigen ms für ein Bild.

Im folgenden Ultraschallbild ist zu erkennen, dass die Variation der Messwerte bei beiden Methoden zum wahrscheinlich größten Teil auf die unterschiedliche

Beschaffenheit der Haut zurückzuführen ist. Ebenso lassen sich durch diese Tatsache die hohen Standardabweichungen der einzelnen Schichten erklären.
Die Hautdicke hängt von der Messstelle ab. Bereits kleine Abweichungen der Messstelle (um µm bis mm lateraler Richtung) führen zu Abweichungen durch die Verzapfung in der Subkutis. Diese ist im Ultraschallbild als schwarzer echoarmer Bereich dargestellt. Auf Grund dieser anatomischen Begebenheit ist besonders die hohe Standardabweichung in den Subkutismesswerten zu erklären.
Da die Positionierung des Ultraschallkopfs auf dem Arm des Probanden nicht auf µm bis mm möglich ist, ergeben sich unterschiedliche Messstellen und damit intraindividuelle Abweichungen.

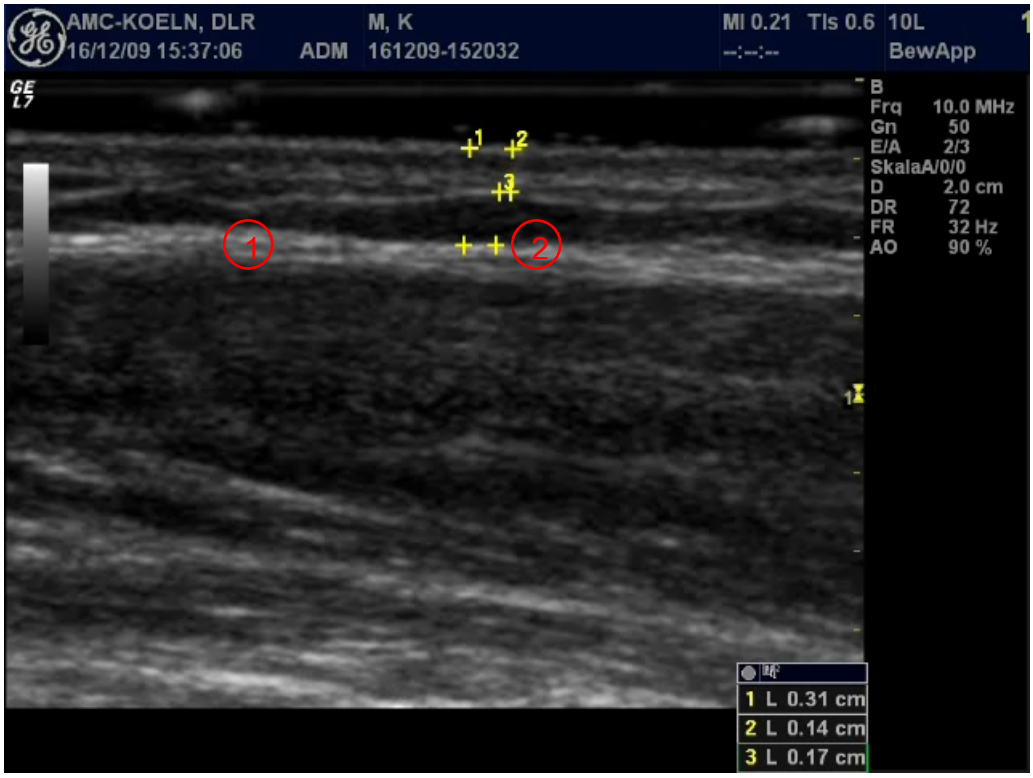

Abbildung 25: Ultraschallbild mit deutlicher zapfenförmiger Subkutis (dünnere Stelle innerhalb bei 1 und dickere Stelle der Subkutis bei 2)

Die Vorlaufstrecke, welche im Bild als schwarzer Bereich auszumachen ist, ergibt sich aus dem Ultraschallgel.

Wie im Ultraschallbild Abbildung Nr. 13 (siehe im Kapitel 4.7 Vermessung der Hautschicht mithilfe von Ultraschall) zu sehen ist, kann sich die Gesamtdicke von der Summe der einzelnen Schichten unterscheiden.
Darüber hinaus ist im folgenden Bild zu sehen, dass die Schichten nicht immer eindeutig durch scharfe Echos getrennt sind. Die Subkutis ist im Gegensatz zu den vorherigen Bildern verschwindend dünn.

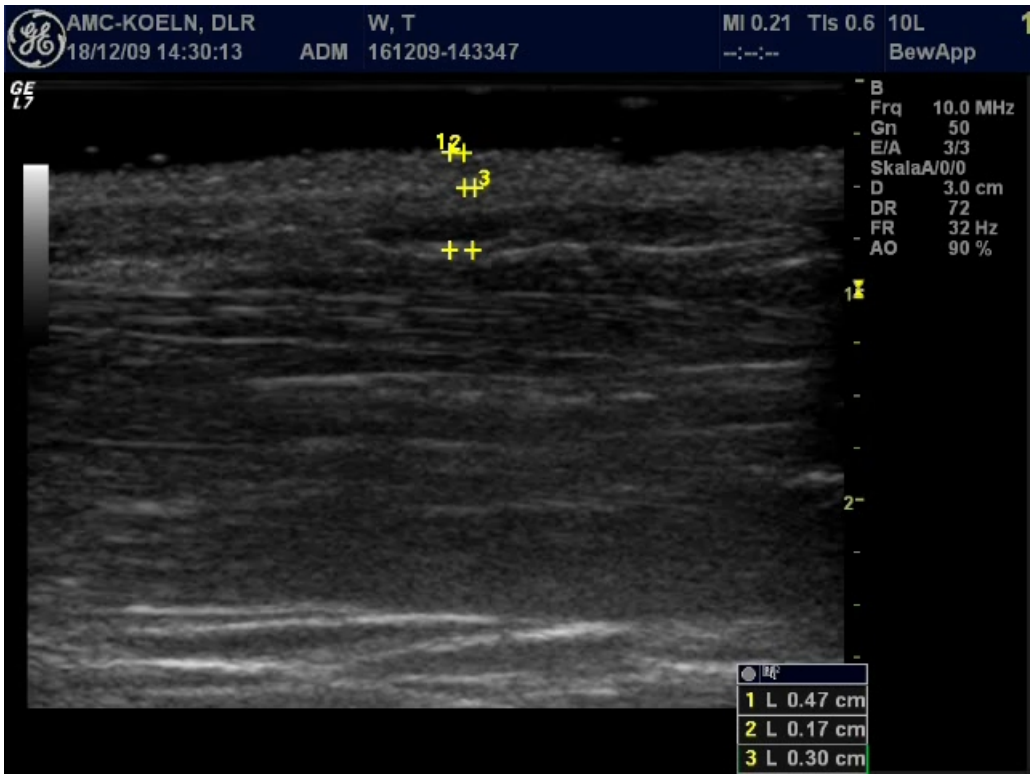

Abbildung 26: Ultraschallbild mit unscharfen Echos

Insgesamt ist die Ultraschallmessung in hohem Maße abhängig von der Erfahrung und dem Können des Untersuchenden. Eventuell ergäben sich durch einen anderen Untersuchenden andere Grenzübergänge der Schichten.

6.2.3 Vergleich der NMR-MOUSE Messergebnisse mit dem Goldstandard

Für einen geeigneten Vergleich sollten die Messstelle und der erfasste Messbereich möglichst identisch sein. Die Messstelle wurde nach der NMR-MOUSE Messung angezeichnet, so dass diese übereinstimmt. Einen größeren Unterschied macht der Messbereich aus, da für den Ultraschall zwar ein Bereich von einigen cm (was der Größe des Schallkopfes entspricht), für die Dickenmessung nur ein vergleichsweise sehr kleiner Bereich von mm herangezogen wird. Bei der NMR-MOUSE stellt das

sensitive Volumen (eine planare Schicht) den Messbereich dar. Dieser entspricht etwa der Größe der Sende- und Empfangsspule (~2cm) in der Breite (zwischen den unterschiedlich gepolten Permanentmagneten) und etwa 5 mm in der Höhe (zwischen den gleich gepolten Magneten), ist aber auf Grund des Verlaufs des B0 und des B1 Felds nicht einer festen Grenze untergeordnet (Blümich *et al.*, 2008). Das hat zur Folge, dass ein mittleres Intensitätssignal über den Bereich und kein punktuelles Tiefenprofil gemessen wird.

Die Resultate der Ultraschallmessung deuten daraufhin, dass die Auswertung der Hautprofile der NMR-MOUSE hinsichtlich der Abgrenzung der Schichten überarbeitet werden muss. Betrachtet man die „typischen“ Ultraschallmesswerte, so befinden sich vermutlich die Übergänge nicht an den Wendepunkten, wie hier gewählt, sondern am Ende des Signalanstiegs für den Dermis-Subkutisübergang und am Beginn des Signalabfalls am Übergang von Subkutis zur Faszie.

Für beide Methoden gilt, dass für die Dermis deutlich niedrigere Standardabweichungen als für die Subkutis vorliegen. Dies führt zur Vermutung, dass die Heterogenität der Haut hauptursächlich für die hohen Standardabweichungen ist.

6.2.4 Statistische Analyse zwischen den Zuständen der Haut

Die Power des T-Tests fällt bis auf bei Proband K sehr niedrig aus (0,05 bis 0,398), so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Ergebnisse (nicht signifikanter Unterschied zwischen nativen Zustand und venösem Stau) als nicht aussagekräftig angenommen werden müssen. Bei dem Proband K liegt die Power bei den Dermis Messwerten bei 0,634 und bei den Subkutis Messwerten bei 0,793. Der T-Test liefert hier eine Signifikanz, welche auf Grund der hohen bzw. ausreichenden Power als relevant eingestuft werden kann.

Die niedrige bis sehr niedrige Power der T-Tests ist mit der hohen Standardabweichung der Messwerte zu begründen. Bei Proband K ist die Standardabweichung vergleichsweise niedrig.

Die Aussage der ANOVA ist, dass sich die Messwerte der Probanden untereinander signifikant voneinander unterscheiden. Sie kann auf Grund ihrer hohen Power als aussagekräftig angesehen werden.

6.3 Hautschichtdickenvergleich mit der Literatur

Histologie

In der Histologie werden für die Dicke der Epidermis, bei der dünnen (behaarten; im Gegensatz zur dicken unbehaarten) Haut 75–150 µm angegeben. Die Dicke der Dermis variiert je nach Lage zwischen 1,5 mm und 4 mm (Junqueira *et al*, 2005).

Es fehlt die Angabe der Subkutis. Die Hautdicke wird ex vivo bestimmt und unterscheidet sich auf Grund der Austrocknung gegenüber anderen Messverfahren. Für einen Vergleich mit den Messwerten sind die histologischen Daten wegen der fehlenden Ortsdifferenzierung unbrauchbar.

Ultraschall

In der Studie von Krackowizer & Brenner wurden die mittleren Dicken der Epidermis und Dermis bei 112 Probanden (69 Männer und 43 Frauen) kaukasischen Ursprungs zwischen 19 und 28 Jahren durch einen 12 MHz Linearschallkopf bestimmt. Dabei wurde die Raumtemperatur konstant auf 21°C gehalten, die Probanden in Rückenlage gemessen und um tageszeitliche Schwankungen auszuschließen, fanden die Messungen zwischen 12:30 Uhr und 17:15 Uhr statt.

Die dünnste Stelle ergab sich im Mittel am rechten Fuß mit 0,790 mm (Gesamtdicke), die dickste Stelle am Throax mit 1,467 mm. Die Spannweite der Hautdicke ging von 0,48 mm bis 2,0 mm. Dabei wurde die Haut ausschließlich als Epidermis und Dermis definiert. Es wurde eine hohe Korrelation zwischen BMI und Hautdicke ($r \leq 0{,}411$) und ebenso zwischen Körpergröße und Hautdicke ($r \leq 0{,}593$) gefunden. Dagegen konnte keine Korrelation zwischen Hautdicke und Alter festgestellt werden.

Zusätzlich ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen linker und rechter Körperhälfte (paired T-Test mit $p<0{,}01$) am Oberarm, Vorfuß, Schienbein, Axilla, oberen Thorax.

Die Messungen am Unterarm wurden jedoch auf der Oberseite des Arms durchgeführt (kein signifikanter Unterschied zwischen links und rechts). Im Folgenden die Werte für männliche Probanden (Epidermis + Dermis):

Rechter Unterarm	Minimum: 0,8 mm	Maximum: 1,7 mm	Mittelwert: 1,304 mm, SD: 0,157 mm
Linker Unterarm	Minimum: 0,9 mm	Maximum: 1,6 mm	Mittelwert: 1,291 mm SD: 0,154 mm

An den oberen Extremitäten besteht zwischen den Geschlechtern ein signifikanter Unterschied (Krackowizer & Brenner, 2008).

Die homogene Probandengruppeneinteilung der NMR-MOUSE Studie ist aus den oben genannten Ergebnissen berechtigt und sinnvoll.
Im Vergleich zu der Studie von Krackowizer & Brenner wurde in der Schichtdickenmessung mit der NMR-MOUSE (analog die Ultrschallmessungen) die innere Unterarmseite vermessen.
Der Mittelwert der Dermis von 1291 µm für den linken Arm kommt dem Mittelwert von 1250 µm für die NMR-MOUSE sehr nahe im Vergleich zum Mittelwert von 1400 µm für den Ultraschall. Ebenso verdeutlicht die große Spannweite der Messwerte verdeutlicht die anatomischen Unterschiede zwischen den Probanden.

MRT

In der Studie „Zur Kenntnis der normalen Schnittbildanatomie der Haut in der hochauflösenden Magnetresonanztomographie“ von (Stock *et al*, 1997) wurde in einem MR-Ganzkörpertomographen (mit einer Feldstärke von 1,5 T) die Haut von 84 Probanden mittels eines 2,5 cm großen Spulenkopfes bei einer linearen Auflösung von 100 µm in vivo mit einer T1-gewichteten Spin-Echo-Sequenz vermessen. Die Unterscheidung der Hautschichten wurde durch das typische Signal-Rausch-Verhältnis (SRV) und Kontrast- Rausch-Verhältnis (KRV) objektiviert.
Für die Hautschichten im MRT ergaben sich folgenden Werte:

- Für die Dicke der Epidermis werden 0,3 mm im Bereich des Unterschenkels und 0,7 mm im Bereich des Oberarms angegeben.
- Die Dicke der Dermis liegt im Bereich von 0,8 mm am Oberschenkel und 3,1 mm am Rücken.
- Die Werte der Subkutis liegen bei 3,0 mm im Bereich des Unterschenkels und 9,2 mm im Bereich des Bauches.

Die Standardabweichungen sind bei den Subkutismesswerten am höchsten, wenn auch in der Studie keine Angaben erfolgen.
Diese MRT-Daten wurden von (Stock *et al*, 1997) mit Werten von anderen histologischen Hautpräparaten (Histometrien) verglichen. Dabei lag die Dicke der Epidermis durchschnittlich bei 0,2 mm. Die Dermisdurchmesser liegen bei 2,0 mm

am Unterarm. Nach Angaben der Autoren korrelieren die Ergebnisse der MRT Messungen nicht mit denen der Histologie (Stock *et al*, 1997).

Für einen direkten Vergleich zwischen der Studie von (Stock *et al*, 1997) und der NMR-MOUSE Studie ist die gleiche Messstelle der Haut unabdingbar. Dies liegt nicht vor, daher können die Angaben von Stock *et al* nur als Größenordnungsvergleich herangezogen werden, zumal keine exakten Angaben über die Messstellen getätigt werden, sondern Bereiche und Durchschnittswerte aufgeführt werden.
Da in der NMR-MOUSE Studie keine Differenzierung der Epidermis und Dermis vorgenommen wurde, können lediglich die Dermisdicken verglichen werden, die mit den Schichtdicken der Epidermis addiert wurden. Diese liegen mit 1400 µm für Ultraschall und 1250 µm für die NMR-MOUSE innerhalb der von (Stock *et al*, 1997) aufgeführten Werte für die Oberseite des Unterarms.
Die Subkutiswerte der NMR-MOUSE Studie (Mittel: 1750 µm) liegen bis auf bei einem Probanden deutlich unter denen der von (Stock *et al*, 1997) generell angegebenen Werte (3,0 mm bis 9,0 mm).

6.4 Venöse Okklusion als physiologische Änderung

Die Messergebnisse deuten im Mittel daraufhin, dass die Dermis durch den venösen Stau um 100 ±129 µm, die Subkutis um 50 ±203 µm und die Gesamtdicke der Haut um 150 ±272 µm an Dicke zunimmt. Die Standardabweichungen der Differenzen liegen jedoch bei der Dermis in der Größe der Mittelwerte, bei der Subkutis sind sie ein Vielfaches darüber und bei der Gesamtdicke sind sie doppelt so groß. Daher lassen die Messergebnisse keinen eindeutigen Schluss auf eine Dickenänderung in Folge der venösen Okklusion zu. Es steht fest, dass die Ergebnisse von Proband zu Proband variieren und nicht nachgewiesen werden kann, dass die Dermis in diesem Fall vermehrt Flüssigkeiten speichert.
Statistisch kann keine Signifikanz zwischen den gepaarten Messwerten bezüglich einer beidseitigen Änderung nachgewiesen werden. Aufgrund der hohen Standardabweichungen der Messungen verlieren die Tests jedoch an Aussagekraft, daher kann eine wirkliche Änderung nicht ausgeschlossen werden.
Für einen Äquivalenztest muss die Probandenanzahl und die Zahl der Messungen bei weitem erhöht werden, um zu einer statistisch gesicherten Aussage zu gelangen.

6.5 NMR-MOUSE als Methode zur Bestimmung der Relaxationsverteilung

Eine alternative Informationsextraktion aus den T_2 Relaxationsaufnahmen ist ein Kurvenfit. Hierbei liegt die Annahme zugrunde, dass der Zerfall der transversalen Magnetisierung in nur bestimmten Bestandteilen und Formen erfolgt. Denkbar sind eine drei Parameter monoexponentielle Form und eine biexponentielle Form mit einer kurzen und einer lange T_2 Relaxationszeit. Die monoexponentielle Form nutzt den Streckungsfaktor b, bei b=1 wird die Normalisierung dessen sichergestellt, so dass die T_2 Zeit annähernd der langen T_2 Zeit entspricht (Blümich *et al.*, 2008)

<u>Monoexponentieller Fit</u>

$$f(t) = A\exp\{(-t/T_2)^b/b\} \qquad (5.9)$$

mit: b Streckungsfaktor

A Amplitude

<u>Biexponentieller Fit</u>

$$f(t) = A\exp(-t/T_{2\,\mathrm{short}}) + B\exp(-t/T_{2\,\mathrm{long}}) \qquad (5.10)$$

mit: A, B: Amplitude

Nach den Erfahrungswerten des Instituts für Makromolekulare Chemie der RWTH Aachen ist ein 4 Parameter Fit besser geeignet das T_2 Signal zu beschreiben. Verglichen mit der inversen Laplace Transformation ist die so erhaltene Information nur eingeschränkt und hängt sehr stark von der eingangsgestellten Annahme ab.

Die Transformation der T_2 Relaxation liefert eine eindeutig unterscheidbare Verteilung für die Dermis und Subkutis Hautschichten. Es können drei Peaks beobachtet werden:

- einer bei etwa 5 ms: für gebundene Protonen in unbeweglichen Molekülen (z.B. gebundenes Wasser)
- einer bei 10 ms, gebundene Protonen (z.B. Wasser) in löslichen Molekülen
- einer bei etwa 100 ms: Protonen in freiem Wasser- oder Fettverbindungen

Aus den Messungen der Relaxometrie ist zu beobachten, dass in der Dermis der Anteil der langen Relaxationszeiten durch die Wirkung von Finalgon verschwindet.

Damit liegt die Vermutung nahe, dass Finalgon zu einer Wasserabnahme oder Verdrängung in der Dermis führt. In der Subkutis hingegen kommt es zu einer vielseitigen und uneindeutigen Änderung des Wasserhaushaltes.
Die Wirkung der Salbe „Finalgon“ ist gut bekannt: nach kurzer Zeit setzt durch Weitung der Gefäße eine erhöhte Durchblutung ein. Durch den höheren kolloidosmotischen Druck wandert nach einiger Zeit Flüssigkeit aus dem Interstitium in die Haut, was zu einem Ödem führt.

Die Reliabilität der T2 Relaxationsmessung wurde durch Wiederholungsmessungen getestet. Die Ergebnisse sind gemittelt in Abbildung 21 für die Dermis und in Abbildung 22 für die Subkutis dargestellt. Aus diesen geht deutlich hervor, dass die Schicht innerhalb der Dermis im Vergleich zu der Schicht in der Subkutis weniger stark zwischen den Messungen abweicht, was sich anhand der Standardabweichung belegen lässt. Letztlich spiegelt dieses Ergebnis das Resultat aus den Hautprofilen wider, welche ebenfalls eine höhere Standardabweichung der Dicke im Bereich der Subkutis aufweist. Dies ist auf die Unregelmäßigkeit der Haut speziell in dieser Schicht zurückzuführen. Die Unterscheide zwischen den Messungen unterscheiden sich signifikant voneinander, daher kann von einer schlechten Reproduzierung ausgegangen werden.

Zu der Qualität und dem physiologischen sinnvollen Gehalt der T2 Relaxationsmessung lassen sich folgende Problemstellungen anmerken:

- Die Messung hält nicht einen Zustand an einem Zeitpunkt fest, sondern sie ist viel mehr ein Mittel über die Dauer der Messung (neun Minuten pro Schicht). Demnach wird ein Mittel der physiologischen Reaktion gemessen und nicht dessen Verlauf an diskreten Zeitpunkten.
- Um Zeit bei dem Motorverfahrweg einzusparen, wird zuerst die Subkutis und dann die Dermis in einer Messung vermessen, da der Schrittmotor bei jedem Messablauf zur Positionskalibrierung in eine Lichtschranke fährt. Diese befindet sich in der nächstmöglichen Position zum Probanden, das bedeutet, der sensitive Bereich hat die maximale Eindringtiefe. Das hat zur Folge, dass die Dermis neun Minuten später vermessen wird, was die physiologische Reaktion dieser Schicht nicht direkt vergleichbar mit der der Subkutis macht.

Eine Messung der Relaxationsverteilung erscheint daher nur sinnvoll, wenn ein steady state erreicht ist.
Die Hauttemperatur zu überprüfen ist und gezielt Messungen bei gleicher oder veränderter Hauttemperatur durchzuführen, ist ein Ansatz für weitere Studien. Wir können hier nur vermuten, dass bereits geringe Temperaturschwankungen einen großen Einfluss auf die Kinetik der Teilchen haben und somit sich das Relaxationsverhalten ändert.

Um eine feinere Auflösung der Relaxationsverteilung zu erhalten, kann die Anzahl der Lösungspunkte der numerischen inversen Laplace Transformation erhöht werden. Dies führt jedoch zu einem starken Anstieg der Rechenzeit, welche etwa exponentiell steigt.

6.6 Schlussfolgerungen

Aufgrund der Referenzmessung mit dem Ultraschall liegt die Vermutung nahe, dass die Bestimmung der Schichtübergänge bei den Hautprofilen der NMR-MOUSE anders gewählt werden müssen. Dagegen sprechen jedoch die fast identischen Mittelwerte der NMR-MOUSE und die Angabe aus der Literatur durch die Ultraschallmessung nach Krackowizer & Brenner, wobei die Messung auf der Oberseite des Arms durchgeführt wurde. Daher ist der Vergleich mit der Referenzmessung relevanter und die Aussage der Überarbeitung der Schichtübergänge als zutreffend anzusehen.

Weiterhin besteht ein Unterschied im Messbereich. Die NMR-MOUSE erfasst einen Bereich für einen eindimensionalen Wert. Durch den Ultraschall wird ebenfalls ein Bereich erfasst, der aber innerhalb diesem durch die zweite Dimension weiter differenziert werden kann.
Der entscheidende Vorteil gegenüber der NMR-MOUSE besteht bei der Ultraschallmessung in der sehr schnellen Messung. Dies ermöglicht ein simultanes Überprüfen und Visualisieren des Messbereichs, so dass unmittelbar ein Urteil über die Güte oder Fehlerhaftigkeit einer Messung getroffen werden kann. Artefakte durch Bewegung des Arms spielen beim Ultraschall eine untergeordnete Rolle. Obgleich die Auflösung im Ultraschall niedriger ist, fallen die Standardabweichungen ähnlich aus.

Bei den Messungen zur Relaxometrie wird wiederholt die Inhomogenität der Subkutis deutlich. Im Bereich der Dermis sind vergleichsweise geringere Standardabweichungen zu finden. In beiden Schichten lassen sich jedoch keine gut reproduzierbaren Messungen durchführen. Die größten Nachteile bilden die lange Messzeit, durch die kein Verlauf von physiologischen Reaktionen erfasst werden kann und die unspezifische chemische Information über die tatsächliche materielle Beschaffenheit und Einlagerung in Folge von physiologischen Reaktionen.

Letztlich bleibt fraglich, ob die NMR-MOUSE trotz vieler Nachteile im Vergleich zu anderen Messsystemen wie dem Ultraschall sich erfolgreich als diagnostisches Gerät etablieren kann. Zu bedenken bleibt, dass diese Studie erst einen Ansatz für eine medizinische Untersuchung liefert. Es kann noch unbekanntes Potenzial verborgen bleiben.

6.7 Verbesserungen

Zusammenfassend müssen zwei Punkte bei der NMR-MOUSE verbessert werden:

- Messdauer
- Bewegungsartefakte

Bezüglich der Messdauer wird seitens der RWTH Aachen an einer Ortskodierung durch den natürlichen Gradienten des Permanentmagneten gearbeitet, so dass mit einem HF Puls eine breitere Schicht angeregt und durch Fourier Transformation ausgewertet werden kann. Dies funktioniert jedoch bislang auf Grund des nicht optimal linearen Gradienten erst bei Schichtdicken von 100 µm.
Die Rutschgefahr der Armunterlage kann durch Befestigung mit dem Gestell der NMR-MOUSE beseitigt werden. Die Bewegungsartefakte durch Armbewegung der Probanden kann mittels einer Armklammer z.B. am Handgelenk minimiert werden, wobei sich das Problem mit dem Druck auf die Haut und den Einfluss auf die Physiologie ergibt.
Zusätzlich müssen Bewegungsartefakte aller Art betrachtet werden, wie z.B. die Beinbewegung des Probanden, eine Bewegung des Tisches, die Resonanzfrequenz der startenden Flugzeuge des benachbarten Köln-Bonner Flughafens / des Militärflughafens. Letzteres kann durch einen Wiegetisch vermieden werden.

Schließlich kommt eine Beanstandung an die Programmierung von „Bruker Minispec“ hinzu. Diese besteht darin, dass beim Starten der Messung sich die MOUSE zuerst bis 5800µm („Mouse Going Home“) und danach zur vorgegebenen Tiefe („Mouse Going to Initial Position“) bewegt, was zur zusätzlichen Zeitverzögerung führt.

7 Ausblick

Mit der NMR-MOUSE als diagnostisches Werkzeug wird eine medizinische Doktorarbeit in Zusammenarbeit zwischen dem DLR, Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin und dem Universitätsklinikum Aachen folgen. Die Aufgabe wird darin bestehen, den sinnvollen medizinischen Einsatz der NMR-MOUSE an Dialyse-Patienten und Herzinsuffizienz-Patienten nachzuweisen und für eine weitere Etablierung der NMR-MOUSE als Medizinprodukt zu sorgen.

Eine geplante Veröffentlichung dieser Ergebnisse soll ermöglichen, dass andere Wissenschaftler Anregungen erhalten und eventuell nach weiteren Einsatzmöglichkeiten suchen oder vorhandene weiterverfolgen.

Quellen

(Blatter, 2009) Blatter C.: Komplexe Analysis, Fourier- und Laplace-Transformation für Ingenieure, ETH Zürich Department of mathematics, http://www.math.ethz.ch/~blatter/ (28.04.2010)

(Blümich & Casanova, 2006) Blümich B., Casanova F.: Modern Magnetic Resonance, Kapitel: Part 1: Applications in Chemistry, Biological and Marine Sciences, Kapitel: Mobile NMR, Springer Verlag, 2006, S. 373-382

(Blümich *et al.*, 2004) Blümich B., Anferova S., Pechnig R., Pape H., Arnold J., Clauser C.: Mobile NMR for porosity analysis of drill core sections, in: Journal of Geophysics and Engineering, Issue 1,2004 , S. 177-180

(Blümich *et al.*, 2005) Blümich B., Perlo J., Casanova F.: Profiles with microscopic resolution by single-sided NMR, in: Journal of Magnetic Resonance, Issue 176, 2005) S. 64-70

(Blümich *et al.*, 2006) Blümich B., Perlo J., Casanova F.: Modern Magnetic Resonance, Part 3: Applications in Materials Science and food Science, Kapitel: Advances in Single-Sided NMR, Springer Verlag, 2006, S. 1503-1507

(Blümich *et al.*, 2008) Blümich B., Perlo J., Casanova F.: Mobile single-sided NMR, Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscpoy Issue 52, 2008, S. 197-269

(Halliday *et al*, 2003) Halliday D., Resnick R., Walker J.: Physik, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 6.Auflage, 2003, S. 1180-1182, 1264

(Heuser, 2008) Heuser K.: Bestimmung relativer Flüssigkeitsverschiebung in der Dermis mit einem mobilen NMR-Sensor, Diplomarbeit, 2008, S.33, 39

(Jähne, 2005) Jähne B.: Digitale Bildverarbeitung, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 6.Auflage, 2005, S. 56-58

(Junqueira *et al*, 2005) Junqueira L.C., Carneiro J., Gratzl M.: Histologie, Springer Medizin Verlag Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 6.Auflage, 2005, S. 306-312

(Koskela *et al*, 2004) Koskela H., Ilkka Kilpeläinen I., Heikkinen S.: Evaluation of protein 15N relaxation times by inverse Laplace transformation, in: Magnetic Resonance in Chemistry, Issue 42, 2004, S. 61-65

(Krackowizer & Brenner, 2008) Krackowizer P., Brenner E.: Dicke der Epidermis und Dermis, in: Phlebologie 2008,Vol. 37, Issue 2, S. 83-92

(McDonald & Newling, 1998) McDonald P.J., Newling B.: Stray field magnetic resonance imaging, in: Reports on Progress in Physics, Issue 61, 1998, S. 1441–1493

(Provencher I, 1982) Provencher S.W.: A constrained regularization method for inverting data represented linear algebraic or integral equations, in: Computer Physics Communications, Issue 27, 1982, S. 213- 227

(Provencher II, 1982) Provencher S.W.: CONTIN: a general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations, in: Computer Physics Communications, Issue 27, 1982, S. 229-242

(www.nsbri.org, 2009) National Space Biomedical Research Institute: Human Physiology in Space: www.nsbri.org/HumanPhysSpace/indexb.html (29.10.2009)

(Schalla & Weiss, 1998) Schalla M., Weiss M.: Pharmacokinetic curve fitting using numerical inverse Laplace transformation, in: European Journal of Pharmaceutical Sciences, Issue 7, 1999, S. 305–309

(Schiebler *et al*, 1999) Schiebler T.H., Schmidt W., Zilles K.: Anatomie, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 8. Auflage, 1999, S. 205-209

(Schmidt & Thews, 1995) Schmidt R.F., Thews G.: Physiologie des Menschen, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 26. Auflage, 1995, S. 514-519, S. 780-791

(Stock *et al*, 1997) Stock W., Mäurer J., Felix R.: Zur Kenntnis der normalen Schnittbildanatomie der Haut in der hochauflösenden Magnetresonanztomographie, Der Hautarzt, Springer Verlag, Issue 48,1997, S. 26-30

(Weber, 2003) Weber H.: Laplace-Transformation : für Ingenieure der Elektrotechnik, Teubner Verlag, Stuttgart, Leipzig, Wiesbaden, 7.Auflage, 2003, S. 27-30 S. 31-96, S. 152-166

(Weishaupt *et al*, 2009) Weishaupt D., Köchli V. D., Marincek B.: Wie funktioniert MRI?: Eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanzbildgebung, Springer Verlag, Heidelberg, 6.Auflage, 2009, S. 1-20, S. 55-57

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: NMR-MOUSE mit Spektrometer und Vorverstärker 11
Abbildung 2: Schematische Darstellung der NMR-MOUSE 11
Abbildung 3: Magnetfeldgeometrie und Magnetfeldstärke 12
Abbildung 4: Saturation Recovery-Sequenz 13
Abbildung 5: CPMG Sequenz 14
Abbildung 6: Hautschichten 18
Abbildung 7: links: normaler Zustand. rechts: „puffy face" 21
Abbildung 8: Vorversuchsmessung der T1 Relaxation 27
Abbildung 9: NMR-MOUSE mit Armstütze und Haltegriff 28
Abbildung 10: Druckregelung für den venösen Stau 29
Abbildung 11: NMR-MOUSE Messung mit befestigtem HF Schirmungskabel: 31
Abbildung 12: NMR-MOUSE Auswertung der Hautprofile 32
Abbildung 13: Ultraschallmessung der Hautschichtdicke 35
Abbildung 14: CPMG Echozug einer Schicht in der Dermis 37
Abbildung 15: Darstellung der originalen Kurve und Relaxationsverteilung 40
Abbildung 16: NMR-MOUSE Auswertung der Hautprofile eines Probanden 42
Abbildung 17: NMR-MOUSE Hautprofile Proband K 45
Abbildung 18: NMR-MOUSE Messungen Proband 45
Abbildung 19: Übersicht der mittleren Hautdicken 49
Abbildung 20: Mittlere Relaxationsverteilung der 5 Probanden 50
Abbildung 21: Reproduktionsmessungen zur Relaxationsverteilung der Dermis..... 52
Abbildung 22: Reproduktionsmessungen zur Relaxationsverteilung der Subkutis ... 52
Abbildung 23: NMR-MOUSE Profil mit Bewegungsartefakt 55
Abbildung 24: Untypisches NMR-MOUSE Profil mit Ultraschallbild 56
Abbildung 25: Ultraschallbild mit deutlicher zapfenförmiger Subkutis 58
Abbildung 26: Ultraschallbild mit unscharfen Echos 59

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: T_1 Zeit Messung in unterschiedlichen Hauttiefen…….....27

Tabelle 2: NMR-MOUSE Ergebnisse.....43

Tabelle 3: NMR-MOUSE Mittelwerte der Differenzen……...…..…….…...44

Tabelle 4: Mittlere Ultraschall Messwerte…….....46

Tabelle 5: Mittlere Differenz zwischen den Methoden…….....47

Tabelle 6: Gepaarter T-Test zur Untersuchung signifikanter Änderung in der Schichtdicke zwischen normalen und stau Zustand …….47

Tabelle 7: Gepaarter T-Test zur Änderungsüberprüfung der relativen Relaxationsanteile……..…….51

Tabelle 8: NMR-MOUSE Schichtdicken…….74

Tabelle 9: NMR-MOUSE Messwerte mit Konfidenzintervall [µm]…….…….75

Tabelle 10: NMR-MOUSE Differenz zwischen normalem Zustand und Okklusion….76

Tabelle 11: Ultraschall Messergebnisse ……..…….77

Anhang

Tabelle 8: NMR-MOUSE Schichtdicken

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
B ref1	1250	1500
B ref2	1950	950
B ref3	1550	1600
B ref4	1300	1000
B ref5	1350	1150
B stau1	1800	2550
B stau2	2150	1950
B stau3	2600	1200
B stau4	1450	950
B stau5	1400	1350
C ref1	1200	3950
C ref2	1350	3800
C ref3	950	3050
C ref4	1250	3950
C ref5	1050	4150
C stau1	1750	3300
C stau2	1650	3450
C stau3	1050	3200
C stau4	1150	4100
C stau5	1100	4200

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
F ref1	1250	950
F ref2	1250	700
F ref3	1350	800
F ref4	1400	900
F ref5	1250	700
F stau1	1300	900
F stau2	1400	750
F stau3	1400	850
F stau4	1400	900
F stau5	1300	700
G ref1	1350	2550
G ref2	1200	2950
G ref3	1000	1750
G ref4	1200	2850
G ref5	1600	1700
G stau1	1050	3500
G stau2	1900	1750
G stau3	1500	900
G stau4	1550	2950
G stau5	900	1400

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
H ref1	1750	1450
H ref2	1250	2050
H ref3	1450	1800
H ref4	1750	1450
H ref5	1350	1900
H stau1	2050	1500
H stau2	1850	1700
H stau3	1750	1950
H stau4	1400	2000
H stau5	1450	950
I ref1	950	1800
I ref2	1200	1950
I ref3	800	1750
I ref4	850	1850
I ref5	900	1950
I stau1	900	1950
I stau2	950	2300
I stau3	850	1750
I stau4	850	1850
I stau5	900	2100

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
D ref1	1150	900
D ref2	1150	1550
D ref3	1450	2300
D ref4	1150	850
D ref5	1100	1150
D stau1	1100	1250
D stau2	1300	1700
D stau3	1650	2700
D stau4	1150	800
D stau5	1100	1200
E ref1	1550	950
E ref2	1200	3900
E ref3	1300	800
E ref4	1100	750
E ref5	1200	1150
E stau1	1000	2050
E stau2	1450	2200
E stau3	1400	750
E stau4	1200	800
E stau5	1300	800

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
J ref1	1000	1650
J ref2	1550	1750
J ref3	1000	2000
J ref4	1000	1750
J ref5	1100	1350
J stau1	1150	2200
J stau2	1300	2100
J stau3	1000	1750
J stau4	1100	1650
J stau5	1100	1500
K ref1	1000	950
K ref2	1000	1050
K ref3	1100	1050
K ref4	900	1200
K ref5	1050	1050
K stau1	1000	1050
K stau2	1100	1100
K stau3	1200	1150
K stau4	950	1450
K stau5	1100	1200

Tabelle 9: NMR-MOUSE Messwerte mit Konfidenzintervall [µm]

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
B ref1	1250	1500
B ref2	1950	950
B ref3	1550	1600
B ref4	1300	1000
B ref5	1350	1150
unteres Konf.	1391	1148
oberers Konf.	1569	1332

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
F ref1	1250	950
F ref2	1250	700
F ref3	1350	800
F ref4	1400	900
F ref5	1250	700
unteres Konf.	1278	775
oberers Konf.	1322	845

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
C ref1	1200	3950
C ref2	1350	3800
C ref3	950	3050
C ref4	1250	3950
C ref5	1050	4150
unteres Konf.	1110	3647
oberers Konf.	1210	3913

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
G ref1	1350	2550
G ref2	1200	2950
G ref3	1000	1750
G ref4	1200	2850
G ref5	1600	1700
unteres Konf.	1201	2174
oberers Konf.	1339	2546

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
D ref1	1150	900
D ref2	1150	1550
D ref3	1450	2300
D ref4	1150	850
D ref5	1100	1150
unteres Konf.	1156	1164
oberers Konf.	1244	1536

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
H ref1	1750	1450
H ref2	1250	2050
H ref3	1450	1800
H ref4	1750	1450
H ref5	1350	1900
unteres Konf.	1438	1646
oberers Konf.	1582	1814

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
E ref1	1550	950
E ref2	1200	3900
E ref3	1300	800
E ref4	1100	750
E ref5	1200	1150
unteres Konf.	1217	1092
oberers Konf.	1323	1928

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
I ref1	950	1800
I ref2	1200	1950
I ref3	800	1750
I ref4	850	1850
I ref5	900	1950
unteres Konf.	892	1832
oberers Konf.	988	1888

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
J ref1	1000	1650
J ref2	1550	1750
J ref3	1000	2000
J ref4	1000	1750
J ref5	1100	1350
unteres Konf.	1056	1627
oberers Konf.	1204	1773

Proband	Dicke Dermis	Dicke Subcutis
K ref1	1000	950
K ref2	1000	1050
K ref3	1100	1050
K ref4	900	1200
K ref5	1050	1050
unteres Konf.	987	1032
oberers Konf.	1033	1088

Tabelle 10: NMR-MOUSE Differenz zwischen normalem Zustand und Okklusion

Differenz	[µm]		
Proband	Dermis	Subcutis	Gesamt
B1	550	1050	1600
B2	200	1000	1200
B3	1050	-400	650
B4	150	-50	100
B5	50	200	250
C1	550	-650	-100
C2	300	-350	-50
C3	100	150	250
C4	-100	150	50
C5	50	50	100
D1	-50	350	300
D2	150	150	300
D3	200	400	600
D4	0	-50	-50
D5	0	50	50
E1	-550	1100	550
E2	250	-1700	-1450
E3	100	-50	50
E4	100	50	150
E5	100	-350	-250
F1	50	-50	0
F2	150	50	200
F3	50	50	100
F4	0	0	0
F5	50	0	50
G1	-300	950	650
G2	700	-1200	-500
G3	500	-850	-350
G4	350	100	450
G5	-700	-300	-1000
H1	300	50	350
H2	600	-350	250
H3	300	150	450
H4	-350	550	200
H5	100	-950	-850
I1	-50	150	100
I2	-250	350	100
I3	50	0	50
I4	0	0	0
I5	0	150	150
J1	150	550	700
J2	-250	350	100
J3	0	-250	-250
J4	100	-100	0
J5	0	150	150
K1	0	100	100
K2	100	50	150
K3	100	100	200
K4	50	250	300
K5	50	150	200

Tabelle 11: Ultraschall Messergebnisse

	1. Messreihe [cm] Dermis	Subkutis	Gesamt	2. Messreihe [cm] Dermis	Subkutis	Gesamt
B	0,18/0,18/0,18	0,08/0,05/0,13	0,26/0,24/0,30	0,13/0,15/0,17	0,09/0,07/0,05	0,21/0,22/0,22
C	0,12/0,12/0,18	0,24/0,24/0,19	0,37/0,37/0,37	0,13/0,15/0,18	0,29/0,30/0,33	0,42/0,46/0,50
D	0,11/0,14/0,11	0,11/0,14/0,06	0,22/0,27/0,19	0,12/0,13/0,13	0,07/0,09/0,09	0,21/0,22/0,22
E	0,14/0,15/0,17	0,09/0,09/0,07	0,23/0,24/0,24	0,16/0,17/0,18	0,08/0,07/0,07	0,25/0,25/0,25
F	0,16/0,14/0,12	0,07/0,08/0,07	0,22/0,22/0,20	0,14/0,15/0,13	0,08/0,07/0,07	0,23/0,24/0,20
G	0,16/0,18	0,12/0,18	0,3	keine		
H	0,14/0,15/0,14	0,17/0,16/0,18	0,31/0,32/0,31	0,13/0,17/0,17	0,19/0,14/0,3	0,32/0,32/0,47
I	0,16/0,17/0,14	0,19/0,19/0,15	0,35/0,35/0,28	0,11/0,13/0,16	0,17/0,13/0,16	0,31/0,29/0,32
J	0,1/0,09/0,09	0,2/0,21/0,21	0,2/0,21/0,22	0,1/0,15/0,1	0,14/0,13/0,18	0,23/0,27/0,27
K	0,11/0,12/0,11	0,12/0,08/0,11	0,23/0,20/0,22	0,12/0,11/0,12	0,14/0,09/0,1	0,26/0,21/0,23

MatLab: NMR-MOUSE Auswertungsprogramm

```
clear all
clc
[A, B]=xlsread('Übersicht\F_integral.xls');

depth=A(:,1); %Spalte 1 aus Matrix A
wert=A(:,9);  %Spalte 3 aus Matrix A
% ref-Messung: Spalte 3-7
% stau-Messung: Spalte 9-13

x=(0.04:0.01:1.10);      %Laufindex
h=ones(1,9);             %Faltungsvektor
f2=h./sum(h);            %Normierung
f3=conv(wert,f2);        %Faltung

dx=diff(x);                  %Ableitung Index
dwert=diff(f3)/(-3*x(1));    %1.Ableitung
f4=conv(dwert,f2);           %Faltung der 1. Ableitung
ddwert=diff(f4)/(-3*x(1));   %2.Ableitung
f5=conv(ddwert,f2);          %Faltung der 2. Ableitung

% Beschneiden der geglätteten Ableitungen (Vorlaufteil)
f3=f3(5:end-4);
f4=f4(8:end-8);
f5=f5(11:end-12);
```

```
% Wendestellen
wst=sign(f5);          %Signum Fkt.
ind_wst(1,:)=find(wst~=[wst(1); wst(1:end-1)]);      %Vorzeichenwechsel

% figure (1)
% hold on;
% plot(depth, wert,'k')
% plot(depth,f3) %geglättete Fkt. um verlängerten Teil beschnitten
% grid on;
% xlabel('x Achse[mm]');
% ylabel('y Achse[Intensität]');
% hold off;
% legend('f','f geglättet','Location','NorthWest');

figure (2)
hold on;
plot(depth, wert,'m')
plot(depth, f3,'k')
plot(depth, f4)
plot(depth, f5, 'r')
plot(depth(ind_wst),f3(ind_wst),'bS');
grid on;
xlabel('x Achse[mm]');
ylabel('y Achse[Intensität]');
hold off;
legend('f','f geglättet','f''','f''''','Wendepunkte','Location','NorthWest');
```

MatLab: NMR-MOUSE Datenplot

```
clear all
clc
A=xlsread('Übersicht\D_integral.xls');
% ref-Messung: Spalte 3-7
% stau-Messung: Spalte 9-13
depth=A(:,1);
ref1=A(:,3);
ref2=A(:,4);
ref3=A(:,5);
ref4=A(:,6);
ref5=A(:,7);
stau1=A(:,9);
stau2=A(:,10);
stau3=A(:,11);
stau4=A(:,12);
stau5=A(:,13);

figure (1)
SUBPLOT(1,2,1)
```

```
hold on;
plot(depth, ref1,'k')
plot(depth, ref2)
plot(depth, ref3,'r')
plot(depth, ref4,'m')
plot(depth, ref5,'g')
grid on;
xlabel('x Achse[mm]');
ylabel('y Achse[Intensität]');
hold off;
SUBPLOT(1,2,2)
hold on;
plot(depth, stau1,'k')
plot(depth, stau2)
plot(depth, stau3,'r')
plot(depth, stau4,'m')
plot(depth, stau5,'g')
grid on;
xlabel('x Achse[mm]');
ylabel('y Achse[Intensität]');
hold off;
```

Eigenständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel verfasst habe.

.....	.....
DATUM	UNTERSCHRIFT