

**Entwicklung und erste Validierung eines  
innovativen Analysen-Tools für präklinische  
Bewertungen von PET-Radiopharmazeutika zur *in vivo*  
Untersuchungen neurologischer Erkrankungen**

**Development and initial validation of an innovative  
analytical tool for preclinical evaluations of PET  
radiopharmaceuticals for *in vivo* investigation of  
neurological disease**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades „Ph.D.“  
der Graduate School of Life Sciences,

Julius-Maximilians-Universität Würzburg,

Klasse Biomedizin

Vorgelegt von

**Fabian Schadt**

aus

**Nürnberg**

Würzburg, 2021



**Eingereicht am:** .....  
Bürostempel

**Mitglieder des Promotionskomitees:**

**Vorsitzende:** Prof. Dr. Carmen Villmann

**1. Betreuer:** Univ.-Prof. Dr. rer. medic. Samuel Samnick

**2. Betreuer:** Univ.-Prof. Dr. med. Dr. Dipl. Phys. Wolfgang Bauer

**3. Betreuer:** Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Peter Jakob

**Tag des Promotionskolloquiums:** .....

**Doktorurkunden ausgehändigt am:**

.....

# Inhaltsverzeichnis

<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>I</b>
<b>Summary</b> .....	<b>III</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Grundlagen der PET .....	2
1.1.1 Physikalische Grundlagen.....	2
1.1.1.1 Strahlungsarten .....	3
1.1.1.2 Strahlungseigenschaften .....	4
1.1.1.3 PET-Radiopharmaka .....	6
1.1.2 Aufbau und Funktionsweise eines Positronenemissionstomographen .....	7
1.1.2.1 Detektion von $\beta$ +-Zerfallsprozessen.....	8
1.1.2.2 Datenakquisition .....	10
1.1.2.3 Bildoptimierungsverfahren .....	12
1.1.2.4 Bildrekonstruktion .....	12
1.2 Bildverarbeitung und Bildauswertung .....	15
1.2.1 Registrierungsverfahren .....	15
1.2.2 Interpolation .....	16
1.2.3 VOI-Segmentierung.....	17
1.3 Der Schlaganfall .....	19
<b>2 Problemstellung und Zielsetzung</b> .....	<b>21</b>

<b>3</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>25</b>
3.1	Materialien .....	25
3.1.1	Verwendete Geräte und Versuchsutensilien .....	25
3.1.2	Software .....	27
3.1.3	Versuchstiere .....	29
3.1.4	Radiopharmaka.....	29
3.2	Methoden.....	30
3.2.1	Versuch A - Subarachnoidalblutung in Ratten.....	30
3.2.2	Versuch B - Ischämischer Schlaganfall in Ratten.....	31
3.2.3	Durchführung der $\mu$ -PET-Messungen .....	32
3.2.4	[ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan-Testdaten.....	34
3.3	Struktur des NU_DPA-Programms .....	36
3.3.1	Übersicht der NU_DPA-Skripte .....	36
3.3.2	Funktionsweise des Datenanalyse-Programms .....	38
3.3.2.1	Datenaufbereitung .....	38
3.3.2.2	Datenausrichtung.....	42
3.3.2.3	Datenquantifizierung und statistische Auswertung .....	50
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>53</b>
4.1	[ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET Versuchsdaten .....	53
4.1.1	Versuch A - SAB-Datenreihe.....	58
4.1.2	Versuch B - PT-Datenreihe .....	62
4.2	[ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan-PET Testdaten .....	66

<b>5</b>	<b>Diskussion und Ausblick .....</b>	<b>71</b>
5.1	Das NU_DPA-Programm.....	71
5.1.1	Das NU_DPA-Programm im Überblick.....	71
5.1.2	Das NU_DPA-Programm im Vergleich zu anderen Auswertungsprogrammen .....	72
5.1.2.1	Anmerkungen zu bestehenden Datenauswertungs-Programmen ...	72
5.1.2.2	Atlas-basierte Auswertung mit dem NU_DPA-Programm .....	74
5.1.2.3	VOI-Segmentierung und (PET-)Templates bei der Auswertung mit NU_DPA.....	76
5.1.2.4	Datenauswertung mit dem NU_DPA-Programm.....	76
5.1.3	Limitierungen und Ausblick des NU_DPA-Programms.....	78
5.2	Interpretation der Datenreihen.....	79
5.2.1	Diskussion der SAB-Ergebnisse von Versuch A .....	79
5.2.2	Diskussion der PT-Ergebnisse von Versuch B.....	81
5.2.3	Target-spezifische PT-Testdaten .....	82
<b>6</b>	<b>Abschließendes Fazit .....</b>	<b>84</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>85</b>
	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>90</b>
	<b>Publikationen.....</b>	<b>92</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung .....</b>	<b>93</b>
	<b>Affidavit.....</b>	<b>93</b>
	<b>Danksagung.....</b>	<b>94</b>



# Zusammenfassung

Die präklinische Forschung stellt den ersten wichtigen Meilenstein in der Klärung und Untersuchung klinisch-relevanter Erkrankungen dar. Darüber hinaus unterstützt die präklinische Forschung erheblich die Entwicklung von Therapien. Die Kleintier-Positronenemissionstomographie ( $\mu$ -PET) spielt dabei eine wichtige Rolle, da sie in der Lage ist, funktionelle, physiologische und biochemische Prozesse *in vivo* darzustellen und zu quantifizieren. Trotz diverser etablierter PET-Datenauswertungs-Programme bleibt die Analyse von *in vivo* akquirierten Bilddaten aufgrund der Vielzahl an medizinischen Fragestellungen, der Komplexität der Krankheitsbilder, sowie der Etablierung neuer Radiotracer weiterhin eine große Herausforderung in der Medizin. Ziel dieser Doktorarbeit ist es daher, ein geeignetes, brauchbares Auswertungstool für eine einfache und effiziente Analyse von akquirierten  $\mu$ -PET-Daten zu entwickeln und zu etablieren, welches das Spektrum bereits vorhandener Programme erweitert. Das entwickelte nuklearmedizinische Datenverarbeitungs-Analyseprogramm (engl. *nuclear medicine data processing analysis tool*, NU\_DPA) wurde in Matlab implementiert und anhand dreier präklinischer Versuchs- bzw. Testreihen erprobt und etabliert. Bei den Datenreihen handelt es sich um  $\mu$ -PET-Datensätze verschiedener Schlaganfall-Rattenhirnmodelle unter Verwendung folgender Radiotracer. Zum einen die im Gehirn homogen akkumulierende 2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluor-2-desoxy-glukose ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG) zum anderen das spezifisch an P-Selektin anreichernde [ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan.

Das NU\_DPA umfasst die automatische Selektion des Zielvolumens (*volume-of-interest*, VOI) aus dem vollständigen PET-Bild und die anschließende Ausrichtung des VOI mit Hilfe eines PET-Templates (gemittelter PET-Datensatz). Dieses PET Template wird aus den eigenen akquirierten PET-Daten erstellt. Durch das Einbinden eines geeigneten anatomischen MRT-Atlas' (anpassbar) können die ausgerichteten PET-Daten einzelnen, Atlas-spezifischen Teilregionen zugeordnet werden. Eine solche Subklassifikation des VOI erlaubt eine genauere Betrachtung und Auswertung der Radiotracer-Akkumulation.

Des Weiteren bietet NU\_DPA die Möglichkeit einer semiquantitativen Auswertung der PET-Bilddaten anhand von drei unterschiedlichen Parametern,

der normalisierten Aktivität, dem *Standardized Uptake Value* und der *Uptake Ratio*. Durch die Matlab-integrierten Statistik-Algorithmen ist zusätzlich eine Möglichkeit der statistischen Auswertung der zuvor berechneten Parameter gegeben. Das NU\_DPA-Programm stellt somit ein semi-automatisiertes Datenauswertungs-Programm dar, das sowohl die Registrierung als auch die semiquantitative Auswertung von PET-Bilddaten innerhalb einer Versuchsreihe ermöglicht und bereits erfolgreich für die Radiotracer [<sup>18</sup>F]FDG und [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan in Tiermodellen getestet wurde. Nach derzeitigem Kenntnisstand ist kein Datenauswertungs-Programm bekannt, das PET-Bilddaten unter Verwendung des hinzugefügten Atlas' semi-automatisiert analysieren kann und potenziell für homogene und Target-spezifisch akkumulierende Radiotracer geeignet ist.

# Summary

Preclinical research represents the first important milestone in the clarification and investigation of clinically relevant diseases. In addition, preclinical research significantly supports the development of therapies. Small animal positron emission tomography ( $\mu$ -PET) plays an important role in this context, as it is able to image and quantify functional, physiological and biochemical processes *in vivo*. Despite various established  $\mu$ -PET data analysis programs, the analysis of *in vivo* acquired image data remains a major challenge in medicine due to the multitude of medical questions, the complexity of disease patterns, and the establishment of new radiotracers. Therefore, the aim of this PhD thesis is to develop and establish a suitable, usable evaluation tool for a simple and efficient analysis of acquired  $\mu$ -PET data, which extends the spectrum of already existing programs. The developed *nuclear medicine data processing analysis tool* (NU\_DPA) was implemented in Matlab and tested and established on the basis of three preclinical experimental or test series. The data series are  $\mu$ -PET datasets of different stroke rat brain models using the following radiotracers: 2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-2-deoxy-glucose ( $^{18}\text{F}$ FDG), which accumulates homogeneously in the brain and [ $^{68}\text{Ga}$ ]fucoidan, which specifically accumulates at p-selectin.

The NU\_DPA involves automatic segmentation of a volume-of-interest (VOI) from the full PET image and the subsequent alignment of the VOI using a PET template (averaged PET dataset). This PET template is created from the own acquired PET data. By embedding a suitable anatomical MR atlas (customizable), the aligned PET data can be assigned to individual atlas-specific sub-regions. Such a sub-classification of the VOI allows a more detailed analysis and evaluation of the radiotracer accumulation.

Furthermore, NU\_DPA offers the possibility of a semi-quantitative evaluation of the PET image data based on three different parameters, the normalized activity, the standardized uptake value and the uptake ratio. The Matlab-integrated statistical algorithms provide an additional option for statistical evaluation of the previously calculated semi-quantitative parameters. The NU\_DPA program thus represents a semi-automatic data evaluation program that enables both the registration and the semi-quantitative evaluation of PET image data within a

series of experiments and it has already been successfully tested for the radiotracers [ $^{18}\text{F}$ ]FDG and [ $^{68}\text{Ga}$ ]fucoidan in animal models. To the best of our current knowledge, there is no known data analysis program that can semi-automatically analyze PET image data using the added atlas and is potentially suitable for homogeneous and target-specific accumulating radiotracers.

# Abkürzungsverzeichnis

<b>AMIDE</b>	<b>A</b> mides a <b>M</b> edical <b>I</b> mage <b>D</b> ata <b>E</b> xaminer
<b>A<sub>N</sub></b>	<b>N</b> ormalisierte <b>A</b> ktivität
<b>Bq</b>	<b>B</b> ecquerel
<b>CT</b>	<b>C</b> omputertomographie
<b>eV</b>	<b>E</b> lektronenvolt
<b>[<sup>18</sup>F]FDG</b>	2- <sup>[18F]</sup> <b>F</b> luor-2- <b>d</b> esoxy- <b>g</b> lukose
<b>LOR</b>	Antwortgerade (engl. <i>Line of response</i> )
<b>MIRT</b>	<b>M</b> edical <b>I</b> mage <b>R</b> egistration <b>T</b> oolbox
<b>MLR</b>	mesencephalischer Bewegungsapparat (engl. <i>Mesencephalic locomotor region</i> )
<b>MM</b>	<b>M</b> ehrfach <b>m</b> essungen (engl. <i>Multiple measurements</i> )
<b>MRT</b>	<b>M</b> agnetresonanztomographie
<b>NN-Interpolation</b>	Interpolation des <b>n</b> ächsten <b>N</b> achbarn (engl. <i>Nearest neighbor interpolation</i> )
<b>NU_DPA</b>	Nuklearmedizinisches Datenverarbeitungs-Analyseprogramm (engl. <i>Nuclear medicine data processing analysis tool</i> )
<b>OSEM2D / OSEM3D</b>	<b>O</b> rdered <b>s</b> ubsets <b>e</b> xpectation <b>m</b> aximization <b>2D / 3D</b>
<b>PET</b> <b>μ-PET</b>	<b>P</b> ositronen <b>e</b> mission <b>s</b> tomographie Kleintier- <b>P</b> ositronen <b>e</b> mission <b>s</b> tomographie
<b>PT</b>	<b>P</b> hoto <b>t</b> hrombose
<b>SAB</b>	<b>S</b> ubarachnoidale <b>B</b> lutung (engl. <i>Subarachnoid hemorrhage, SAH</i> )
<b>SAMIT</b>	<b>S</b> mall <b>A</b> nimal <b>M</b> olecular <b>I</b> maging <b>T</b> oolbox
<b>SPECT</b>	Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (engl. <i>Single-photon emission computed tomography</i> )
<b>SUV</b>	<b>S</b> tandardized <b>U</b> ptake <b>V</b> alue
<b>UR</b>	<b>U</b> ptake <b>R</b> atio
<b>VOI</b>	Zielvolumen (engl. <i>Volume-of-interest</i> )

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1 - Ionisationsprozess .....	2
Abbildung 1.2 - Annihilationsprozess.....	5
Abbildung 1.3 - Schematische Darstellung des Ablaufs einer PET-Aufnahme ...	8
Abbildung 1.4 - Schematische Darstellung eines Photomultipliers mit Szintillationskristall .....	9
Abbildung 1.5 - Arten von (Koinzidenz-)Ereignissen.....	11
Abbildung 1.6 - Schematische Darstellung der iterativen Bild-Rekonstruktion..	14
Abbildung 1.7 - Lineare Interpolation und Interpolation des nächsten Nachbarn.....	17
Abbildung 1.8 - Hilfsstrukturen zur VOI-Segmentierung .....	19
Abbildung 3.1 - Erzeugung einer SAB mittels einer endovaskulären Punktion .	30
Abbildung 3.2 - Erzeugung einer Photothrombose mittels Bengalrosa .....	31
Abbildung 3.3 - Schematischer Verlauf der NU_DPA-Verarbeitungsschritte ....	38
Abbildung 3.4 - Lineare Interpolation des MRT-Atlas' .....	40
Abbildung 3.5 - Schematische Darstellung der Ausrichtung der PET-Daten auf dem PET-Template. ....	48
Abbildung 3.6 - Aufgliederung in die möglichen statistischen Testverfahren ....	52
Abbildung 4.1 - VOI-Segmentierung bei [ <sup>18</sup> F]FDG .....	54
Abbildung 4.2 - [ <sup>18</sup> F]FDG-PET-Template aus Versuch A und dessen automatisch segmentiertes VOI.....	54
Abbildung 4.3 - Beispiel eines optionalen 2. PET-Templates .....	55
Abbildung 4.4 - Prozess der Co-Registrierung.....	56
Abbildung 4.5 - Boxplot-Beispieldarstellung zur Überprüfung der semiquan- titativen Parameter auf Ausreißer bzw. Extremwerte. ....	57
Abbildung 4.6 - QQ-Plot-Beispieldarstellung zur visuellen Überprüfung der berechneten semiquantitativen Parameter auf Normalverteilung. ....	57
Abbildung 4.7 - Beispieldarstellungen des zeitlichen Verlaufs bei Mehrfachmessungen .....	58
Abbildung 4.8 - Visuelle Überprüfung der Ausprägungen der Photothrombosen .....	65
Abbildung 4.9 - VOI-Segmentierung bei [ <sup>68</sup> Ga]Fucoidan .....	67

Abbildung 4.10 - [ <sup>68</sup> Ga]Fucoidan-PET-Template und dessen automatisch segmentiertes VOI.....	68
Abbildung 4.11 - Visualisierung einer rigiden Registrierung von zwei [ <sup>68</sup> Ga]Fucoidan-Bilddatensätzen.....	69
Abbildung 4.12 - [ <sup>68</sup> Ga]Fucoidan-Template mit Schlaganfall-Läsion nach Co-Registrierung mit dem MRT-Atlas.....	70



# 1 Einleitung

Trotz aller technischen Fortschritte und großen Errungenschaften der letzten Jahre sind viele medizinische Fragestellungen und Krankheitsbilder nach wie vor unzureichend verstanden. Präklinische Forschung soll dabei helfen, klinisch relevante Aspekte unter anderem anhand von Tiermodellen erforschen und genauer verstehen zu können. Aufgrund der evolutionären Entwicklung weisen zum Beispiel die orthologen Gensequenzen im Rattengenom der Labormaus (*Rattus norvegicus*) vom Stamm der braunen Wanderratte gewisse Analogien zu den menschlichen Genen auf [1]. Dies gilt unter anderem auch für viele menschliche Gensequenzen von denen bekannt ist, dass sie mit Krankheiten in Verbindung stehen. Unter strengen Auflagen ist es daher erlaubt, Tiermodelle bei der Erforschung klinisch relevanter Aspekte einzusetzen. In diesem Zusammenhang sind zudem bildgebende Verfahren und eine adäquate Bildverarbeitung von großer Bedeutung.

Äquivalent zur Humandiagnostik gibt es in der präklinischen Forschung sowohl monomodale bildgebende Systeme wie z.B. die Magnetresonanztomographie (MRT), die Computertomographie (CT) oder die Positronenemissionstomographie (PET), als auch multimodale Hybrid-Systeme (z.B. PET/CT oder PET/MR). Zur Differenzierung und zur Vermeidung möglicher Verwechslungen, wird bei präklinischen bildgebenden Systemen der Kleintierbildgebung der griechische Buchstabe  $\mu$  vorangesetzt. Bezüglich ihres strukturellen Aufbaus bzw. ihrer physikalisch-technischen Funktionsweise sind die  $\mu$ -Systeme dabei durchaus mit den in der Humandiagnostik verwendeten Geräten vergleichbar. Die Daten, die im Rahmen dieser Dissertation bearbeitet und ausgewertet wurden, wurden mit Hilfe eines monomodalen  $\mu$ -PET-Gerätes akquiriert.

Um die Hintergründe und Ziele dieser Dissertation besser verstehen zu können, soll dieses Kapitel eine kurze Einführung in die Themengebiete der Positronenemissionstomographie und der Bildverarbeitung liefern. In diesem Zusammenhang werden zunächst einige für die PET-Bildgebung entscheidende physikalische Grundlagen erläutert. Im Anschluss folgt eine kurze Ausführung zum Systemaufbau eines PET bis hin zur Erzeugung von PET-Bilddaten.

Abschließend werden noch einige in dieser Dissertation relevante Informationen zur Bildverarbeitung sowie zu den untersuchten Krankheitsmodellen ausgeführt. Für tiefere Informationen zu PET und Bildverarbeitung wird auf weiterführende Literaturen, wie z.B. [2-5], verwiesen.

## 1.1 Grundlagen der PET

### 1.1.1 Physikalische Grundlagen

Der Begriff „Strahlung“ bezeichnet „den nicht an Medien gebundenen Energie- und Massentransport“ [2]. Dieser Energie-/Massetransport durch den Raum ist vom Ausbreitungsmedium unabhängig und existiert somit auch im Vakuum. Basierend auf der Fähigkeit, Elektronen durch Energiezufuhr aus den Atomhüllen von Stoffen (wie z.B. Gasen) direkt oder über Folgeprozesse herauszulösen, werden zwei Arten von Strahlung unterschieden: nichtionisierende und ionisierende Strahlung. Nichtionisierende Strahlung, wie z.B. Radiowellen, ist aufgrund ihrer zu geringen Energie nicht in der Lage, ein Elektron aus der Elektronenhülle eines Atoms herauszulösen und dieses zu ionisieren. Ein Ionisationsprozess liegt dann vor, wenn (ionisierende) Strahlung mit Materie in Wechselwirkung tritt und dabei durch Energieübertragung ein Elektron aus der Elektronenhülle herauslöst (Abbildung 1.1).

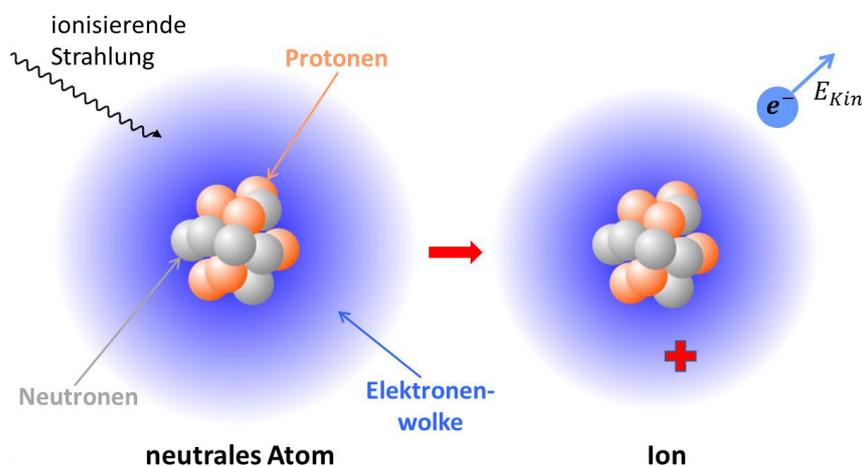


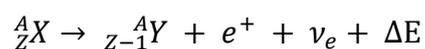
Abbildung 1.1 - Ionisationsprozess: Löst ionisierende Strahlung beim Auftreffen auf ein Atom ein Elektron aus der Elektronenhülle, handelt es sich um einen Ionisationsprozess. Dabei wird kinetische Energie auf das Elektron übertragen und aus dem neutralen Atom wird, aufgrund des fehlenden negativ geladenen Elektrons, ein positiv geladenes Ion (modifiziert nach [6]).

Für Wasserstoff (H<sub>2</sub>) bzw. für Sauerstoff (O<sub>2</sub>) liegt die Strahlenenergie, die für solch eine Ionisationsarbeit benötigt wird, bei 13,6 eV bzw. 30,9 eV [7]. Ein Elektronenvolt (eV) beträgt  $\approx 1,6022 \cdot 10^{-19} \frac{\text{kg m}^2}{\text{s}^2}$ . Dies entspricht genau der Veränderung an kinetischer Energie, die auf ein Elektron durch die Beschleunigung durch 1 Volt elektrische Potentialdifferenz übertragen wird.

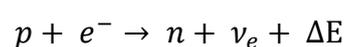
### 1.1.1.1 Strahlungsarten

Nach heutigem Kenntnisstand werden drei Arten ionisierender Strahlung unterschieden: alpha-, beta- und gamma-Strahlung ( $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Strahlung). Diese Strahlungsarten entstehen beim Zerfall instabiler Atomkerne, sogenannter Radionuklide. Die Bezeichnung Nuklid beschreibt einen durch Massenzahl  $A$  (Nukleonenzahl, bestehend aus der Summe an Protonen  $Z$  und Neutronen  $N$ ) und Kernladungszahl  $Z$  (Protonenzahl) eindeutig charakterisierten Atomkern und wird im Allgemeinen wie folgt angegeben:  ${}^A_ZX$ , wobei  $X$  für das entsprechende chemische Element steht und  $A = Z + N$  entspricht. Radionuklide unterliegen im Gegensatz zu stabilen Nukliden einem spontanen Zerfallsprozess, das heißt ein Mutternuklid  $X$  wandelt sich ohne äußere Einwirkung unter Abgabe ionisierender Strahlung in ein Tochternuklid  $Y$  um.

Speziell der  $\beta^+$ -Zerfall ist für die vorliegende Arbeit der relevante Zerfallsprozess, da er die grundlegende Voraussetzung für die PET bildet. Der Zerfallsprozess tritt bei Neutronendefizit auf, das heißt bei Zerfall wandelt sich ein Proton, unter Aussendung eines Positrons  $e^+$ , eines Elektron-Neutrinos  $\nu_e$  sowie der Energie  $\Delta E$ , in ein Neutron um. Die Massenzahl  $A$  ändert sich bei der Umwandlung von Mutter- zu Tochternuklid nicht, die Protonenzahl  $Z$  hingegen reduziert sich um den Wert 1.



Zum  $\beta^+$ -Zerfall gibt es einen konkurrierenden Prozess, den Elektroneneinfang. Bei einem Elektroneneinfang, auch  $\epsilon$ -Zerfall genannt, fängt der Atomkern ein Elektron  $e^-$  aus einer der ihn umgebenden Schalen ein. Bei diesem Prozess wird ein Proton unter Abgabe eines Neutrinos  $\nu_e$  und der Energie  $\Delta E$  in ein Neutron umgewandelt.



$\beta$ -Strahlung sowie  $\alpha$ -Strahlung zerfällt unter Aussendung geladener Teilchen (Teilchenstrahlung). Durch Übertragung ihrer kinetischen Energie sind die geladenen Teilchen in der Lage, Ionisationsvorgänge direkt hervorzurufen. Somit gehören  $\alpha$ - und  $\beta$ -Strahlung zur Gruppe der direkt ionisierenden Strahlung.  $\gamma$ -Strahlung (Wellenstrahlung) hingegen benötigt zum Hervorrufen von Ionisationsvorgängen geladene Sekundärteilchen, welche z.B. durch Wechselwirkungen von Quanten entstehen. Daher handelt es sich bei  $\gamma$ -Strahlung um indirekt ionisierende Strahlung.

### 1.1.1.2 Strahlungseigenschaften

#### Aktivität

Jeder radioaktive Stoff besitzt eine Aktivität, die angibt, wie oft ein Zerfallsprozess pro Zeiteinheit stattfindet. Die SI-Maßeinheit der Aktivität nennt sich *Becquerel* (Bq) und ist definiert als ein Zerfall pro Sekunde ( $1 \text{ Bq} = 1 \frac{\text{Zerfall}}{\text{s}}$ ).

#### Annihilation

In der Strahlenphysik werden je nach Energie der Photonen, fünf verschiedene Wechselwirkungsprozesse von Gammaquanten mit Materie unterschieden: Die klassische Streuung, der Photoeffekt, der Compton-Effekt, der Paarbildungseffekt und die Kernphotoreaktion [2]. Der entscheidende, physikalische Effekt in der PET beruht auf dem Pendant des Paarbildungseffekts und wird Paarvernichtung bzw. Annihilation genannt. Das durch einen  $\beta^+$ -Zerfall erzeugte Positron besitzt in Materie nur eine sehr kurze Reichweite und Überlebensdauer, bevor es durch Rekombination mit einem Hüllelektron eines in Nachbarschaft befindlichen Atoms wieder ausgelöscht wird. Tabelle 1.1 führt diesbezüglich die Kenngrößen für die in dieser Dissertation relevanten Radionuklide auf [8].

**Tabelle 1.1 - Kenngrößen der Radionuklide  $^{18}\text{F}$  und  $^{68}\text{Ga}$  [8]**

Radionuklid	Halbwertszeit $t_{1/2}$	Max. $\beta^+$ -Reichweite in Wasser [in mm]	$\emptyset$ $\beta^+$ -Reichweite in Wasser [in mm]	Anteil an $\beta^+$ -Zerfällen (und sofortiger $\gamma$ -Quanten) [in %]
$^{18}\text{F}$	110 min	2,4	0,6	96,9
$^{68}\text{Ga}$	67,8 min	9,2	3,5	87,7 (+1,2)

Bei der Auslöschung eines Positron-Elektron-Paares wird die Ruhemasse der beiden Teilchen in zwei entgegengesetzt gerichtete Photonen mit Energien von jeweils 511 keV umgewandelt (Abbildung 1.2).

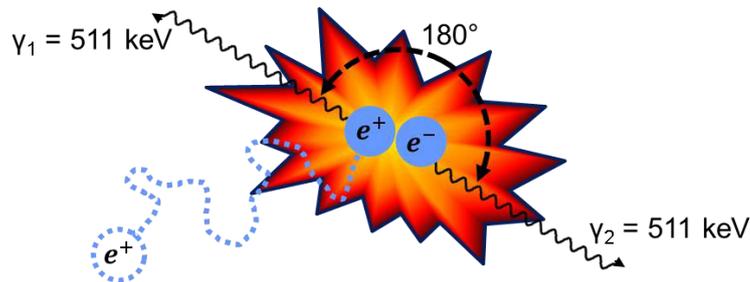


Abbildung 1.2 - Annihilationsprozess: Bei Rekombination eines freien Positrons mit einem Elektron kommt es zu einer Paarvernichtung, auch Annihilation genannt. Dabei wandelt sich die Ruhemasse der beiden Teilchen in zwei 511 keV-Photonen um, welche sich in einem Winkel von 180° voneinander bewegen.

Die Berechnung der umgewandelten Energie erfolgt dabei nach der Einstein'schen Formel für die Äquivalenz von Masse und Energie:

$$E = m * c^2 = (m_{e^+} + m_{e^-}) * c^2 \approx 1.022.067,53 \text{ eV}$$

$$(\triangleq 2 * 511.033,765 \text{ eV} \approx 2 * 511 \text{ keV})$$

mit:	$m_{e^+} = m_{e^-} \approx 9,109 * 10^{-31} \text{ kg}$
	$c = 299.792.458 \frac{\text{m}}{\text{s}}$
<u>Umrechnungsfaktor:</u>	$1 \frac{\text{kg} * \text{m}^2}{\text{s}^2} = 1,602 * 10^{-19} \text{ eV}$

Eine Energie von 511 keV besitzt eine Halbwertsschichtdicke von ca. 7,2 cm für Weichteilgewebe [3], das heißt nach ca. 7,2 cm ist die Hälfte der Energie durch das Weichteilgewebe absorbiert worden. Somit besitzen die bei der Annihilation emittierten Photonen eine hohe Wahrscheinlichkeit, den menschlichen Körper von innen nach außen zu durchdringen (nach Applikation eines Radiopharmakons).

### **Halbwertszeit**

Eine weitere wichtige Kenngröße ist die physikalische Halbwertszeit  $t_{1/2}$ . Diese entspricht der Zeit, nach welcher sich eine bestimmte Anfangsaktivität  $A_0$  eines Stoffes auf die Hälfte reduziert hat. Die Abnahme der Aktivität über die Zeit  $t$  erfolgt exponentiell fallend und hängt von der Zerfallskonstante  $\lambda$  ab, die für jedes Radionuklid spezifisch ist. In Tabelle 1.1 sind die Halbwertszeiten für die in dieser Arbeit verwendeten  $\beta^+$ -Strahler aufgeführt.

### 1.1.1.3 PET-Radiopharmaka

Ein PET-Radiopharmakon ist ein mit einem Positron-emittierendem Radionuklid (Positronenstrahler) markiertes Arzneimittel für nuklearmedizinische Untersuchungen mit PET. Die in der Medizin für diagnostische Zwecke verwendeten PET-Radiopharmaka haben in der Regel eine sehr kurze Halbwertszeit (2 - 110 min).

Die Photonen-Emission nach Annihilation und das gute Durchdringungsvermögen der Gammaquanten von Materie eröffnen eine praktikable Möglichkeit für die *in vivo* Bildgebung mittels Positronenstrahlung. Nach intravenöser Applikation des Radiopharmakons in den Körper werden sich diese physikalischen Eigenschaften in der diagnostischen Nuklearmedizin sowie in der (prä)klinischen Forschung gezielt zu Nutze gemacht, wobei gegenüber anderen Verfahren, wie zum Beispiel dem Röntgen, der Unterschied darin besteht, dass hier keine stationären Zustände abgebildet werden, sondern Stoffwechselprozesse. Dabei beeinflusst das applizierte Radiopharmakon nicht den biologischen Stoffwechsel, sondern wird stattdessen in diesen mit eingebunden und umgesetzt. Ein Radiopharmakon, auch Radiotracer genannt, bindet dabei über seinen biologisch-aktiven Molekülabschnitt (Pharmakophor) an die gewünschte Zielstruktur. Das Radionuklid ist zumeist in einen anderen, nichtbindenden Molekülabschnitt integriert, kann prinzipiell aber auch Bestandteil des Pharmakophors sein. Somit reichert sich der Radiotracer in einem oder mehreren Zielorgan(en) (engl. *target*) an. In diesem Zusammenhang wird auch vom sogenannten *Uptake* (engl., für Aufnahme) gesprochen. Das am häufigsten in der PET eingesetzte Radiopharmakon ist die mit  $^{18}\text{F}$  radioaktiv markierte 2- $^{18}\text{F}$ Fluor-2-desoxy-glukose ( $^{18}\text{F}$ FDG) [9, 10]. Dieses Glukosederivat wird vom Körper wie natürliche Glukose aufgenommen. Im Gegensatz zur natürlichen Glukose wird es jedoch nicht vollständig verstoffwechselt, sondern reichert sich nach Phosphorylierung an der C-6-Position des Glukosemoleküls innerhalb der Zelle an (*metabolic trapping*) [11]. Zellen mit hohem Glukosebedarf (wie z.B. im Gehirn), nehmen dementsprechend viel Glukose und  $^{18}\text{F}$ FDG auf. Es kommt somit zu einem erhöhten  $^{18}\text{F}$ FDG-Uptake, welcher sich mittels PET detektieren und darstellen lässt. Die Anreicherung von  $^{18}\text{F}$ FDG im Gehirn verläuft beispielsweise weitestgehend symmetrisch [12, 13].  $^{68}\text{Ga}$ Fucoidan hingegen ist ein Radiotracer, der sich spezifisch am aktivierten P-Selektin-Rezeptor

anreichert. P-Selektin wiederum ist ein Bindungsmolekül, das vor allem in der frühen Phase nach einem ischämischen Schlaganfall exprimiert wird und dessen Expression Hinweise über die Auswirkungen und Folgeschäden des Schlaganfalls geben kann [14, 15]. Der Radiotracer wurde als Forschungstracer in der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin des Universitätsklinikums Würzburg in der Arbeitsgruppe Radiopharmazie entwickelt und bereits in verschiedenen Tiermodellen getestet [16, 17]. Neben den beiden in dieser Dissertation relevanten Radiotracern werden in der Nuklearmedizin häufig auch folgende diagnostische Radiopharmaka eingesetzt:

- [ $^{11}\text{C}$ ]Methionin und [ $^{18}\text{F}$ ]FET bei Hirntumoren
- [ $^{18}\text{F}$ ]DOPA bei Hirntumoren und bei M. Parkinson
- [ $^{68}\text{Ga}$ ]PSMA-11 und [ $^{18}\text{F}$ ]FPSMA bei Prostata Tumoren
- [ $^{68}\text{Ga}$ ]DOTATOC und [ $^{68}\text{Ga}$ ]DOTATATE bei neuroendokrinen Tumoren

### **1.1.2 Aufbau und Funktionsweise eines Positronenemissionstomographen**

Abbildung 1.3 zeigt schematisch zusammengefasst den Ablauf einer PET-Aufnahme. Nach intravenöser Applikation des Radiopharmakons wird der Patient auf dem Patiententisch des Positronenemissionstomographen platziert. Die nach Annihilation im  $180^\circ$ -Winkel ausgesendeten Photonen nach  $\beta^+$ -Zerfall des injizierten Radiopharmakons können somit durch die ringförmig um den Patienten angeordneten Detektoren (*Gantry*) erfasst werden. Dort werden sie in sichtbares Licht umgewandelt, welches anschließend elektronisch verarbeitet werden kann. Der Aufbau und die Funktionsweise eines  $\mu$ -PET verläuft, abgesehen vom deutlich kleineren Aufbau des Systems, vergleichbar.

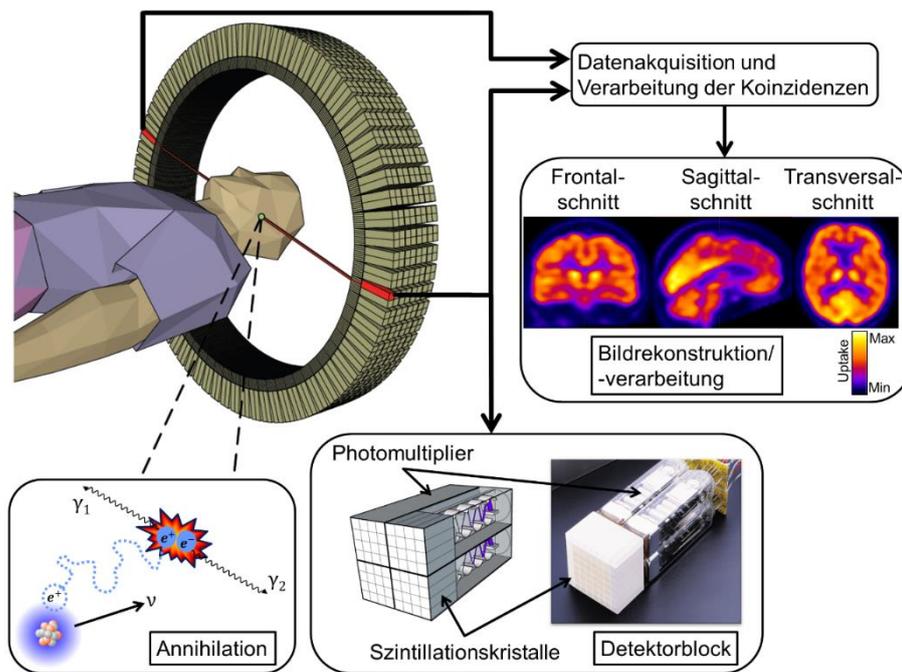


Abbildung 1.3 - Schematische Darstellung des Ablaufs einer PET-Aufnahme: Die nach  $\beta^+$ -Zerfall und darauffolgender Annihilation ausgestrahlten 511 keV-Photonen werden durch ringförmig angeordnete Detektoren erfasst. Nachdem die Photonen in ein elektrisches Signal umgewandelt wurden, folgt die Datenverarbeitung der Koinzidenz-Ereignisse und schließlich die Bildrekonstruktion (modifiziert nach [18], [19]).

### 1.1.2.1 Detektion von $\beta^+$ -Zerfallsprozessen

Ein Positronenemissionstomograph ist im Gegensatz zu anderen bildgebenden Modalitäten (wie z.B. dem Magnetresonanztomographen) keine Mess- und Detektionsapparatur, sondern lediglich eine reine Detektionsapparatur. Das heißt, er besitzt keinen eigenen Sender, sondern besteht aus Empfängern, den sogenannten Detektorblöcken. Diese sind ringförmig um das zu untersuchende Zielvolumen (engl. *volume-of-interest*, VOI) angeordnet. Ein Detektorblock (Abbildung 1.3) ist unterteilt in Szintillationskristalle und Photomultiplier. Die Szintillationskristalle dienen dazu, die abgestrahlten  $\gamma$ -Quanten einzufangen, abzubremsen und in sichtbare Licht-Photonen umzuwandeln. Währenddessen verstärken die Photomultiplier die erzeugten Licht-Photonen und wandeln sie in ein elektrisches Signal um.

Da ein entstandenes Licht-Photon nicht ausreicht, um ein elektronisches Signal zu erzeugen, muss dieses mit Hilfe eines Photomultipliers verstärkt werden. Ein Photomultiplier besteht aus einer Photokathode, mehreren Dynoden (Elektroden) und einer Anode. Löst ein Licht-Photon beim Auftreffen auf die Photokathode ein Photoelektron heraus, wird dieses mittels eines Fokussiergitters auf eine Dynode

umgelenkt. Eine Dynode ist eine speziell beschichtete Elektrode, die die Eigenschaft besitzt, nach Anregung weitere Elektronen, die sogenannten Sekundärelektronen, zu emittieren. Durch Umlenken auf weitere Dynoden und der damit verbundenen stetigen Vervielfachung des ursprünglichen Photoelektrons wird somit eine Elektronenwolke erzeugt, welche detektiert und in ein elektronisches Signal umgewandelt werden kann. Abbildung 1.4 stellt den Prozess schematisch dar.

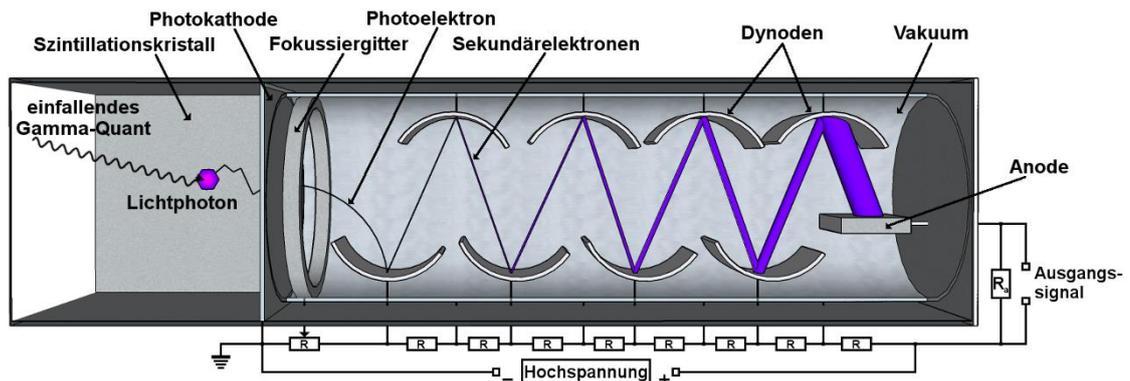


Abbildung 1.4 - Schematische Darstellung eines Photomultipliers mit Szintillationskristall: Ein einfallendes  $\gamma$ -Quant erzeugt beim Durchdringen des Szintillationskristalls ein Lichtphoton. Durch Auftreffen des Lichtphotons auf der Photokathode wird ein Photoelektron freigesetzt, das über ein Fokussiergitter zu einer Dynode umgelenkt wird. Die von den Dynoden emittierten Sekundärelektronen vervielfachen die Anzahl der Elektronen so weit, dass ein elektronisches Signal an der Anode detektiert werden kann. (modifiziert nach [3]).

In der Regel werden in der Positronenemissionstomographie innerhalb eines Detektorblocks mehrere Szintillationskristalle vor einem Photomultiplier angebracht und kombiniert (Abbildung 1.3). Dies führt zu einer genaueren Zuordnung der Zerfallsereignisse und senkt zudem die Kosten eines PET-Gerätes. Der durch das  $\gamma$ -Quant im Szintillationskristall ausgelöste kurze Lichtblitz benötigt eine gewisse Zeit um abzuklingen, vergleichbar mit dem Nachleuchten beim Ausschalten einer Glühbirne. Während dieser Zeitspanne, der sogenannten Totzeit, ist der Szintillationskristall nicht in der Lage erneut von einem  $\gamma$ -Quant angeregt zu werden. Das heißt, dass während der Totzeit kein weiteres  $\gamma$ -Quant registriert wird, wenn es in den Kristall eintritt. Für weitergehende Informationen zu Detektoren, Photomultipliern und alternativen Szintillationsdetektoren wird auf die Fachliteratur von Phelps [3] verwiesen.

### 1.1.2.2 Datenakquisition

Werden an gegenüberliegenden Detektoren zwei Photonen messtechnisch gleichzeitig detektiert, so kann rechnerisch eine Antwortgerade (engl. *line of response*, LOR) bestimmt werden. Diese gibt an, dass auf dieser LOR eine Annihilation stattgefunden haben muss. Im Idealfall treffen die Photonen exakt zum gleichen Zeitpunkt  $t$  auf den sich gegenüberliegenden Detektoren auf (Koinzidenz-Ereignis), sind weder gestreut worden, noch haben sie bis zum Auftreffen auf dem Detektor Energie verloren. Einflussfaktoren, wie z.B. die Streuung der  $\gamma$ -Quanten durch Materie sowie die Tatsache, dass alle in einem Winkel von  $180^\circ$  emittierten Photonen nicht zentriert vom Mittelpunkt der *Gantry* ausgehen und somit unterschiedliche Reichweiten zu einem Detektorblock besitzen, erschweren allerdings die genaue Erfassung aller gewünschten Koinzidenz-Ereignisse. Zusätzlich zu den erwähnten Einflussfaktoren kommt es auch innerhalb der Messtechnik zu zeitlichen Verzögerungen sowie zu Energieverlusten (z.B. im Szintillationskristall oder im Photomultiplier). Daher werden in der Datenakquisition nur die Koinzidenz-Ereignisse erfasst, welche innerhalb eines vorab der Messungen definierten Zeit- und Energiefensters liegen. Insgesamt können in der Datenakquisition fünf Arten von (Koinzidenz-) Ereignissen unterschieden werden (Abbildung 1.5): wahre, gestreute, Einzel-, zufällige, sowie multiple (Koinzidenz-)Ereignisse [3, 4].

Bei den gewünschten Koinzidenz-Ereignissen einer PET-Untersuchung, auch wahre Koinzidenz-Ereignisse genannt, liegen die durch eine gemeinsame Annihilation emittierten Photonen auf einer Verbindungsgeraden (Abbildung 1.5, schwarz). Gestreute Koinzidenz-Ereignisse besitzen zwar eine gemeinsame Paarvernichtung, jedoch wird mindestens eines der beiden emittierten Photonen durch Streuung von der gemeinsamen Verbindungsgeraden abgelenkt (Abbildung 1.5, grün). Verliert ein Photon nach einer gemeinsamen Paarauslöschung durch Streuung zu viel Energie, so dass es letztendlich absorbiert bzw. so stark abgelenkt wird, dass es nicht von einem Detektor erfasst wird, so kommt es zur Erfassung eines Einzel-Ereignisses (Abbildung 1.5, rot/blau). Treten zufälligerweise zwei Einzel-Ereignisse innerhalb eines vorher definierten Zeitfensters auf, so kann es sein, dass diese Ereignisse fälschlicherweise als wahre Koinzidenz-Ereignisse erfasst werden, obwohl es sich in diesem Fall um zufällige Koinzidenz-Ereignisse handelt (Abbildung 1.5, rot und blau).

Gegebenenfalls kann es auch zu multiplen Koinzidenz-Ereignissen bzw. zu Kombinationen aus den genannten Ereignissen innerhalb eines Zeitfensters kommen, so dass mehr als zwei Photonen gleichzeitig detektiert werden (Abbildung 1.5, z.B. schwarz und grün). In diesem Fall können die erfassten Ereignisse keiner genauen Verbindungsgeraden zugeordnet werden.

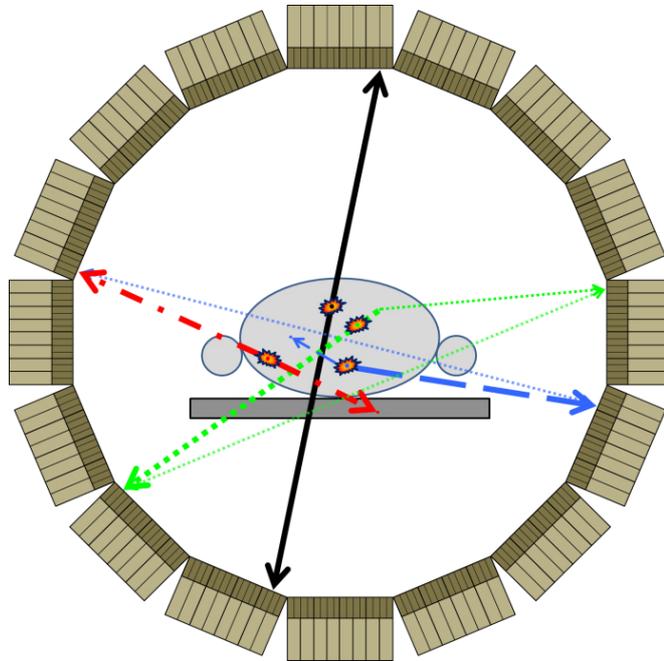


Abbildung 1.5 - Arten von (Koinzidenz-)Ereignissen, die nach Positionierung des Zielvolumens im Zentrum des Tomographen durch die ringförmig angeordneten Detektoren erfasst werden: wahre (schwarz), gestreute (grün), Einzel- (rot bzw. blau), zufällige (rot und blau), sowie multiple (Koinzidenz-)Ereignisse (z.B. schwarz und grün).

Signale von Einzel- oder multiplen Ereignissen können technisch leicht erkannt werden und fließen von daher nicht in die spätere Bild-Rekonstruktion mit ein. Signale von gestreuten bzw. von zufälligen Koinzidenz-Ereignissen können hingegen technisch nicht von wahren Koinzidenz-Ereignissen unterschieden werden, da die eintreffenden Photonen bei beiden Prozessen ebenfalls eine Verbindungsgerade abbilden.

Um letztendlich die gemessenen Zerfallsereignisse in Form von Bildern auswerten zu können, ist die Art der zeitlichen Erfassung der (Koinzidenz-)Ereignisse relevant. Ist die Kinetik eines Radiopharmakons weitestgehend bekannt, kann für Routineanwendungen ein optimierter und somit oft kurzer Zeitraum akquiriert werden. Es handelt sich hierbei um eine statische Darstellung des verabreichten Radiotracers über den erfassten Zeitraum  $t$ . Zur Untersuchung der Pharmakokinetik eines Radiopharmakons oder zur Ermittlung des optimalen Akquisitionszeitpunktes sind längere Akquisitionszeiten notwendig. Bei der

Bildrekonstruktion kann der gemessene Zeitraum in mehrere, auch unterschiedlich lange Zeitabschnitte (engl. *frames*) unterteilt werden. Es handelt sich dann um eine dynamische Datenakquisition.

### **1.1.2.3 Bildoptimierungsverfahren**

Bevor die durch den Radiotracer emittierten Photonen zu Bildern rekonstruiert werden können, muss berücksichtigt werden, dass jegliche Hardware-Komponenten eines Systemaufbaus unweigerlich gewisse Messinhomogenitäten mit sich bringen. Im Falle der PET beeinflussen beispielsweise schon die geringsten Material- bzw. Produktionsabweichungen in der Detektorgeometrie, der Kristallzusammensetzung oder der Photomultiplier-Verstärkung die Erfassung der Aktivität. Diese Art der Detektorinhomogenitäten lassen sich jedoch gut durch eine sogenannte Normalisierung kompensieren. Bei einer Normalisierung werden die Detektorkristalle über einen definierten Zeitraum (i.d.R. mehrere Stunden) einer homogenen, radioaktiven Quelle ausgesetzt. Durch Erfassung aller LOR zwischen den jeweiligen Kristallpaaren kann die Differenz der erwarteten und der tatsächlichen Koinzidenz-Ereignisse berechnet werden. Für jeden Kristall kann aus der Differenz somit ein Korrekturfaktor bestimmt werden, welcher in einer gemeinsamen Sinogramm-Datei gespeichert wird. Diese Datei wird bei jeder PET-Rekonstruktion mitberücksichtigt und erhöht die Qualität der Bilder. Für ausführliche Informationen zum Sinogramm wird auf die Literatur [20] verwiesen.

Neben dem Ausgleich der Messungenauigkeiten durch Hardware-Komponenten spielen weitere Aspekte der Datenkorrektur für eine adäquate Datenauswertung eine Rolle. Dazu zählen z.B. das Schwächungsverhalten zwischen Materie und (ionisierender) Strahlung, aber auch Faktoren wie die Streukorrektur, Totzeit-Korrektur usw. Auf diese wird hier jedoch nicht näher eingegangen. Für zusätzliche Informationen zu den weiteren Daten-Korrekturmöglichkeiten wird auf die Literaturangaben [3, 4] verwiesen.

### **1.1.2.4 Bildrekonstruktion**

Ziel der Bildrekonstruktion ist die akkurate *in vivo* Wiedergabe aller wahren Koinzidenz-Ereignisse in Form eines 3D-Bildes. Unter Berücksichtigung aller Korrekturfaktoren lässt sich aus allen erfassten Koinzidenz-Ereignissen zwischen

zwei, auf einer LOR liegenden Detektorkristallen, ein Linienintegral bilden. Aufgrund der Tatsache, dass die Zahl der stattgefundenen Zerfallsprozesse zwischen den beiden Detektoren proportional zur injizierten Aktivität ist, kann somit für jeden Punkt im Detektorring ein bestimmter Wert zugewiesen werden. Wurde das PET vor einer Messung anhand eines mit Aktivität befüllten Phantoms kalibriert, so lässt sich aus den zugewiesenen Werten der Aktivitätswert für jeden Punkt im Detektorring berechnen.

Im Allgemeinen gibt es zwei verschiedene Arten der Bildrekonstruktion: analytische und iterative Rekonstruktionsalgorithmen. Anhand dieser lassen sich die Vielzahl an Linienintegralen innerhalb des PET-Detektorrings auswerten.

Der besondere Vorteil der analytischen Rekonstruktionsverfahren ist die kurze Rechenzeit des Algorithmus durch die einmalige Anwendung. Ein Nachteil der analytischen Verfahren ist, dass bei der analytischen Rekonstruktion von nahezu idealen Bedingungen ausgegangen wird. Das heißt zum einen, dass Detektoren als Punktdetektoren angenommen werden. Dies führt dazu, dass z.B. durch die Detektorgeometrie vorhandenen Inhomogenitäten vernachlässigt werden oder die interkristalline Streuung nicht berücksichtigt wird. Zum anderen unterliegt die Methode der Annahme, dass es sich bei den gemessenen Daten um rauschfreie, gleich gewichtete Linienintegrale handelt. In der Realität ist das jedoch nicht möglich. Bei der Positronenemissionstomographie, bei der nur eine begrenzte Anzahl an Messdaten vorhanden ist, führt Rauschen daher häufig zu Streifenartefakten innerhalb des rekonstruierten Bildes.

Bei den iterativen Rekonstruktionsverfahren wird, im Gegensatz zu den analytischen Verfahren, ein bestimmter Algorithmus so lange auf die erfassten Daten angewandt, bis sich die Daten schrittweise der echten Intensitätsverteilung innerhalb des Objektes bestmöglich angenähert haben. In der Regel bestimmen vorher definierte Abbruchkriterien, wie z.B. die Festlegung der maximalen Anzahl an Iterationsschritten oder die Größe der Änderung eines Anpassungsschrittes gegenüber dem ersten Iterationsschritt, wie weit diese Annäherung durchgeführt wird. Ausgangspunkt bei der iterativen Rekonstruktion ist in der Regel ein gleichmäßig verteiltes Graustufenbild, welches eine erste, einfache Approximation der Intensitätsverteilung innerhalb des Objektes vorgeben soll. Darauf aufbauend wird per Vorwärtsprojektion (engl. *forward projection*), z.B. anhand der Summe aller auf einer LOR liegenden Intensitäten einer Sinogramm-

Datei, eine Intensitätsverteilung geschätzt. Diese geschätzte Intensitätsverteilung wird anschließend mit der Intensitätsverteilung aller gemessenen Daten verglichen. Basierend auf der Differenz beider Verteilungen werden die Intensitäten des ursprünglich gleichmäßig verteilten Graustufenbildes für die nächste Schätzung angepasst. Dieser Prozess wird so lange wiederholt, bis die Intensitätsverteilung dem der gemessenen Daten entspricht bzw. bis eines der vorher definierten Abbruchkriterien erreicht wurde (Abbildung 1.6).

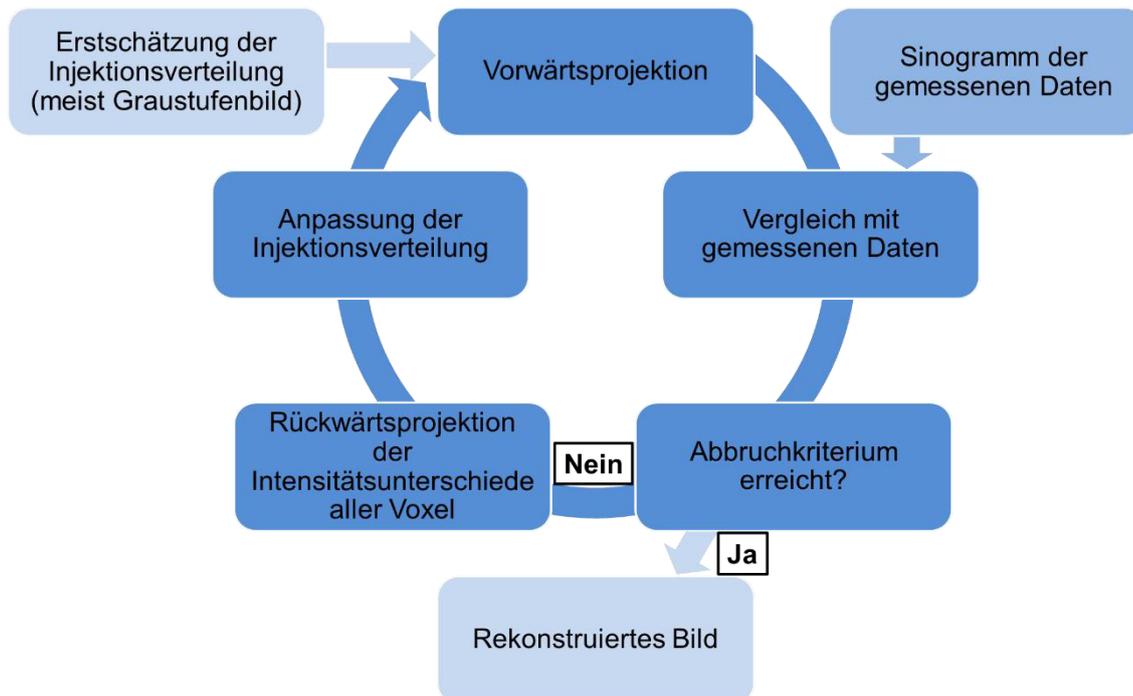


Abbildung 1.6 - Schematische Darstellung der iterativen Bild-Rekonstruktion.

Die große Anzahl an Iterationsschritten machen die iterativen Rekonstruktionsverfahren sehr rechen- und somit auch zeitintensiv, weshalb verschiedene Ansätze entwickelt wurden, um die Berechnungen zu beschleunigen. Ein bekannter und unter anderem auch in dieser Arbeit zur Rekonstruktion der Daten verwendeter Algorithmus ist der sogenannte *ordered subsets expectation maximization* Algorithmus (OSEM) [21]. Insgesamt bieten iterative Rekonstruktionsverfahren gegenüber analytischen Rekonstruktionsverfahren ein deutlich besseres Signal-Rausch-Verhältnis bei gleicher räumlicher Auflösung, unter anderem auch, weil das hochfrequente, statistische Rauschen durch Filter-Algorithmen nicht verstärkt wird. Durch stetig besser werdende Rechnerleistungen kommen daher heutzutage überwiegend iterative Verfahren zur Rekonstruktion der Daten zum Einsatz.

## 1.2 Bildverarbeitung und Bildauswertung

Nach erfolgreicher Bildrekonstruktion bildet das erzeugte 3D-Bild den Ist-Zustand zum Zeitpunkt der Messung ab. Für viele Anwendungen und medizinische Untersuchungen ist eine einzelne Messung ausreichend, um eine akkurate Diagnose zu erstellen. Ein Beispiel hierzu wäre eine CT-Untersuchung nach einem schweren Unfall zur Überprüfung eines möglichen Schädel-Hirn-Traumas. Nichtsdestotrotz werden oftmals mehrere Messungen benötigt, um beispielsweise Krankheitsverläufe oder physiologische Veränderungen *in vivo* zu untersuchen. Damit zwei 3D-Bilder miteinander verglichen werden können, müssen diese zunächst anhand von Registrierungsalgorithmen aufeinander ausgerichtet werden. Die relevanten Arten der Ausrichtung bzw. Registrierungsverfahren, die im Rahmen dieser Dissertation eingesetzt wurden, sind die rigide, die affine sowie für 3D-Bilddaten unterschiedlicher bildgebender Modalitäten die Co-Registrierung.

### 1.2.1 Registrierungsverfahren

Bei einer rigiden Ausrichtung zweier 3D-Bilddaten werden Bilddaten im 3D-Raum nur verschoben und/oder rotiert. Das gemessene Objekt bleibt somit in seiner starren Form erhalten. Es wird daher auch von einer starren Registrierung gesprochen. In der Regel kommt diese Registrierung bei Vergleichsmessungen des gleichen Patienten bzw. des zu untersuchenden Objekts (z.B. Kleintier, Phantom) zum Einsatz. Dabei wird angenommen, dass sich die grundsätzliche Form des Objektes gar nicht bzw. nur geringfügig zur vorherigen Messung geändert hat. Diese Annahme unterliegt bei einer affinen Registrierung nicht.

Bei einer affinen Registrierung wird davon ausgegangen, dass sich die 3D-Bilddaten voneinander unterscheiden. Im Allgemeinen handelt es sich dabei um unverbundene Daten verschiedener Patienten bzw. Objekte. Daher kann die Ausrichtung der Bilddaten bei der affinen Registrierung anhand von Verschiebung, Rotation, Skalierung und/oder Verzerrung erfolgen. Aufgrund der damit verbundenen höheren Komplexität ist eine affine Registrierung rechenintensiver als eine rigide Registrierung.

Da eine Analyse monomodaler, funktioneller Bilddaten (z.B. PET) häufig schwierig ist, werden diese häufig mit anatomischen Bilddaten (z.B. CT) kombiniert. Eine solche Ausrichtung von Bilddaten verschiedener Modalitäten wird als Co-Registrierung bezeichnet. Die unterschiedliche Signalerfassung der Modalitäten und die damit verbundene Variation der Intensitätswerte machen diese Art der Ausrichtung vor allem bei unverbundenen Bilddaten fehleranfälliger. Mathematische Formeln bilden die Grundlage zur Ausrichtung der Bilddaten aufeinander. Beispiele solcher Formeln, auch Ähnlichkeitsmaße genannt, sind die Summe der quadrierten Differenzen, die Summe der absoluten Differenzen, der Korrelationskoeffizient oder die *Mutual Information*. Je nach Art der aufeinander auszurichtenden Bilddaten ist es unter Umständen erforderlich, unterschiedliche Ähnlichkeitsmaße anzuwenden. Bei Fokussierung auf die Intensitätswerte in den Bilddaten wäre z.B. eine Ausrichtung nach Korrelationskoeffizient möglich. Bei Co-Registrierungen wiederum wird im Allgemeinen die *Mutual Information* als Ähnlichkeitsmaß eingesetzt, da bei diesem der Schwerpunkt in der Bildübereinstimmung und nicht auf den Signalintensitäten liegt [22, 23].

## 1.2.2 Interpolation

Da sich der 3D-Raum und die darin enthaltene Anzahl an Voxel ( $\triangleq$  einem 3D-Pixel und steht für *volume element* [24]) bei den mathematischen Berechnungen durch die Ähnlichkeitsmaße nicht ändern können, müssen bei einer Koordinatentransformation dementsprechend die ursprünglich gemessenen Intensitätswerte angepasst werden. Das heißt, die Intensitätswerte eines Voxels werden entsprechend ihrer Überlagerung mit den Intensitätswerten der benachbarten Voxel interpoliert. Im Zusammenhang mit dem nuklearmedizinischen Datenverarbeitungs-Analyseprogramm (NU\_DPA) ist vor allem die lineare Interpolation aber auch die Interpolation des nächsten Nachbarn (engl. *nearest neighbor interpolation*, NN-Interpolation) relevant. Abbildung 1.7 stellt anhand von Farbdarstellungen vereinfacht dar, wie eine lineare bzw. NN-Interpolation erfolgt. Zwei einzelne Voxel (Abbildung 1.7, a) vereinen sich aufgrund einer Verschiebung (Abbildung 1.7, b). Anhand der jeweiligen Anteile eines jeden Voxels werden die Farbintensitäten der ursprünglichen Voxel angepasst. Abbildung 1.7, c zeigt dabei die neuen Farbintensitäten nach einer linearen,

Abbildung 1.7, d die neuen Farbintensitäten nach einer NN-Interpolation. Bei einer NN-Interpolation nimmt das Voxel den Intensitäts- bzw. Farbwert an, der am stärksten innerhalb des Voxels vertreten ist. Da die Anteile der überlagerten Voxel in diesem Fall zu gering sind, bleiben die ursprünglichen Farbintensitäten bestehen. Die unteren Darstellungen (e und f) zeigen am Beispiel des Wistar MRT-Atlas' nach Johnson *et al.* [25] das Ergebnis nach einer linearen (Abbildung 1.7, e) bzw. nach einer NN- Interpolation (Abbildung 1.7, f).

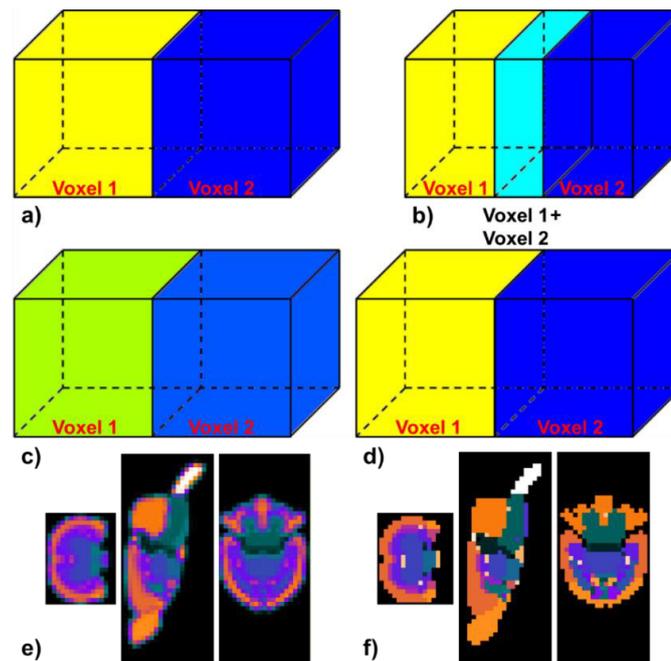


Abbildung 1.7 - Lineare Interpolation und Interpolation des nächsten Nachbarn in vereinfachter Form anhand von Farbdarstellungen. Durch Verschiebung werden zwei Voxel (a) miteinander vermengt (b). Bei einer linearen Interpolation fließt der überlagerte Bereich beider Voxel in beide Farbdarstellungen der ursprünglichen Voxel mit ein. Die Farbintensitäten passen sich demzufolge an (c). Nach einer NN-Interpolation nehmen die Voxel die Farbintensität der am meisten vorhandenen Voxelfarbe an. Durch die geringe Überlagerung bleiben daher die ursprünglichen Voxelfarben erhalten (d). Zusätzlich sind beide Interpolationen am Beispiel des Wistar MRT-Atlas' [25] aufgeführt (e, linear; f, nächste Nachbarn).

### 1.2.3 VOI-Segmentierung

Damit irrelevante Areale die Registrierung nicht zu stark beeinflussen, liegt der Schwerpunkt bei der Auswertung medizinischer Bilddaten meist nicht auf dem vollständigen Datensatz, sondern auf einem ganz bestimmten Zielvolumen (VOI). Daher ist es notwendig, das VOI von den restlichen Bilddaten des 3D-Bildes zu separieren und es herauszulösen. Dieser Prozess wird Segmentierung genannt. Da mit dem NU\_DPA-Programm im Speziellen neurologische Erkrankungen

untersucht wurden, entspricht das Zielvolumen bzw. das VOI in diesem Fall dem Gehirn. In der Regel kann ein VOI in einzelne Teilbereiche zerlegt und unterteilt werden. Am Beispiel Gehirn sind damit die einzelnen Hirnareale gemeint.

Für eine exaktere Auswertung der Bilddaten werden die Bilddaten daher oftmals auf einem anatomischen Atlas ausgerichtet. Die Grundlage eines solchen Atlas bildet in der Regel ein hochaufgelöster MRT-Bilddatensatz des Zielvolumens. Dieser wurde im Vorfeld in einzelne Teilregionen untergliedert, wobei jeder Teilregion wiederum ein spezifischer Wert zugewiesen wurde (Abbildung 1.8, a).

Je nach Auswertung bietet es sich an, zum VOI weitere zusätzliche Hilfsstrukturen, wie z.B. den Harderianischen Drüsen bei [ $^{18}\text{F}$ ]FDG, in die Segmentierung mit einzubeziehen. Dies kann unter Umständen den Prozess der Bildregistrierung verbessern (siehe auch Kapitel 3.3.2.2). Ein häufig genutztes Verfahren zur Reduktion der Bilddaten bzw. zur Segmentierung ist die Beschränkung auf bestimmte Intensitäten mittels eines bzw. mehrerer Schwellwerte/s. Je nach Definition der Vorabbedingungen werden die Bilddaten um die ober- bzw. unterhalb des festgelegten Schwellwertes liegenden Intensitäten reduziert. Wenn beispielsweise bekannt ist, dass im VOI die Intensitätswerte mit hoher Wahrscheinlichkeit größer als 0,5 sind, gehen bei Beschränkung der Bilddaten auf Intensitätswerte  $> 0,5$  keine bis wenig Informationen in dem VOI verloren. Liegen die Intensitätswerte im VOI in einen bestimmten Wertebereich, kann dieser durch wiederholtes, sukzessives Anpassen des Schwellwertes auf die Intensitätswerte des VOI eingegrenzt werden.

Durch Festlegen eines bestimmten Schwellwertes und Setzen aller Intensitätswerte unterhalb dieses Schwellwertes auf null und oberhalb dieses auf eins, kann ein binäres Bild erzeugt werden (Abbildung 1.8, b). Dadurch, dass somit die Intensitätswerte nicht mehr berücksichtigt werden, liegt der Fokus auf der Form des Objektes (Werte = 1). Durch Multiplikation mit einem weiteren Bilddatensatz lassen sich somit die Bilddaten des weiteren Bilddatensatzes auf die Form des Objektes reduzieren. Aus dem Binärbild wird dann eine sogenannte Maske.

Um gewisse Strukturmuster innerhalb eines 3D-Bildes erkennen zu können, ist es oftmals auch hilfreich, ein Gradientenbild aus dem 3D-Bild zu erzeugen (Abbildung 1.8, c). Anhand dieses Gradientenbildes lassen sich gut Kanten innerhalb des Datensatzes detektieren. Starke Kanten entstehen vor allem dann,

wenn zwei benachbarte Voxel hohe Intensitätsunterschiede zueinander aufweisen.

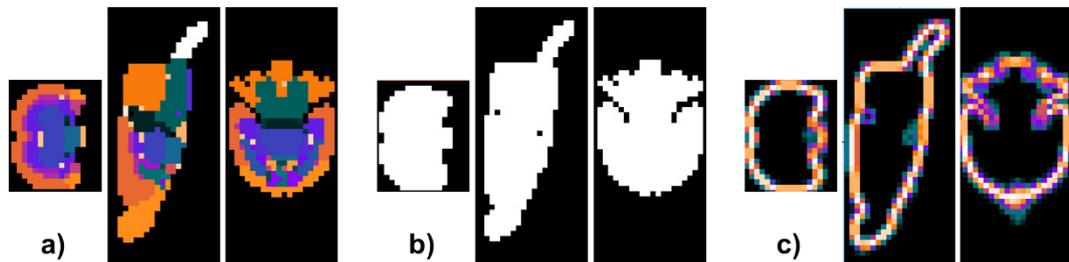


Abbildung 1.8 - Hilfsstrukturen zur VOI-Segmentierung: Darstellung des NN-interpolierten MRT Atlas' (a), des daraus erzeugten Binärbildes (b) sowie des zum Binärbild zugehörigen Gradientenbildes (c).

## 1.3 Der Schlaganfall

Bei einem Schlaganfall, auch *Apoplex* genannt, handelt es sich um eine plötzlich auftretende Störung der Blutversorgung im Gehirn, hervorgerufen durch eine Hirnblutung (Hämorrhagie) oder eine zerebrale Ischämie.

Ein hämorrhagischer Schlaganfall tritt dann auf, wenn es aufgrund eines zerrissenen Blutgefäßes zu einer Hirnblutung kommt [26]. Da das austretende Blut aufgrund der Schädelplatte keine große Ausweichmöglichkeit hat, kommt es zu einem Anstieg des Hirndrucks. Somit ist das Gehirn global betroffen. Der oftmals fulminante Verlauf einer Hirnblutung ist hauptverantwortlich für den häufig tödlich endenden Ausgang eines hämorrhagischen Schlaganfalls [27]. Es werden zwei Arten des hämorrhagischen Schlaganfalls unterschieden: die intrazerebrale und die subarachnoidale Blutung (SAB, engl. *subarachnoid hemorrhage, SAH*). Entscheidend für die Differenzierung ist die Lokalisation der Hirnblutung. Bei der intrazerebralen Blutung sammelt sich Blut im Nervenzellgewebe (*Hirnparenchym*) an, während bei einer SAB sich das Blut zwischen der weichen Hirnhaut (*Pia mater*) und der Spinnwebhaut (*Arachnoidea*) anreichert [28]. Auslöser einer Hirnblutung kann beispielsweise ein plötzlich auftretendes, zerebrales Aneurysma sein. Trotz voranschreitender neuer Erkenntnisse sind viele metabolische Prozesse im Zusammenhang mit einer subarachnoidalen Blutung weitestgehend ungeklärt [27].

Bei einem ischämischen Schlaganfall kommt es im Gegensatz zum hämorrhagischen Schlaganfall zu keiner Ruptur eines Blutgefäßes, sondern zu

einer Minderdurchblutung, z.B. durch einen Verschluss eines neuronalen Blutgefäßes (zerebrale Ischämie). Dies führt dazu, dass Teile des Gehirns in ihrer Blutversorgung gestört sind und nicht mehr ausreichend mit Blut und somit mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt werden können. Bereits wenige Minuten bis Stunden nach einem ischämischen Schlaganfall können die davon betroffenen Hirnareale aufgrund des Nähr- und Sauerstoff-Mangels irreversibel geschädigt werden.

## 2 Problemstellung und Zielsetzung

In Deutschland erleiden jährlich rund 250.000 Menschen einen Schlaganfall [29]. Neben Hirnschädigungen und physischen Einschränkungen, wie z.B. Gang- und Sprachstörungen, kann ein Schlaganfall bei unzureichender Behandlung oftmals auch zum Tod führen [27, 30]. Trotz aller technischen und klinischen Fortschritte der letzten Jahre gestaltet sich die richtige Diagnose eines Schlaganfalls ohne bildgebende Verfahren jedoch weiterhin schwierig [31]. Viele metabolische Prozesse sind noch weitestgehend unbekannt, weswegen die funktionelle PET-Bildgebung in den vergangenen Jahren immer mehr in den Fokus der Erforschung von Schlaganfall-Erkrankungen gerückt ist [32]. Mit der PET-Bildgebung lässt sich unter anderem auch das Ausmaß der Hirnschädigung gut darstellen und quantifizieren. In diesem Zusammenhang konnten frühere Studien zur Untersuchung von zerebralen Ischämien mit [<sup>18</sup>F]FDG-PET zeigen, dass sich der Glukose-Metabolismus in der vom Schlaganfall betroffenen Region bis zu 24 h nach der zerebralen Ischämie stark reduziert hatte [33-35].

PET ist ein bildgebendes Verfahren, welches in der Lage ist, funktionelle, physiologische und biochemische Prozesse *in vivo* zu erfassen, bildlich darzustellen und zu quantifizieren. Durch Applikation eines Radiopharmakons ermöglicht dieses funktionelle Bildgebungsverfahren eine zeitliche Darstellung von Stoffwechselprozessen bis hin zur Untersuchung von Krankheitsverläufen. In der klinischen Diagnostik sowie in der präklinischen Forschung nimmt die PET-Bildgebung zunehmend einen hohen Stellenwert in der Medizin ein. Ein entscheidender Nachteil ist jedoch, dass anatomische Strukturen nicht dargestellt werden können. Durch das Fehlen anatomischer Informationen und das Beschränken auf rein funktionelle Bilddaten kann sich die Auswertung monomodaler PET-Bilddaten als sehr schwierig gestalten. Des Weiteren stellt die Vielzahl der medizinischen Fragestellungen sowie die kontinuierlich wachsende Anzahl neuartiger PET-Radiotracer die PET-Bildgebung vor immer neue Herausforderungen.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden zwei klinisch relevante Schlaganfall-Erkrankungen anhand zweier unterschiedlicher Schlaganfallmodelle der Ratte mittels  $\mu$ -PET ausgewertet. Beim ersten Modell handelte es sich um eine

chirurgisch erzeugte subarachnoidale Blutung, beim zweiten Modell hingegen lag eine zerebrale Ischämie vor.

Die Tatsache, dass neuartige PET-Radiotracer und diverse medizinische Fragestellungen vor ihrem möglichen klinischen Einsatz in Tierstudien untersucht werden müssen, zeigt dabei die hohe Bedeutung einer geeigneten präklinischen Bildauswertung. Im Zusammenhang mit der Auswertung präklinischer  $\mu$ -PET-Bilddaten gibt es derzeit unter anderem folgende, frei zugängliche, Bilddaten-Auswerteprogramme bzw. Toolboxen:

- (i) spmratIHEP Toolbox [36]
- (ii) Amides a Medical Image Data Examiner (AMIDE) [37]
- (iii) Small Animal Molecular Imaging Toolbox (SAMIT) [38]

Häufige Anwendung findet auch das kommerziell erhältliche Programm:

- (iv) PMOD (PMOD Technologies Ltd., Zürich, Schweiz)

Alle genannten Bilddaten-Auswertungsprogramme bzw. Toolboxen ermöglichen das Einbeziehen anatomischer Informationen, wie z.B. eines MRT-Atlas', welcher eine genauere Sub-Klassifikation eines VOI zulässt. Dennoch besitzt auch jede der genannten Programme trotz individueller Merkmale gewisse Limitierungen:

Die (i) spmratIHEP Toolbox beispielsweise ermöglicht zwar eine Voxel-basierte Analyse von  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ -PET-Bildern mittels eines gemittelten  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ -PET-Templates und einer intrakraniellen Maske des Rattengehirns, gleichzeitig ist sie jedoch auch auf die Auswertung neurologischer  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ -PET-Bilddaten beschränkt. Das Software-Programm (ii) AMIDE wiederum ist äußerst benutzerfreundlich und bietet zudem die Möglichkeit, mehrere Bilddaten (z.B. PET, CT, MRT) gleichzeitig darzustellen und sie simultan in ihren Schnittebenen visuell verschieben zu können (engl. *reslicing*). Allerdings muss jede Bildausrichtung und Unterteilung in einzelne Teilbereiche manuell erfolgen. Dies kann zu Ungenauigkeiten in der Ausrichtung der Bilddaten führen. Die (iii) SAMIT Toolbox hingegen ist für Bilddaten unterschiedlicher Modalitäten einsetzbar. Neben PET-Bilddaten wurde die Toolbox auch für Bilddaten der Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (engl. *single-photon emission computed tomography*, SPECT) validiert. Nichtsdestotrotz liegt der Fokus des SAMIT-

Datenanalyse-Programms mehr auf der Erstellung gemittelter (Tier-)Stamm- und Tracer-spezifischer Templates, als auf einer kompletten Datenauswertung. Zudem ist eine statistische Auswertung der Bilddaten in der SAMIT Toolbox nicht gegeben. Das kommerziell verfügbare Bilddaten-Auswerteprogramm (iv) PMOD ist ein vollumfängliches Datenauswertungs-Programm, das jedoch mit hohen Lizenzkosten verbunden ist. Zusätzlich ist das Programm auf die Anwendungsmöglichkeiten des Tools (einschließlich der vorgegebenen Atlanten) beschränkt und es ist nicht möglich, Programmcodes entsprechend den eigenen Fragestellungen anzupassen.

Ziel dieser Doktorarbeit war es daher, ein einfacheres und klinisch einsetzbares semi-automatisiertes Datenanalyse-Programm zu erstellen und für präklinische Bildgebung beim Schlaganfall zu etablieren. Das Augenmerk soll darauf liegen, dass das Matlab-basierte nuklearmedizinische Datenverarbeitungs-Analyseprogramm (*nuclear medicine data processing analysis tool*, NU\_DPA) neurologische PET-Bilddaten für unterschiedliche Radiotracer auswerten kann. Um das Analyseprogramm robust und breitflächig anwendbar zu gestalten, sollen verschiedene PET-Bilddatensätze bei der Entwicklung des NU\_DPA-Programms zugrunde gelegt und getestet werden. Dabei handelt es sich zum einen um das sich zerebral weitgehend homogen anreichernde Radiopharmakon [ $^{18}\text{F}$ ]FDG und zum anderen um den, sich spezifisch an ein Target bindenden, Radiotracer [ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan.

Des Weiteren soll das zu entwickelnde Analyseprogramm eine Vielzahl von Varianten der Versuchsdurchführung sowie der Versuchsauswertung bearbeiten können. Dazu zählen unter anderem,

- dass mit dem NU\_DPA-Programm mehr als ein Zweigruppenvergleich bearbeitet werden kann (experimentelle Gruppenanzahl > 2),
- dass gemittelte PET-Datensätze (Templates) aus den eigenen gemessenen Daten erstellt werden können,
- dass anatomische Informationen für eine genauere Auswertung inkludiert werden können,
- dass neben dem standardmäßig verwendeten Parameter *Standardized Uptake Value* (SUV) auch weitere semiquantitative Parameter ausgewertet werden können,

- dass experimentelle Daten ausgewertet werden können, die aufgrund verminderter Radiotracer-Akkumulation das zu untersuchende Zielorgan nicht mehr vollständig abbilden,
- dass das NU\_DPA-Programm auch für multimodale Bilddaten geeignet ist

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Materialien

#### 3.1.1 Verwendete Geräte und Versuchsutensilien

Die PET-Messungen erfolgten an einem Kleintier-PET (Inveon®, Siemens Medical Solutions, Knoxville, USA). Es handelt sich dabei um ein *Dedicated PET-System* zur Untersuchung von Mäusen und Ratten. Die Dimension der Voxel entspricht einem Volumen von  $0,776 \times 0,776 \times 0,796 \text{ mm}^3$ , bei einer Bildgröße von  $128 \times 128 \times 159$  Schichtebenen. Weitere Spezifikationen des Scanners sind in Tabelle 3.1 aufgeführt und entstammen dem Siemens Datenblatt des Kleintier-PET-Systems ( $\mu$ -PET) *Inveon®* der Firma Siemens.

**Tabelle 3.1 - Spezifikationen des Siemens Inveon®  $\mu$ -PET Systems (dem Datenblatt von Siemens Medical Solutions entnommen)**

<b>Spezifikationen - Dedicated PET System</b>	
Gantry-Durchmesser	12 cm
Axiales Sichtfeld	12,7 cm
Transversales Sichtfeld	10 cm
Anzahl an Detektorblöcken	64 (4 * 16)
Anzahl an Kristallen pro Detektorblock	400 (20 <sup>2</sup> )
Anzahl an Kristallen insgesamt	25.600
Kristallgröße	1,51 mm * 1,51 mm * 10 mm
Szintillationskristalle	Lutetiumoxyorthosilicat (LSO)
Energiefenster (manuell einstellbar)	0 – 800 keV ( <i>default settings</i> 350-650 keV)
Zeitfenster für Koinzidenzen (manuell einstellbar)	936 – 9.984 ps (Schrittweite 624 ps) ( <i>default settings</i> 3.432 ps)
Rekonstruktionsalgorithmen	2D-FBP, 2D-OSEM, 3D-RP 3D-OSEM, 3D-MAP, 3D-OSEM+MAP
Quellen für Transmissionsscan	Zwei <sup>57</sup> Co-Quellen

Weitere verwendete Geräte sind:

**Tabelle 3.2 - Zur Experimentdurchführung verwendete Gerätschaften**

<b>Gerätebezeichnung</b>	<b>Hersteller</b>
Aktivimeter	Wellhöfer Dosimetrie (Schwarzenbruck, Deutschland)
Isofluranverdampfer	Harvard Apparatus (Holliston, USA)
Stimuli Generator	Multi Channel Systems MCS GmbH (Reutlingen, Deutschland)
Narkose-Box, Wärmeplatte	A. Hartenstein GmbH (Würzburg, Deutschland)

Folgende Verbrauchsmaterialien kamen zum Einsatz:

**Tabelle 3.3 - Verbrauchsmaterialien**

<b>Verbrauchsmaterialien</b>	<b>Hersteller</b>
Einwegmaterialien (Spritzen, NaCl, Kanülen,...)	Klinikinventar
Isofluran	CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH (Burgdorf, Deutschland)
Sauerstoff 2.5 (medizinisches Gas)	Rießner-Gase GmbH (Lichtenfels, Deutschland)

### 3.1.2 Software

Das NU\_DPA-Programm wurde in dem Softwareprogramm Matlab (Version 2018a, MathWorks, USA) implementiert. Zusätzlich zu den in Matlab implementierten Toolboxen (Image Processing Toolbox und Statistics and Machine Learning Toolbox) kamen folgende Matlab-Skripte, Software-Programme und Datensätze im Rahmen dieser Dissertation zum Einsatz:

**Tabelle 3.4 - Verwendete Software-Produkte sowie Datensätze**

Software / Daten	Version	Einsatz	Hersteller / Referenz
Ent	-	Ähnlichkeitsmaße	Agne, J [39]
Export_fig	-	Export der Bilder in hoher Auflösung	Altman, Y [40]
MATLAB	2018a	Nuclear medicine data processing analysis Tool (NU_DPA)	MathWorks, USA
Medical Image Reader and Viewer	-	Darstellung der Bilder	Schaefferkoetter, J [41]
Medical Image Registration Toolbox (MIRT)	-	Affine Registrierungen	Myronenko, A [42]
MRT-Daten / MRT-Atlanten	v1.01	Unterteilung des Zielvolumens in einzelne Teilbereiche	Sprague Dawley Ratte Papp <i>et al.</i> [43-46]
	-		Wistar Ratte Johnson <i>et al.</i> [25]
Siemens Inveon Acquisition Workplace	1.5.0.28	Datenakquisition und Datenrekonstruktion	Siemens Medical Solutions (Knoxville, USA)
Swtest	-	Shapiro-Wilk Test auf Normalverteilung	Saïda, A.B. [47]
Tools for NIfTI and ANALYZE image	-	Import der MRT-Daten	Shen, J [48]

Die Auswahl der MRT-Datensätze beruht auf dem Organ der zu untersuchenden Spezies. Im Zusammenhang mit dieser Doktorarbeit sind neurologische Aspekte in Rattenmodellen untersucht worden. Daher handelt es sich bei den hinzugefügten MRT-Daten und -Atlanten um unterteilte Rattenhirnmodelle. Diese waren zum Zeitpunkt der Implementierung frei verfügbar und wurden von den in den Manuskripten erwähnten Universitätsseiten bezogen. Für den Import der

MRT-Datensätze wird die Funktion *loadnii.m* der '*Tools for NIfTI and ANALYZE image*' verwendet [48].

Registrierungen werden im NU\_DPA-Programm anhand zweier verschiedener Registrierungsalgorithmen durchgeführt: Bei starren bzw. rigiden Registrierungen (Translation und Rotation) wird der von Matlab implementierte, intensitätsbasierte Bildregistrierungsalgorithmus *imregister.m* (,rigid') verwendet. Bilddaten die anhand affiner Transformation (Translation, Rotation, Scherung und Skalierung) aufeinander ausgerichtet werden, werden mit Hilfe des MIRT-Algorithmus durchgeführt [42]. Diese Art der Registrierung basiert auf kubischen B-Splines [49]. Der MIRT-Algorithmus beinhaltet verschiedene Ähnlichkeitsmaße, u.a. *Mutual Information*, und ist somit auch für Co-Registrierungen von Datensätzen aus verschiedenen Modalitäten geeignet.

Das Skript *ent.m* soll zusätzliche Informationen (Ähnlichkeitsmaße) über die Genauigkeit einer Registrierung liefern (gemeinsames Histogramm, gemeinsame Entropie und *Mutual Information*). Einen numerischen Test auf Normalverteilung bietet das Skript *swtest.m* [47]. Das Skript *VolumeViewer3D.m* des *Medical Image Reader and Viewer* ermöglicht die manuelle Visualisierung von 3D-Datensätzen in transversaler, sagittaler und koronaler Schnittebene. Bei Bedarf können die Bilder für die Darstellung mit einem Gauß-Filter geglättet werden [41]. Die Darstellungen in dieser schriftlichen Ausarbeitung sind ungeglättet. Das eingefügte Skript *Export\_fig.m* wiederum ermöglicht das Speichern von Grafiken in hoher Auflösung [40]. Dazu zählen beispielsweise die in der Datenquantifizierung und statistische Auswertung (Kapitel 3.3.2.3) automatisch erstellten Grafiken.

### 3.1.3 Versuchstiere

In dieser Doktorarbeit wurden Bilddaten zweier Tierversuchsreihen ausgewertet. Diese wurden in separaten Projekten in Kooperation mit der Klinik für Neurochirurgie und der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Würzburg generiert. Bei den Versuchen kamen folgende Rattenmodelle zum Einsatz:

- Sprague Dawley Ratten (♂, 310 - 350 g) Harlan Winkelmann GmbH (Borchen, Deutschland)
- Wistar Ratten (♂, 250 - 300 g) Charles River Laboratories (Sulzfeld, Deutschland)

Beide Tierversuche wurden von der Regierung von Unterfranken genehmigt (AZ: 55.2-2531.01-40/12 und 55.2-2531.102/13). Die Pflege und Haltung der Tiere erfolgte gemäß dem Leitfaden für Pflege und Verwendung von Versuchstieren des *US National Institutes of Health* (NIH Publikation Nr. 85-23, revidiert 1996) sowie der Bestimmungen des deutschen Tierschutzgesetzes einschließlich der Richtlinie 2010/63/EU. Die Haltung der Tiere erfolgte im Tierstall der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Würzburg. Zwischen Lieferung und erster Behandlung lag mindestens eine Woche zur Akklimatisierung der Tiere.

### 3.1.4 Radiopharmaka

Im Rahmen dieser Dissertation wurden PET-Daten aus Untersuchungen in Rattenmodellen ausgewertet, bei denen die Radiopharmaka 2-[<sup>18</sup>F]Fluor-2-desoxy-glukose ([<sup>18</sup>F]FDG) und [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan eingesetzt wurden. [<sup>18</sup>F]FDG wurde im Interdisziplinären PET-Zentrum (IPZ) des Universitätsklinikums Würzburg unter GMP-Bedingungen zur Patientenversorgung hergestellt. Hieraus wurde ein Aliquot für die präklinische Bildgebung mit  $\mu$ -PET bereitgestellt. Das Radiopharmakon [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan wurde in der AG Radiopharmazie entwickelt. Seine Synthese erfolgte nach einem in der Klinik-internen Radiopharmazie etablierten Verfahren [16]. Hieraus wurde ein sterilfiltriertes Aliquot für die Tierexperimente zur Verfügung gestellt. Die resultierenden  $\mu$ -PET-Datensätze wurden für die Testung des in dieser Arbeit entwickelten Datenanalyse-Programms bereitgestellt.

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Versuch A - Subarachnoidalblutung in Ratten

Den Bilddaten des Versuches A liegen [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET-Untersuchungen des Glukosestoffwechsels bei einer subarachnoidalen Blutung (SAB) in der Ratte zugrunde. Darauf aufbauend sollte untersucht werden, inwieweit sich der Glukosestoffwechsel in den einzelnen Hirnregionen im zeitlichen Verlauf kurz nach einer SAB bis hin zu sieben Tage danach verändert.

Induziert wurde die SAB anhand des endovaskulären Punktionsmodells nach Bederson *et al.* und Veelken *et al.* [50, 51]. Bei diesem Modell wird eine monofile 3-0-Naht durch die äußere Halsschlagader (*arteria carotis externa*) eingeführt und durch die innere Halsschlagader (*arteria carotis interna*) geleitet. Durch Punktierung der Gefäßwand in der Nähe der Bifurkation der mittleren Zerebralarterie mittels der angespitzten monofilen 3-0-Naht wird eine SAB ausgelöst.

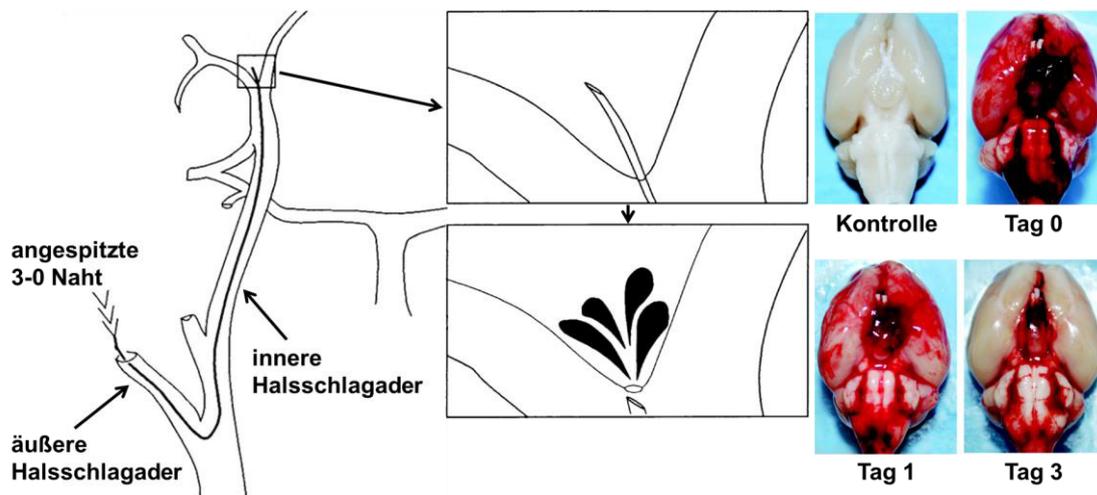


Abbildung 3.1 - Erzeugung einer SAB mittels einer endovaskulären Punktion: Links: Durch Zufuhr einer monofilen 3-0 Naht durch die Halsschlagader kann beim Durchstechen der Gefäßwand eine SAB ausgelöst werden (modifiziert nach [50]). Rechts: Makroskopische Darstellung einer SAB in einem Rattengehirn für Tag 0, 1 und 3 im Vergleich zu einem Kontrollgehirn [52].

Da die Präparation der Tiere kein Bestandteil dieser Doktorarbeit war, wird an dieser Stelle für genauere Informationen zur Generierung des SAB-Rattenmodells auf die Literaturangaben [27, 50, 53] verwiesen.

### 3.2.2 Versuch B - Ischämischer Schlaganfall in Ratten

Hinter den Bilddaten von Versuch B steht der folgende klinische Ansatz. Eine vorangegangene Studie konnte in einem äquivalenten Schlaganfallmodell zeigen, dass eine elektrische Tiefenhirnstimulation (engl. *deep brain stimulation*, DBS) im rechten mesencephalischen Bewegungsapparat (engl. *mesencephalic locomotor region*, MLR) die vom Schlaganfall beeinträchtigte Bewegungsfunktion verbessern kann [54]. Darauf aufbauend sollte anhand [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET festgestellt werden, ob eine DBS im rechten MLR nach einem ischämischen Schlaganfall den zerebralen Glukosestoffwechsel in der vom Schlaganfall betroffenen Region (rechter sensomotorischer Kortex) beeinflussen kann. In Kleintierstudien wird die zerebrale Ischämie oftmals mit Hilfe einer Photothrombose erzeugt, da sie lokal abgrenzbar und gut reproduzierbar ist [55, 56].

Zur Erzeugung der Photothrombose (PT) wurde den Tieren ein photosensibilisierender Farbstoff (Bengalrosa) injiziert. Nach anschließender optischer Beleuchtung durch die freigelegte Schädelkalotte reagierte der photosensibilisierende Farbstoff und es wurden Sauerstoffradikale erzeugt. Diese sehr reaktionsfreudigen Sauerstoffradikale wiederum aktivierten Endothelzellen und es kam zu einer Ansammlung an Blutplättchen [57]. Aufgrund des daraus resultierenden Gefäßverschlusses entwickelte sich ein ischämischer Schlaganfall. Direkt im Anschluss wurde den Tieren eine Elektrode im rechten mesencephalischen Bewegungsapparat implantiert. Die Fixierung der Elektrode erfolgte dabei per Verschraubung sowie Verklebung mit Zahnzement.

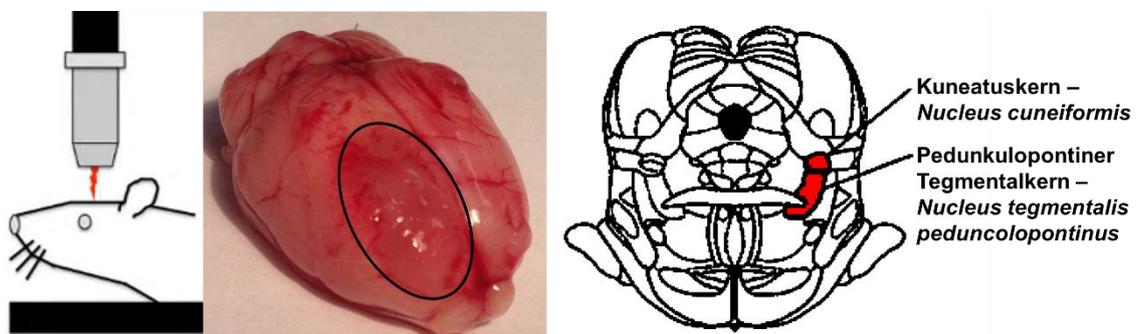


Abbildung 3.2 - Erzeugung einer Photothrombose mittels Bengalrosa: Links: Schematische Darstellung der Induktion einer Photothrombose. Mitte: Makroskopische Darstellung eines Rattengehirns mit durch Photothrombose indizierter Läsion im motorischen Kortex (schwarz eingekreist). Rechts: Grafische Darstellung der Regionen, in denen die Elektrode zur Elektrostimulation des motorischen Kortex platziert wurde (rot markiert). Die Darstellungen wurden modifiziert nach [54, 57].

Äquivalent zu Versuch A war die Präparation des Tier-Modells kein Bestandteil dieser Doktorarbeit. Für tiefere Informationen hinsichtlich der Erzeugung des Schlaganfalls sowie der Implantation der Elektrode wird auf die Literaturangaben [54, 58] verwiesen.

### 3.2.3 Durchführung der $\mu$ -PET-Messungen

Zur Erhöhung des Glukosestoffwechsels wurde den Tieren bei beiden Versuchen mindestens sechs Stunden vor der [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Injektion das Futter entzogen, während Wasser weiterhin uneingeschränkt zur Verfügung stand. Über den gesamten Zeitraum der Messdurchführungen hinweg befanden sich alle Tiere durch Zufuhr eines Gasgemisches aus 2 % Isofluran in 100 % Sauerstoff in Narkose. Für die Messungen wurden die Tiere in Bauchlage auf das Bett des  $\mu$ -PET-Scanners gelegt. Zur Vermeidung von Unterkühlungen wurden alle Tiere während der Narkose mittels Wärmeplatte und Infrarotlampe gewärmt. Die Positionierung des zu untersuchenden Organs erfolgte manuell mittels D-PET-Laser-Fadenkreuz, so dass das Organ zentriert im Sichtfeld (engl. *field of view*) des Detektorrings lag. In beiden Versuchen wurde die [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Injektionslösung über die Schwanzvene der Tiere injiziert. Nach jeder  $\mu$ -PET-Datenakquisition wurde zur Optimierung der Rekonstruktion direkt ein Transmissionsscan des narkotisierten Tieres angeschlossen. Alle Messzeiträume wurden in der Rekonstruktion in Zeitintervalle à 10 Minuten unterteilt. Neben diesen Gemeinsamkeiten bei den Messdurchführungen gab es zusätzlich folgende Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen.

In Versuch A wurden zwei experimentelle Gruppen untersucht, die Gruppe SAB, bei denen eine Hirnblutung induziert wurde, und eine Kontrollgruppe (Sham). Die Gruppe Sham wurde chirurgisch auf die gleiche Weise präpariert wie die Tier-Modelle der Gruppe SAB. Einziger Unterschied war der fehlende Schritt zum Hervorrufen der SAB. Anhand dieser Scheinoperation wurden die Effekte ausgeglichen, die durch den operativen Eingriff beim Setzen der SAB verursacht werden. Insgesamt wurden pro experimenteller Gruppe  $n = 7$  Tiere gemessen, wobei die Einteilung der Tiere in die jeweilige experimentelle Gruppe zufällig erfolgte. Die  $\mu$ -PET-Daten wurden in einem zeitlichen Abstand von 3 h, 1 Tag, 4 Tage und 7 Tage nach (Schein-)Operation der Tiere generiert. Hierfür wurden

40 Minuten nach Injektion von  $31 \pm 3$  MBq [ $^{18}\text{F}$ ]FDG entsprechende Messungen über einen (Mess-)Zeitraum von 20 Minuten durchgeführt. Die Rekonstruktion der PET-Daten erfolgte anhand der Standardeinstellungen (engl. *default settings*) des  $\mu$ -PET-Scanners und mittels OSEM2D. In Tabelle 3.5 sind die wichtigsten Informationen zum experimentellen Versuch A aufgeführt.

**Tabelle 3.5 - Informationen Versuch A - Tier-Modell Subarachnoidalblutung**

<b>Versuch A - SAB-Datenreihe</b>		
Radiotracer	2- $^{18}\text{F}$ Fluor-2-desoxy-glukose	
Tierart	Sprague Dawley Ratten ( $\sigma$ , 310 - 350 g)	
Schlaganfallssubtyp	Subarachnoidalblutung	
Experimentelle Gruppen	SAB	Sham
Anzahl pro Messgruppe	7 Tiere	7 Tiere
$\mu$ -PET-Messungen (nach OP)	+3 h, +1 Tag, +4 Tage und +7 Tage	
Injizierte Aktivität	$31 \pm 3$ MBq	
Akquisitionszeit	40 - 60 min nach Injektion (2 x 10 min)	
Transmissionszeit	61 - 74 min nach Injektion	
Rekonstruktion	OSEM2D	

In Versuch B wurden  $n = 10$  Tiere mittels  $\mu$ -PET untersucht, welche in zwei bzw. drei Zustandsgruppen unterteilt werden können: Sham, PT unstimuliert und PT stimuliert. Die Kontrollgruppe Sham wurde ein Tag vor der eigentlichen Präparation des Tieres als gesunde Referenz gemessen. Auch wenn es sich in diesem Fall um keine scheinoperierten Messdaten im eigentlichen Sinn handelt, wurde die Kontrollgruppe der Einfachheit halber in der Auswertung als Sham bezeichnet. Zwei Tage nach Erzeugung der PT und Implantation der Elektrode wurden die Tiere ohne elektrische Stimulation im  $\mu$ -PET gemessen (PT unstimuliert). Am dritten postoperativen Tag wurde bei jeder Ratte individuell die Wirkung der hoch- oder niederfrequenten Stimulation auf die Fortbewegung untersucht (PT stimuliert). Dabei wurden die Ratten über ein Kabel, welches von der implantierten Elektrode zu einem externen Stimulator (Multi Channel Systems MCS GmbH, STG 4002) führt, verbunden. Zur initialen Bestimmung der Intensitätsschwelle wurde eine Stromstärke von  $20 \mu\text{A}$  angelegt. Diese wurde, ähnlich Bachmann *et al.*, sukzessive in  $10 \mu\text{A}$ -Schritten erhöht, bis eine maximale

stimulationsbedingte Fortbewegung festgestellt wurde [59]. Die Reproduzierbarkeit der stimulationsbedingten Fortbewegung wurde getestet, indem der Stimulator zwei- bis dreimal ein- und ausgeschaltet wurde. Die niedrigste Intensität, die noch eine stimulationsinduzierte Fortbewegung (ohne Beeinträchtigung des Tieres) induzierte, wurde für die Dauerstimulation verwendet. Die Messdauer umfasste einen Zeitraum von 60 Minuten nach Injektion von [ $^{18}\text{F}$ ]FDG bei einer injizierten Aktivität von  $43 \pm 9$  MBq. Rekonstruiert wurden die gemessenen PET-Daten anhand der Standardeinstellungen des  $\mu$ -PET-Scanners und dem OSEM3D Rekonstruktionsalgorithmus. Tabelle 3.6 fasst die wichtigsten Informationen im Zusammenhang mit dem experimentellen Versuch B zusammen.

**Tabelle 3.6 - Informationen Versuch B - Tier-Modell ischämischer Schlaganfall (Photothrombose)**

<b>Versuch B - PT-Datenreihe</b>			
Radiotracer	2- [ $^{18}\text{F}$ ]Fluor-2-desoxy-glukose		
Tierart	Wistar Ratten ( $\sigma$ , 250 - 300 g)		
Schlaganfallsubtyp	Photothrombose		
Experimentelle Gruppen	Sham	PT unstimuliert	PT stimuliert
Anzahl pro Messgruppe	6 Tiere	10 Tiere	10 Tiere
$\mu$ -PET-Messungen (nach OP)	-1 Tag	+2 Tage	+3 Tage
Injizierte Aktivität	$43 \pm 9$ MBq		
Akquisitionszeit	0 - 60 min nach Injektion (6 x 10 min)		
Transmissionszeit	61 - 74 min nach Injektion		
Rekonstruktion	OSEM3D		

### 3.2.4 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan-Testdaten

Zur Veranschaulichung, dass das Datenanalyse-Programm auch für Target-spezifische Radiotracer eingesetzt werden kann, wurde es zusätzlich mit Hilfe weiterer PET-Daten getestet. Diese PET-Daten waren Teil einer [ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan-Studie von Israel *et al.*, bei der die P-Selektin-Aktivierung nach einem photothrombotischen Schlaganfall mittels Positronenemissionstomographie *in*

*vivo* untersucht wurde [17]. In Tabelle 3.7 sind die wichtigsten Informationen zu den [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Testdaten aufgeführt.

**Tabelle 3.7 - [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Testdaten - Tier-Modell ischämischer Schlaganfall (Photothrombose) [17]**

<b>Testdaten - P-Selektin</b>			
Radiotracer	[ <sup>68</sup> Ga]Fucoidan		
Tierart	Wistar Ratten (♂, 250 - 300 g)		
Schlaganfallsubtyp	Photothrombose		
Anzahl pro Messgruppe	16 Tiere	7 Tiere	3 Tiere
μ-PET-Messungen (nach OP)	2-5 h	24 h	48 h
Injizierte Aktivität	26 ± 8 MBq		
Akquisitionszeit	7 - 59 min nach Injektion (6 x 520 s)		
Transmissionszeit	0 - 6 min nach Injektion		
Rekonstruktion	OSEM3D		

## 3.3 Struktur des NU\_DPA-Programms

### 3.3.1 Übersicht der NU\_DPA-Skripte

Im Folgenden sind die einzelnen Matlab-Skripte des in dieser Doktorarbeit entwickelten Auswerteprogramms in tabellarischer Form aufgeführt.

**Tabelle 3.8 - Unterteilung und Inhalt der NU\_DPA-Skripte**

Skript	Ausführung
NU_DPA (Hauptskript)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aufgreifen aller weiterer Skripte</li> <li>• Manuelle Zuweisung notwendiger Parameter, wie z.B. Datensätze, MRT-Atlas, Zeitbereiche, Speicherung der Daten etc.</li> </ul>
NU_DPA_1_Import_Data	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Import der (Siemens Inveon) Bilddaten</li> </ul>
NU_DPA_2_PreProcessing_Data	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Unterteilung in die einzelnen Zeitbereiche</li> <li>• Beseitigung kleiner Artefakte, wie z.B. Streu-, Randartefakte etc.</li> </ul>
NU_DPA_3_Data_No_Sum_All_Images_Int_Equalization	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Einteilung aller Tiere in die jeweiligen Versuchsgruppen</li> <li>• Ausgleich injizierter Aktivitäten</li> </ul>
NU_DPA_4_MRI_Atlas_Minimization	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Größenanpassung des MRT-Atlas' sowie des zugehörigen T2*-gewichteten Bilddatensatzes</li> <li>• Größenanpassung der einzelnen Teilregionen</li> </ul>
NU_DPA_5_VOI_Segmentation_SHAM_Template NU_DPA_5_1_Multiple_Measurements_Same_Animal NU_DPA_5_2_VOI_Segmentation_nonSHAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>Sham</u>: Segmentierung des Zielvolumens für die Bilddaten der Kontrollgruppe bzw. die Bilddaten mit der größten Gruppenanzahl</li> </ul>
NU_DPA_6_VOI_Orientation3D_Reference NU_DPA_6_1_VOI_Orientation3D_Reference	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bestimmung der Ausrichtung des VOI im 3D-Raum</li> </ul>
NU_DPA_7_Centering_SHAMTemplateReg_SimMeasures NU_DPA_7_1_Centering_TemplateReg_SimMeasures	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zentrierung und Erstellung des Kontrollgruppe-Templates bzw. eines Templates aus den Bilddaten mit der größten Gruppenanzahl</li> </ul>
NU_DPA_8_VOI_Segmentation_DataStates_VOIsegm NU_DPA_8_1_VOI_Segmentation_DataStates_VOIsegm	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>Erkrankung</u>: Segmentierung des VOI für die Krankheitsbild-Bilddatensätze</li> </ul>
NU_DPA_9_Registration_Rigid	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rigide Registrierung auf Kontrollgruppe-Bilddatensatz des gleichen Tieres anhand des VOI</li> </ul>

Skript	Ausführung
NU_DPA_9_1_2nd_Template_Disease NU_DPA_9_2_Registration_2nd_Template_Disease NU_DPA_9_3_2nd_Template_Disease_SHAM_Template	<ul style="list-style-type: none"> <li>Falls Kontrollgruppe-Bilddatensatz des gleichen Tieres <u>nicht</u> vorhanden:</li> <li>Erstellung eines zweiten Krankheitsbild-Templates auf den am besten ausgerichteten Bilddatensatz (rigide Registrierung, da z.B. Organveränderungen, Entzündungen, Wundheilungsprozesse etc.</li> <li>Rigide Registrierung anhand des VOI</li> </ul>
NU_DPA_10_Registration_Affine_on_Template_SHAM NU_DPA_10_1_Registration_Affine_on_Template_SHAM NU_DPA_10_2_Registration_Affine_on_Template_Data	<ul style="list-style-type: none"> <li>Affine Registrierung aller Kontrollgruppe-Bilddatensätze auf das Kontrollgruppe-Template (mit zweiten Krankheitsbild-Template, einzelner Kontrollgruppe-Template bzw. dem Template bestehend aus den Daten mit der größten Gruppenanzahl)</li> </ul>
NU_DPA_11_CoRegistration_MRI_Atlas_PET_Template	<ul style="list-style-type: none"> <li>Affine Co-Registrierung Kontrollgruppe-Template auf den T2*-gewichteten MRT-Bilddatensatzes</li> </ul>
NU_DPA_12_Individual_Atlas_Regions	<ul style="list-style-type: none"> <li>Unterteilung der einzelnen Teilregionen in deren Intensitätsanteile</li> </ul>
NU_DPA_13_Statistical_Parameters	<ul style="list-style-type: none"> <li>Berechnung semiquantitativer Parameter: normalisierte Radioaktivität, Standardized Uptake Value, Uptake Ratio</li> </ul>
NU_DPA_14_Boxplots	<ul style="list-style-type: none"> <li>Erstellen von Boxplots für alle Regionen über alle Zeitbereiche</li> </ul>
NU_DPA_15_QQ_Plots	<ul style="list-style-type: none"> <li>Erstellen von QQ-Plots für alle Regionen über alle Zeitbereiche</li> </ul>
NU_DPA_16_Numerical_Tests_Normal_Distribution	<ul style="list-style-type: none"> <li>Numerische Tests auf Normalverteilung: Anderson-Darling, Shapiro-Wilk</li> </ul>
NU_DPA_17_1_NonParametric_ST_Dependant NU_DPA_17_2_NonParametric_ST_Independant NU_DPA_17_3_NonParametric_ST_Dependant_MM NU_DPA_17_4_NonParametric_ST_Independant_MM NU_DPA_17_5_Parametric_ST_Dependant NU_DPA_17_6_Parametric_ST_Independant NU_DPA_17_7_Parametric_ST_Dependant_MM NU_DPA_17_8_Parametric_ST_Independant_MM	<ul style="list-style-type: none"> <li>Statistische Tests</li> <li>Nichtparametrische Tests bei Datenanzahl <math>\leq 30</math> für verbundene und unverbundene Einzelmessungen bzw. Mehrfachmessungen (engl. <i>multiple measurements</i>, MM)  <i>Wilcoxon signed rank test</i>, <i>Friedman's test</i> (Ph: <i>Wilcoxon signed rank test</i>), <i>Wilcoxon rank sum test</i>, <i>Kruskal-Wallis Test</i> (Ph: <i>Wilcoxon rank sum test</i>)</li> <li>Parametrische Tests bei Datenanzahl <math>&gt; 30</math> für verbundene und unverbundene Einzelmessungen bzw. Mehrfachmessungen (engl. <i>multiple measurements</i>, MM)  <i>Ttest</i>, <i>Anova1</i> (Ph: <i>Bonferroni</i>), <i>Ttest2</i>, <i>Anova2</i> (Ph: <i>Bonferroni</i>)</li> </ul>
NU_DPA_18_Measurement_Time_Course	<ul style="list-style-type: none"> <li>Zeitlicher Verlauf bei Mehrfachmessungen</li> </ul>

### 3.3.2 Funktionsweise des Datenanalyse-Programms

Die nachfolgende grafische Darstellung stellt schematisch die einzelnen Verarbeitungsschritte des NU\_DPA-Programms dar. Der rote Pfeil in Abbildung 3.3 markiert den Verarbeitungsschritt, ab dem das NU\_DPA-Programm eigenständig arbeitet. Die jeweiligen Unterpunkte werden in den nachfolgenden Kapiteln genauer erläutert.

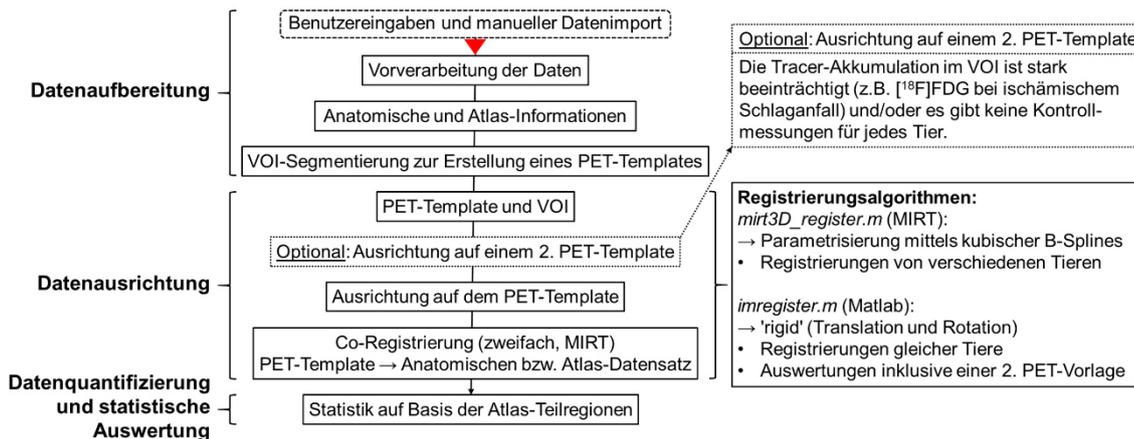


Abbildung 3.3 - Schematischer Verlauf der NU\_DPA-Verarbeitungsschritte

#### 3.3.2.1 Datenaufbereitung

##### **Benutzereingaben und manueller Datenimport**

Bevor die Datenanalyse ausgeführt werden kann, müssen mehrere Voreinstellungen vorgenommen werden. Dazu gehören z.B. die Eingabe der Ein-/Ausgabepfade, die Bezeichnung der Zeitbereiche, die Zuordnung in die jeweilige Versuchsgruppe oder die räumlichen Auflösungsparameter der PET- und MRT-Bilddatensätze. Anschließend müssen die rekonstruierten Siemens Inveon  $\mu$ -PET-Bilddaten einzeln und manuell in Matlab importiert werden.

##### **Vorverarbeitung der Daten**

Beim Import jedes einzelnen Bilddatensatzes werden, vom Programm ausgehend, die ersten und letzten fünf peripheren Schichten automatisch aus den zeitlich unterteilten Bildern ausgeschlossen. Des Weiteren werden kleinere Artefakte aus den Bildern eliminiert. Dafür werden die Bilder zunächst in Binärbilder umgewandelt. Anhand der Matlab-implementierten Funktion *bwconncomp.m* können zusammenhängende Objekte im 3D-Raum gefunden werden. Alle Objekte mit weniger als fünf zusammenhängenden Komponenten

von 26 möglichen werden lokalisiert und direkt aus den binären Bildern entfernt. Durch Multiplikation der Binärbilder als Maske werden die kleinen Artefakte ebenso aus dem nicht-binären Datensatz ausgeschlossen. Diese Verarbeitungsschritte stehen im direkten Zusammenhang mit dem manuellen Import der Bilddaten und sollen das Signal-Rausch-Verhältnis verbessern. Wenn alle Bilddatensätze importiert wurden, kann das Programm ausgeführt werden.

Anschließend werden im ersten vom Programm ausgeführten Verarbeitungsschritt die Zeitbereiche jedes Bilddatensatzes aufsummiert. Dieser aufsummierte Bilddatensatz wird zur Ausrichtung der Bilddaten verwendet, da er die höchsten Intensitätswerte besitzt. Für die Datenquantifizierung und statistische Auswertung (Kapitel 3.3.2.3) werden hingegen die einzelnen Zeitbereiche verwendet. Weiterhin werden die Intensitätsunterschiede der aufsummierten Bilddatensätze aller Tiere innerhalb der jeweils zugeordneten Versuchsgruppen durch einen individuellen Multiplikationsfaktor angepasst. Dieser Schritt ist notwendig, um die Unterschiede der injizierten Radioaktivität zu kompensieren. Der Multiplikationsfaktor für jeden aufsummierten Bilddatensatz berechnet sich aus dem Verhältnis des maximalen gemittelten Intensitätswertes aller Bilddatensätze zum gemittelten Intensitätswert der einzelnen Bilddatensätze. Anhand der eingegebenen Namen und der zugeordneten Versuchsgruppe legt das NU\_DPA-Programm fest, ob für ein Tier mehrere Messungen durchgeführt wurden (z.B. bei einer Verlaufsstudie).

### ***Anatomische und Atlas-Informationen***

Im darauffolgenden Schritt werden der T2\*-gewichtete MRT-Bilddatensatz bzw. der dazugehörige MRT-Atlas auf die räumlich schlechtere Auflösung der PET-Bilddaten reduziert. Die Anpassung der räumlichen Auflösung der MRT-Bilddaten erfolgt anhand der Matlab-implementierten Funktion *imresize3.m* mit linearer Interpolation. Die MRT-Datensätze, die zur Implementierung dieses NU\_DPA-Programms verwendet wurden, sind in Tabelle 3.4 aufgeführt. Je nachdem, welches Organ bzw. welche Spezies untersucht werden soll, kann der Anwender den (stereotaktischen) Atlas auf das zu untersuchende VOI anpassen. Bei beiden Versuchsreihen A und B wurden neurologische Erkrankungen in Ratten untersucht. Daher wurden, für das VOI geeignete, MRT-Gehirn-Bilddatensätze verwendet, die das vollständige Gehirn der zu untersuchenden Rattenart umfassen.

Zusätzlich zum MRT-Datensatz und dem dazugehörigen MRT-Atlas werden die einzelnen Teilregionen des MRT-Atlas' auf die gleichen Maße linear interpoliert. Jede Teilregion im MRT-Atlas besitzt ihren eigenen, ihr zugeteilten, ganzzahligen Wert. Damit es zu keinen Voxel-basierten Verzerrungen bei der linearen Interpolation einer Teilregion kommt, wird bei der Anpassung der räumlichen Auflösung jeder Teilregion, abgesehen von der zu betrachtenden Teilregion, der Wert eins zugewiesen. Nach der Interpolation kann somit festgestellt werden, inwieweit die zu betrachtende Teilregion mit anderen Voxeln interpoliert wurde. Dieser Schritt wird für alle Teilregionen durchgeführt. Jeder Wert  $> 1$  und  $\leq$  dem ihr zugeteilten, ganzzahligen Wert muss anteilmäßig zu der zu betrachtenden Teilregion gehören. Letztendlich lässt sich nach Minimierung aller Teilregionen mathematisch der prozentuale Anteil einer jeden Teilregion für jedes Voxel berechnen. Das erlaubt beispielsweise gegenüber der NN-Interpolation eine genauere Analyse. Die nachfolgende Darstellung soll anhand des Cerebellums die hier beschriebenen Schritte noch einmal grafisch verdeutlichen.

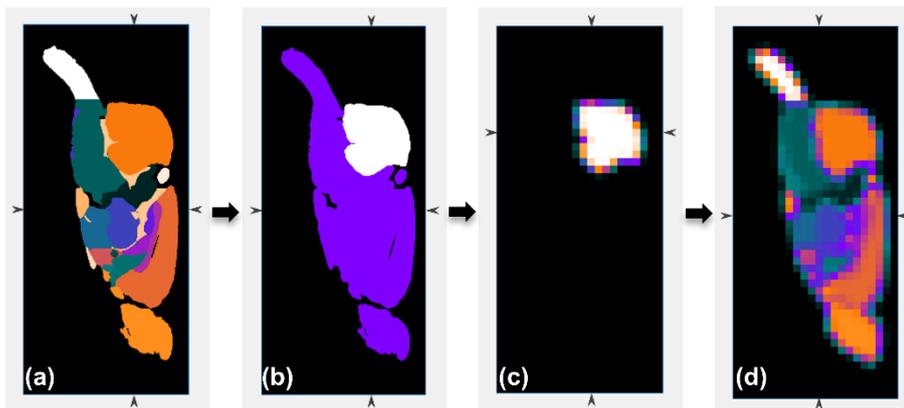


Abbildung 3.4 - Lineare Interpolation des MRT-Atlas'[25]: Anpassung des MRT-Atlas' auf die Auflösung der PET-Daten anhand linearer Interpolation (am Beispiel des Cerebellums). Um eine Region des räumlich hochaufgelösten MRT-Atlas (a) auf die räumlich schlechtere PET-Auflösung anzupassen wird allen Regionen, bis auf das Cerebellum, der Wert 1 zugewiesen (b). Der Wert der Cerebellum-Region verbleibt größer 1. Durch lineare Interpolation auf die Auflösung der PET-Daten lässt sich für alle Werte größer 1 herausfinden, inwieweit die Cerebellum-Region anteilig in einem Voxel vorhanden ist (c). Dieser Schritt wird nun für alle weiteren Regionen wiederholt, bis alle in ihrer Auflösung angepasst sind (d). Abschließend kann für jedes Voxel der prozentuale Anteil einer jeden Region bestimmt werden.

### ***VOI-Segmentierung zur Erstellung eines PET-Templates***

Der von der räumlichen Auflösung angepasste MRT-Atlas dient letztendlich als Hilfsgröße zur Segmentierung des Zielvolumens. Unter der Annahme, dass bei allen experimentellen Gruppen die Kontrollgruppe die wenigsten Abweichungen bzw. Veränderungen zu einem gesunden Datensatz aufweist, bildet in der Regel

die Kontrollgruppe die Grundlage für das PET-Template. Die Segmentierung der VOI bei den Bilddatensätzen mit Erkrankung erfolgt entsprechend der VOI-Segmentierung der Kontrollgruppe. Allerdings sollte die Segmentierung bei den Bilddatensätzen mit Erkrankung aufgrund der Einflussfaktoren (veränderter Uptake, Implantate etc.) noch kritischer betrachtet werden als bei den Bilddatensätzen der Kontrollgruppe. Sollten unter Umständen keine Bilddaten einer Kontrollgruppe vorliegen, so erstellt das Auswerteprogramm ein PET-Template aus den Bilddaten mit der größten Anzahl an Bilddatensätzen. Exemplarisch wären hierzu die [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Testdaten (Kapitel 3.2.4) zu nennen.

Die Referenz für das PET-Template entspricht dabei dem Bilddatensatz, bei dem die Ausrichtung des VOI die geringsten Abweichungen zu den Achsen des 3D-Raumes aufweist. Daher muss die automatische Erkennung und Segmentierung des VOI zwar noch nicht perfekt sein, sollte aber dennoch so genau wie möglich sein. Je nach Eingabe durch den Anwender, ob es sich bei dem applizierten Radiotracer um einen sich symmetrisch (z.B. [<sup>18</sup>F]FDG in einem gesunden Gehirn) oder Target-spezifisch (z.B. [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan) anreichernden Radiotracer handelt, verlaufen die VOI-Segmentierungen unterschiedlich:

#### Untersuchung des Glukosemetabolismus mit [<sup>18</sup>F]FDG

Aufgrund der manuellen Platzierung und Zentrierung des Tieres innerhalb des  $\mu$ -PET-Scanners wird das letzte Drittel des vollständig rekonstruierten Bilddatensatzes in z-Richtung eliminiert. Regionen wie z.B. Herz oder Abdomen, die aufgrund des Uptakes als falsche VOI detektiert werden könnten, lassen sich somit ausschließen. Bei einer anzunehmenden, hohen Anreicherung des Radiotracers im VOI, wie z.B. bei [<sup>18</sup>F]FDG im Gehirn, wird in dem Datensatz mittels Schwellwert-Annäherung nach einem zusammenhängenden Objekt gesucht, das ungefähr der Größe des MRT-interpolierten Atlas' entspricht. Die Anpassung des Schwellwerts erfolgt mithilfe der Otsu-Methode (*multithresh.m*). Anschließend wird aus den reduzierten PET-Bilddaten ein binäres Bild erzeugt. Über das binäre Bild aus reduzierten PET-Daten wird nun der in der räumlichen Auflösung angepasste MRT-Atlas (ebenfalls als binäre Maske) schrittweise und in verschiedenen Ausrichtungen und in 2°-Winkeländerungen (von -20° bis +20°) darübergerlegt. Mittels Konturabgleich (*bfscore.m*) wird bewertet, inwieweit die übereinandergelegten Bilder miteinander übereinstimmen. Dabei wird die

Überlagerung mit der höchsten Bewertung als VOI deklariert. Abbildung 4.1 stellt den Prozess der VOI-Segmentierung anhand eines Beispiels erneut dar.

### Untersuchung mit dem Target-spezifische Radiotracer [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan

Bei einem sich spezifisch an einem Target anreichernden Radiotracer, wie in diesem Fall [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan, wird erwartet, dass es am bzw. im Target des VOI zu der höchsten Anreicherung des Radiotracers kommt. Es ist somit davon auszugehen, dass das Target die höchsten Intensitätswerte im VOI besitzt. In den umliegenden Regionen (inkl. des VOI) sind aufgrund der Spezifität des Radiotracers dementsprechend deutlich niedrigere Intensitätswerte anzunehmen. Dies erschwert die Detektion des VOI stark.

Äquivalent zur VOI-Segmentierung des metabolischen Radiotracers ist das VOI aufgrund der manuellen Zentrierung im Detektorring des  $\mu$ -PET mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht im hinteren Drittel des Bilddatensatzes zu erwarten (z-Achse). Durch Ausschluss des letzten Drittels der z-Achse lassen sich auch hier die Bilddaten wesentlich reduzieren. Anschließend werden die Bilddaten ebenfalls mit Hilfe von Schwellwertanpassungen nach Otsu (*multithresh.m*) weitergehend minimiert. Aufgrund der geringen Radiotracer-Aufnahme innerhalb des VOI ist eine ausreichende VOI-Segmentierung jedoch schwierig, da auch andere Strukturen ähnliche Intensitätswerte aufweisen. Daher werden vorimplementierte, morphologische Matlab-Operationen (*bwconncomp.m*, *bwmorph3.m*, *imdilate.m*, *imerode.m*, *watershed.m*) eingesetzt, um die Bildinformation weiter auf das VOI einzuschränken. Aus den verbleibenden Bilddaten wird anschließend ein Binärbild erzeugt. Aus dem Binärbild werden die inneren Voxel der binären Volumina lokalisiert (*bwmorph3.m*), die als Ausgangspunkte für den Konturabgleich mit dem linear interpolierten, binären MRT-Atlas dienen. Da die Lage des VOI im 3D-Raum nicht bekannt ist, wird der Konturabgleich für verschiedene Orientierungen und Winkel des linear interpolierten MRT-Atlas durchgeführt (*imrotate3.m*, 2° Winkeländerungen von -20° bis +20°). Abbildung 4.9 stellt die VOI-Segmentierung für den Target-spezifische Radiotracer [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan erneut dar.

### **3.3.2.2 Datenausrichtung**

Um Intensitätsunterschiede in den Bilddaten auszugleichen, werden alle (Co-)Registrierungsprozesse mittels normalisierten Bilddaten durchgeführt. Die

eigentliche Ausrichtung der Bilddaten erfolgt jedoch anhand der originalen Bilddaten. Bei jeder Registrierung erzeugen beide im NU\_DPA verwendeten Registrierungsalgorithmen (Kapitel 3.1.2) neben dem ausgerichteten Bild zusätzlich eine Transformationsmatrix. Diese Transformationsmatrix beinhaltet die einzelnen Anpassungsschritte der (Co-)Registrierung (Gitterpunkte) und kann auch auf weitere (ausgerichtete) Bilddatensätze angewendet werden. So können beispielsweise alle bereits am PET-Template ausgerichteten Bilddatensätze mit Hilfe der Transformationsmatrizen, die bei der zweimaligen affinen (Co-)Registrierung (PET-Template  $\rightarrow$  T2\*-gewichteten MRT-Bilddatensatz) erstellt werden, auf den MRT-Atlas ausgerichtet werden. Eine einzelne Ausrichtung aller Bilddaten auf den T2\*-gewichteten MRT- Bilddatensatz ist daher nicht notwendig.

### ***PET-Template und VOI***

#### *Bestimmung des Referenzdatensatzes*

Um den Referenzbilddatensatz der PET-Vorlage zu bestimmen, werden zunächst die Winkelorientierungen des VOI für alle Bilddatensätze der experimentellen Kontrollgruppe im 3D-Raum berechnet. Entscheidend für die Berechnung der Winkel sind der VOI-umschließende Kuboid, die Eigenvektoren sowie die Achsenlängen. Diese können mit der Matlab-Funktion *regionprops3.m* aus dem Binärbild des VOI ermittelt werden. Aufgrund der manuellen Positionierung des Kleintieres im Tomographen und der spezifischen „Ellipsoid-Form“ des Gehirns, werden die Achsenlängen von lang nach kurz den Ausrichtungen in z-, x- und y-Richtung zugeordnet. Der Bilddatensatz, der die kleinsten Winkelabweichungen in z-, x- und y-Richtung zu den Achsenrichtungen besitzt, bildet den Referenzbilddatensatz der PET-Vorlage. Auf diesen werden alle weiteren Datensätze der experimentellen Kontrollgruppen anhand des MIRT-Registrierungsalgorithmus ausgerichtet [42]. Vor der Registrierung wird der Referenzbilddatensatz allerdings noch im 3D-Raum zentriert. Der geometrische Schwerpunkt des VOI im 3D-Raum lässt sich ebenfalls durch die Matlab-implementierte Funktion *regionprops3.m* bestimmen.

#### *Erstellung des PET-Templates und VOI-Segmentierung*

Nach der Registrierung aller Bilddatensätze wird das PET-Template aus dem Mittelwert aller aufeinander ausgerichteten Bilddatensätze gebildet (MIRT-

Registrierungsalgorithmus, 1000 Iterationsschritte,  $1e^{-9}$  Toleranz, Korrelationskoeffizient als Ähnlichkeitsmaß).

Für die zukünftige Co-Registrierung mit dem T2\*-gewichteten MRT-Bilddatensatz wird im gleichen Verarbeitungsschritt das VOI aus der PET-Vorlage segmentiert. Dabei erfolgt die VOI-Segmentierung der PET-Vorlage für den metabolischen Radiotracer [ $^{18}\text{F}$ ]FDG entsprechend den Ausführungen in Kapitel 3.3.2.1. Bei dem [ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan-PET-Template machen es die geringen Intensitätswerte innerhalb des VOI des gesunden Hirngewebes jedoch schwierig, das VOI möglichst genau zu segmentieren. Daher müssen die einzelnen Segmentierungsschritte in Kapitel 3.3.2.1 optimiert werden.

Zunächst werden die Bildinformationen des [ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan-PET-Template auf die Größe eines Quaders eingegrenzt. Dies ist möglich, da das VOI des Referenzdatensatzes vor der Erstellung der PET-Vorlage zentriert wurde. Aufgrund der Target-Spezifität des Radiotracers, in diesem Fall der Bindung am exprimierten P-Selektin nach ischämischem Schlaganfall, ist von keiner (hohen) Radiotracer-Anreicherung in den nicht betroffenen Arealen des VOI auszugehen. Durch den Ausschluss der Intensitäten mit höheren Werten als der Hälfte des maximalen Intensitätswerts können die Bilddaten daher entsprechend reduziert werden. Zwar werden somit die Intensitätswerte am bzw. um das Target ausgeschlossen, aber das eigentliche fokussierte VOI (in diesem Fall das Gehirn mit geringem Radiotracer-Uptake) bleibt im Bilddatensatz erhalten. Da die verbleibenden Bilddaten nun niedrige Intensitätswerte enthalten, werden zur besseren Erkennung der gesunden Hirnareale die Bildintensitätswerte angepasst (*imadjust.m*) und invertiert. Das heißt, hohe Werte werden zu niedrigen Werten und umgekehrt. Mit Hilfe von vorimplementierten morphologischen Matlab-Operationen (z.B. *imdilate.m*) wird als nächstes ein, im 3D-Raum zentriertes, singuläres Voxel schrittweise auf die Größe des VOI erweitert. Das skelettierte Gradientenbild (`['skel', Inf]`, *bwmorph.m* in z-Richtung) des normalisierten und intensitätsinvertierten Bildes dient dabei als Begrenzung der Größe.

### ***Ausrichtung auf dem PET-Template***

Registrierungen mit verschiedenen Tieren werden mit dem MIRT-Registrierungsalgorithmus durchgeführt [42]. Dies ist auch der Fall, wenn die Datensätze der

Kontrollgruppe auf die PET-Vorlage registriert werden (MIRT-Registrierungsalgorithmus, 1000 Iterationsschritte,  $1e^{-9}$  Toleranz, Korrelationskoeffizient als Ähnlichkeitsmaß).

Basierend auf den Eingaben des Benutzers werden Datensätze mit gleichen Namensbezeichnungen, aber unterschiedlichen experimentellen Versuchszuständen (z.B. Name: Ratte\_No\_1, Zustand: Sham gegenüber Name: Ratte\_No\_1, Zustand: Ischaemie), rigide auf einander registriert. Der verwendete Registrierungsalgorithmus ist der von Matlab implementierte *imregister.m*-Algorithmus (2000 Iterationsschritte, Toleranzkriterium:  $1e^{-21}$ ). Wenn eine Kontrollmessung desselben Tieres verfügbar ist, wird die rigide Registrierung von den Krankheitsbildern auf das Bild des Kontrollzustands durchgeführt. Die Anwendung rigider Registrierungsalgorithmen gilt auch bei Mehrfachmessungen desselben Tieres im gleichen experimentellen Zustand.

Bekanntermaßen kann es bei rigiden Registrierungen durch falsche Drehung oder Verschiebung schnell zu fehlerhaften Ausrichtungen kommen. Dies ist beispielsweise der Fall, wenn irrelevante Bereiche, wie z.B. die Pfoten der Tiere, die Ausrichtung beeinflussen. Auch die alleinige Fokussierung auf die beiden segmentierten VOI führt aufgrund von Rotationsfehlern meist zu einer unzureichenden Ausrichtung der Bilder. Bei starren Ausrichtungen werden daher vom NU\_DPA-Programm neben dem segmentierten VOI auch bestimmte Hilfsstrukturen bei der Registrierung berücksichtigt.

#### Optimierung der Ausrichtung durch Einbeziehen von Hilfsstrukturen bei metabolischen Radiotracern

Bei den beiden Versuchen A und B zur primären Implementierung des Analyseprogramms eingesetzten Radiotracers, handelt es sich um den metabolischen Radiotracer  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ . Dieser reichert sich neben dem Gehirn auch noch stark in den mit dem Gehirn verbundenen Harderianischen Drüsen an. Harderianische Drüsen finden sich bei vielen Landwirbeltieren (u.a. Ratten), welche eine zusätzliche Bindehautfalte im nasenseitigen Augenwinkel besitzen [60]. Durch ihre Verbindung zum Gehirn eignen sich diese Drüsen gut als Hilfsstrukturen und können beispielsweise bei rigiden Registrierungen zusätzliche Richtungsinformationen beisteuern. Auch bei einer Veränderung der Radiotracer-Akkumulation innerhalb des VOI (z.B. nach einem ischämischen

Schlaganfall) besitzen die Harderianischen Drüsen weiterhin einen hohen [<sup>18</sup>F]FDG-Uptake.

### Optimierung der Ausrichtung durch Einbeziehen von Hilfsstrukturen bei Target-spezifischen Radiotracern

Für Radiotracer, welche sich Target-spezifisch anreichern, besteht diese Option aufgrund der fehlenden Radiotracer-Anreicherung in den Harderianischen Drüsen nicht. Da allerdings anzunehmen ist, dass der Kopf der Ratte die gleiche Ausrichtung wie das segmentierte Gehirn besitzt, wird in diesem Fall der Kopf der Ratte zum intensitätsinvertierten VOI hinzugefügt.

Zu diesem Zweck wird das segmentierte VOI (Kapitel 3.3.2.1) aus dem Originalbild in erweiterter Form extrahiert. Anschließend werden, ähnlich wie bei der VOI-Segmentierung der PET-Vorlage, die Intensitätswerte invertiert. Dies hebt die geringe Radiotracer-Anreicherung im gesunden Hirngewebe hervor und fokussiert die Ausrichtung auf das segmentierte VOI. Um den Kopf der Ratte hinzuzufügen, wird aus dem Bild ein gefülltes, binäres Bild erstellt. Dieses binäre Bild wird in x- und y-Richtung auf die Abmessungen des umschließenden Quaders des VOI (*regionprops3.m*) und in z-Richtung auf die erste Hälfte reduziert. Außerdem werden alle Voxel, die bereits im intensitätsinvertierten VOI enthalten sind, ausgeschlossen. Das Ausgangsbild wird dann mit der erstellten binären Maske multipliziert und seine Intensitätswerte werden halbiert, da der Kopf der Ratte nur eine Hilfsstruktur bleiben soll. In einem letzten Schritt werden die intensitätsinvertierten VOI und der Kopf der Ratte kombiniert. Abbildung 4.11 zeigt nochmals die Einbeziehung des Rattenkopfes anhand eines Beispiels.

### **Optional: Ausrichtung auf einem 2. PET-Template**

Unter Umständen kann die Auswertung der Bilddaten mit Hilfe eines 2. PET-Templates erfolgen, beispielsweise wenn die Bilddaten stark durch äußere Einflussparameter (z.B. Entzündungsprozesse, Veränderung der [<sup>18</sup>F]FDG-Akkumulation nach einem ischämischen Schlaganfall, etc.) beeinträchtigt wurden. Das 2. PET-Template soll helfen, das unterschiedliche Uptake-Verhalten eines Radiotracers in verschiedenen Versuchsgruppen zu kompensieren bzw. begleitende Effekte zu berücksichtigen. Dazu zählen beispielsweise Wundheilungsprozesse aufgrund chirurgischer Eingriffe oder starke Entzündungsprozesse. Des Weiteren kann eine 2. PET-Vorlage nützlich sein,

wenn z.B. Kontrollgruppe und Versuchsgruppe nicht die gleichen Tiere oder die gleiche Anzahl von Tieren enthalten. Nichtsdestotrotz, ob eine Auswertung mit Hilfe einer 2. PET-Vorlage erfolgt, hängt vom initialen Input des Anwenders ab.

Ähnlich dem PET-Template handelt es sich beim 2. PET-Template um einen gemittelten PET-Datensatz. Das 2. PET-Template sollte auf der experimentellen Gruppe mit Erkrankung basieren, die die geringste Diskrepanz zu den Datensätzen der Kontrollgruppe aufweist. Die Ausrichtung der Bilddaten erfolgt hierbei anhand starrer bzw. rigider Registrierung auf den am besten zu den Achsen des Koordinatensystems ausgerichteten VOI der experimentellen Gruppe mit Erkrankung. Die VOI-Segmentierung zur Erstellung einer 2. PET-Vorlage folgt der Beschreibung in Kapitel 3.3.2.1. Dabei ist zu berücksichtigen, dass bei Registrierungen von Bilddatensätzen verschiedener Tiere in der Regel eine affine Registrierung eingesetzt wird. Durch die zusätzlichen Ausrichtungsmöglichkeiten bei einer affinen Registrierung (Scherung und Skalierung) würden die starken äußeren Einflussparameter allerdings zu einer fehlerhaften Ausrichtung der Bilddaten führen. Basierend auf der Annahme, dass das VOI der unterschiedlichen Tiere eine vergleichbare Größe hat, können anhand der rigiden Registrierung und anschließender Mittelung solche individuellen, unterschiedlich stark ausgeprägten, krankheitsbedingten Minder- bzw. Mehranreicherungen des Radiotracers im Bild abgeschwächt werden. Daher wird die rigide Registrierung der affinen vorgezogen.

Nach Registrierung aller Datensätze auf dem 2. PET-Template erfolgt die Ausrichtung auf dem PET-Template (gemittelter Datensatz der Kontrollgruppe). Diese erfolgt anhand der Transformationsmatrix, generiert aus der rigiden Registrierung des 2. PET-Template auf das PET-Template. Ausschlaggebend für die rigide Registrierung sind weiterhin die erwähnten starken äußeren Einflussparameter bei der Versuchsdurchführung und die damit nicht auszuschließende Veränderung in der Radiotracer-Anreicherung.

### ***Schematische Darstellung der Ausrichtung der PET-Bilddaten***

Die Ausrichtung akquirierter PET-Daten erfolgt letztendlich nach folgendem Schema, welches anschließend im Einzelnen erläutert wird:

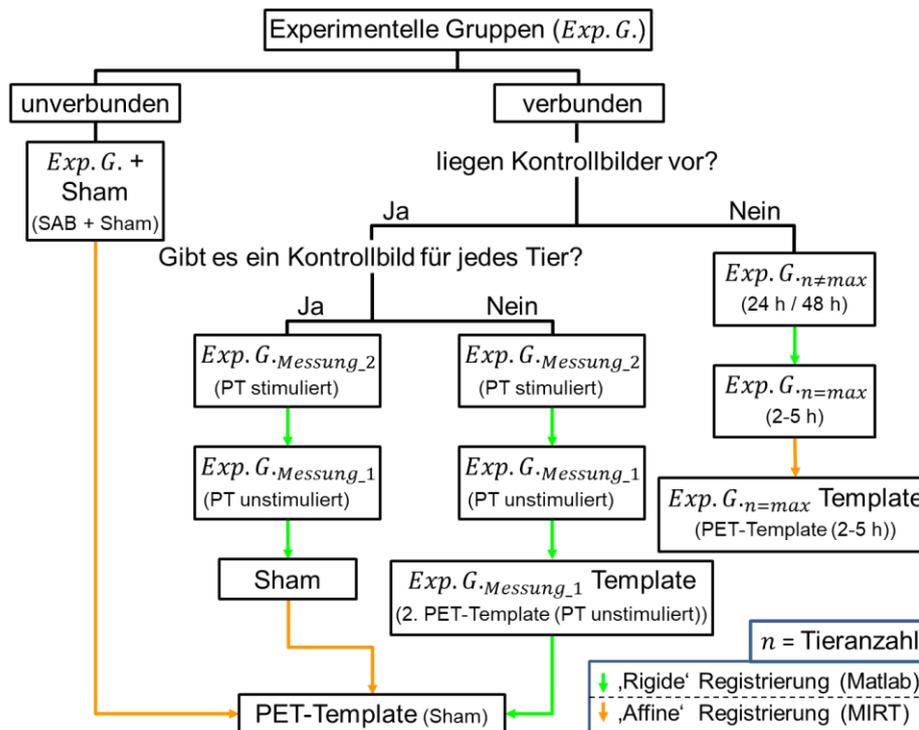


Abbildung 3.5 - Schematische Darstellung der Ausrichtung der PET-Daten auf dem PET-Template.

Für Studien, bei denen die experimentellen Gruppen unverbunden sind (das heißt die experimentellen Gruppen beinhalten unterschiedliche Tiere), werden alle PET-Bilddatensätze direkt anhand affiner Registrierung auf das PET-Template registriert. Exemplarisch für diese Art der Datenauswertung wäre die Ausrichtung der Bilddaten von Versuch A - SAB-Datenreihe (Tabelle 3.5):

Sham/SAB → affine Reg. → PET-Template (Sham)  
 [erster Pfad von links, Abbildung 3.5]

Bei PET-Bilddatensätzen desselben Tieres, die an verschiedenen Messtagen ermittelt wurden, erfolgt die Ausrichtung der Bilddaten von den Krankheitsbildern auf das Bild des Kontrollzustandes unter der Annahme, dass es zu keiner starken Veränderung in der Größe des VOI gekommen ist. Nach rigider Ausrichtung aller Bilddaten auf dem zum gleichen Tier zugehörigen Kontrollbild-Datensatz erfolgt eine affine Registrierung des Kontrollbild-Datensatzes auf das erstellte PET-Template. Als Beispiel wäre dazu die Ausrichtung der Versuch B - PT-Datenreihe (Tabelle 3.6, 6 Tiere) zu nennen:

PT stimuliert → rigide Reg. → PT unstimuliert → rigide Reg. →  
 → Sham → affine Reg. → PET-Template (Sham)  
 [zweiter Pfad von links, Abbildung 3.5]

Bei unterschiedlicher Tieranzahl zwischen der Kontrollgruppe sowie den Folgemessungen erfolgt die Ausrichtung aller Bilddaten mit Hilfe eines 2. PET-Templates. Dieser Schritt ist notwendig, da nicht alle Folgemessungen vor der Ausrichtung auf dem PET-Template (Sham) auf dem zugehörigen Kontrollbilddatensatz ausgerichtet werden können. Ein Beispiel für diese Art der Datenauswertung wäre die Versuchsreihe B - PT-Datenreihe (Tabelle 3.6, 10 Tiere):

PT stimuliert → rigide Reg. → PT unstimuliert → rigide Reg. →  
→ 2. PET-Template (PT unstimuliert) → rigide Reg. → PET-Template (Sham)  
[dritter Pfad von links, Abbildung 3.5]

Liegen überhaupt keine Kontrollbilddatensätze vor, werden die Bilddatensätze auf einem alternativen PET-Template ausgerichtet. Dieses besteht aus den Bilddatensätzen der experimentellen Gruppe, bei der die meisten Bilddatensätze vorliegen. Sollten Folgemessungen des gleichen Tieres vorliegen, so werden diese zuerst anhand rigider Registrierung auf dem Bilddatensatz ausgerichtet, welcher Bestandteil des alternativen PET-Templates ist. Der im PET-Template inkludierte Bilddatensatz wird anschließend anhand affiner Registrierung auf dem alternativen PET-Template ausgerichtet. Getestet wurde diese Art der alternativen PET-Template-Bilddatenauswertung mit Hilfe der [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Testdaten (Kapitel 3.2.4):

Folge-Messdaten → rigide Reg. → Datensatz aus der experimentellen Gruppe mit den meisten Messdaten → affine Reg. → (alternatives) PET-Template aus der experimentellen Gruppe mit den meisten Messdaten  
[vierter Pfad von links, Abbildung 3.5]

### ***Co-Registrierung***

Nach der Ausrichtung aller Bilddatensätze auf dem PET-Template, werden im nächsten Schritt die anatomischen MRT-Bilddaten mit einbezogen. Hierfür wird das PET-Template mit dem MIRT-Registrierungsalgorithmus zweimal affin auf den T2\*-gewichteten MRT-Bilddatensatz co-registriert. Das Ähnlichkeitsmaß des MIRT-Registrierungsalgorithmus für beide Registrierungen ist *Mutual Information* (500 / 2000 Iterationsschritte, Toleranzkriterium:  $1e^{-15}$ ). Die erste affine Registrierung ist eine Art Vorjustierungsschritt und erfolgt anhand der Gradientenbilder beider VOI ähnlich Palma *et al.* [61]. Die zweite Registrierung

basiert auf dem vollständig segmentierten VOI des PET-Templates. Da der MRT-Atlas auf dem MRT-Bilddatensatz beruht, kommt die zweifache, affine Registrierung mit dem T2\*-gewichteten MRT-Bilddatensatz einer Ausrichtung auf dem MRT-Atlas gleich.

Nach der Co-Registrierung werden alle bereits auf dem PET-Template (Sham) ausgerichteten Datensätze anhand der bei der Co-Registrierung erstellten Transformationsparameter auf dem MRT-Atlas ausgerichtet.

### **3.3.2.3 Datenquantifizierung und statistische Auswertung**

Bei jedem (Co-)Registrierungsvorgang werden Ähnlichkeitsmaße, wie z.B. der Korrelationskoeffizient nach Pearson (parametrisches Verfahren) bzw. der Korrelationskoeffizient nach Spearman (nichtparametrisches Verfahren), ausgegeben. Das Matlab-Skript *ent.m* [39] gibt zusätzliche Informationen über die gemeinsame Entropie und die *Mutual Information*. Diese Ähnlichkeitsmaße sollen eine Hilfsgröße sein, um festzustellen, wie gut ein Registrierungsprozess funktioniert hat.

Der Korrelationskoeffizient gibt beispielsweise an, inwieweit zwei Datensätze statistisch (linear) miteinander zusammenhängen. Für Werte um 0 liegt kein Zusammenhang zwischen den beiden zu vergleichenden Datensätzen vor. Je näher sie sich an -1 bzw. +1 annähern, desto größer wird der statistische Zusammenhang beider Datensätze. Ziel der Registrierung ist die Ausrichtung zweier Datensätze aufeinander, das heißt, nach einer Registrierung sollte der Korrelationskoeffizient näher an -1 bzw. +1 liegen als vor der Registrierung. Nach Einschätzung von Schober *et al.* handelt es sich beispielsweise bei einem Korrelationswert (allgemein) von 0,8 um eine starke Korrelation (0,70 - 0,89) [62]. Nichtsdestotrotz sollte der Nutzer die Ähnlichkeitsmaße nur als Hilfsgrößen verstehen und die aufeinander ausgerichteten Datensätze zusätzlich immer visuell vergleichen.

#### **Datenquantifizierung**

Die Datenquantifizierung und statistische Analyse erfolgt für jede einzelne Teilregion, in die das VOI mit Hilfe der MRT-Atlasinformationen unterteilt wurde. Die Auswertung kann dabei, ähnlich zu Miederer *et al.* [63], anhand drei semiquantitativer Parameter erfolgen: der normalisierten Radioaktivität ( $A_N$ ), dem *Standardized Uptake Value* (SUV) oder der *Uptake Ratio* (UR).

$$A_N = \frac{\text{gemessene Radioaktivität im } VOI_{\text{Teilregion}}}{\text{applizierte Radioaktivität}} \quad (1)$$

$$SUV = \frac{\text{Radioaktivitätskonzentration im } VOI_{\text{Teilregion}} * \text{Körpergewicht}}{\text{applizierte Radioaktivität}} \quad (2)$$

$$UR = \frac{\text{gemessene Radioaktivität im } VOI_{\text{Teilregion}}}{\text{gemessene Radioaktivität im } VOI_{\text{Gesamt oder Referenz-Teilregion}}} \quad (3)$$

Damit der SUV berechnet werden kann, muss vorab eine Excel-Datei erstellt werden, die sowohl das Körpergewicht als auch die applizierte Radioaktivität beinhaltet. Die Berechnung der *Uptake Ratio* ist dabei äquivalent zum Verhältnis der *Standardized Uptake Value Ratio* (SUVR) [64]. Alle berechneten semiquantitativen Parameter sind einheitslos ( $A_N = [\frac{Bq}{Bq}]$ ,  $SUV = [\frac{Bq}{(\frac{cm^3}{g}) * g}]$ ,  $UR = [\frac{Bq}{Bq}]$ ) und werden zusätzlich im .xlsx-Format ausgegeben. Somit können die berechneten semiquantitativen Parameter auch mit weiteren, statistischen Auswerteprogrammen ausgewertet werden.

### **Statistische Auswertung**

Nichtsdestotrotz ist im NU\_DPA-Programm auch eine vereinfachte Möglichkeit der statistischen Auswertung implementiert. Diese beginnt mit der visuellen Überprüfung auf mögliche Ausreißer. Dafür wird der berechnete semiquantitative Parameter eines jeden Tieres im Zusammenhang mit seiner experimentellen Gruppe bzw. seinem Messzeitraum in einer Grafik ausgegeben. Damit festgestellt werden kann, ob es sich um einen Ausreißer oder lediglich um einen Extremwert handelt, werden zusätzlich zu den Einzelwerten die Daten der experimentellen Gruppen in Form von Boxplots in die Grafik eingetragen (*boxplot.m*). Je nach Datenlage passt sich die Grafik für Mehrfachmessungen, Gruppenanzahl, Zeitbereiche, etc. an. Für jede Teilregion des Atlas' wird eine eigene Grafik erstellt, die in einer Auflösung von 300 dpi (engl. für *dots per inch*) automatisch abgespeichert wird (*export\_fig.m*, [40]).

Zusätzlich sind in dem NU\_DPA-Programm zwei Skripte implementiert, welche die Daten auf Normalverteilung testen. Das erste Skript gibt die Daten grafisch anhand von QQ-Plots (*qqplot.m*) wieder, das zweite Skript führt numerische Berechnungen nach Anderson-Darling (*adtest.m*) bzw. nach Shapiro-Wilk durch (*swtest.m* [47]). Ein QQ-Plot setzt die Quantile der berechneten

semiquantitativen Parameter mit den theoretischen Quantilwerten aus einer Normalverteilung in Relation. Je näher die Quantile der errechneten semiquantitativen Parameter einer geraden Linie folgen, das heißt linear ausgerichtet sind, desto wahrscheinlicher folgen die Daten einer Normalverteilung. Äquivalent zu den Darstellungen der berechneten semiquantitativen Parameter im Boxplot-Format werden auch die QQ-Plots mit einer Auflösung von 300 dpi automatisch abgespeichert.

Die vom NU\_DPA-Programm angebotenen statistischen Auswertungsmöglichkeiten stellen eine vereinfachte Form der Datenauswertung dar und basieren auf in Matlab implementierten Algorithmen. Je nach Anzahl der Messdaten in einer experimentellen Gruppe ( $n \geq 30$  oder  $n < 30$ ) bzw. ob Mehrfachmessungen oder Einmalmessungen vorliegen (verbunden oder unverbunden), erfolgt dabei die statistische Auswertung nach folgendem Entscheidungsbaum:

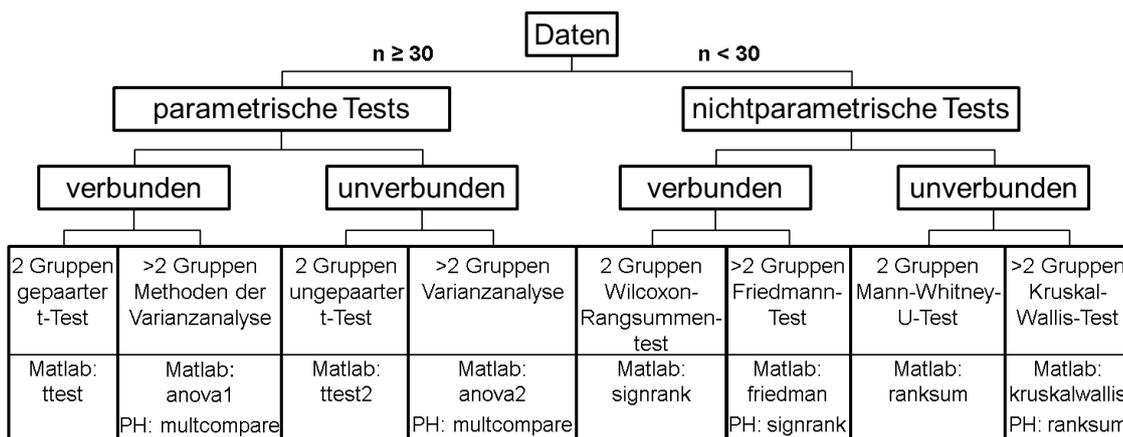


Abbildung 3.6 - Aufgliederung in die möglichen statistischen Testverfahren (modifiziert nach [65])

Sollten zudem Mehrfachmessungen derselben Tiere vorliegen, z.B. bei Verlaufsstudien, so kann zusätzlich der zeitliche Verlauf der einzelnen Messpunkte in Form von Boxplots (inkl. der berechneten signifikanten Differenzen) in einer einzelnen Grafik dargestellt werden. Die Speicherung der Grafik erfolgt erneut automatisch in hoher Auflösung (300 dpi).

Die Informationen über die Funktionsweise und den Aufbau des NU\_DPA-Programms sind zusätzlich unter [66] veröffentlicht worden.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 [<sup>18</sup>F]FDG-PET Versuchsdaten

Zur Validierung des NU\_DPA-Programms wurden die beiden Datenreihen aus den Versuchen A und B quantitativ und statistisch ausgewertet. Alle Bilddaten, von der automatischen VOI-Segmentierung bis hin zur Ausrichtung auf dem auf die PET-Auflösung angepassten T2\*-gewichteten MRT-Bilddatensatz, wurden eigens visuell überprüft. Die zur Etablierung des NU\_DPA-Programms verwendete Datenreihe des Versuchs A wurde zudem vorab anhand des frei verfügbaren Software-Programms AMIDE ausgewertet. Die erhaltenen Ergebnisse - ausgewertet nach SUV - stimmten weitgehend mit denen des NU\_DPA-Programms überein.

Vor den statistischen Ergebnissen aus Versuch A und B werden die einzelnen Verarbeitungsschritte des Programms NU\_DPA noch einmal anhand konkreter Beispieldarstellungen verdeutlicht.

Die automatische VOI-Segmentierung erfolgte beispielsweise wie folgt (Abbildung 4.1, Bilddatensatz aus der experimentellen Kontrollgruppe von Versuch B):

Vom vollständig rekonstruierten Bilddatensatz (Abbildung 4.1, a) wurde in z-Richtung das letzte Drittel ausgeschlossen (Abbildung 4.1, b). Diese Datenreduktion stand im Zusammenhang mit der manuellen Platzierung und Zentrierung des Tieres innerhalb des  $\mu$ -PET-Scanners. Durch Schwellwert-Annäherung nach Otsu wurden anschließend die Bilddaten weiter reduziert (Abbildung 4.1, c). Darauf folgend wurde durch Konturabgleich der beiden Binärbilder, die aus den reduzierten PET-Bilddaten (Abbildung 4.1, d) und dem in der räumlichen Auflösung angepassten MRT-Atlas (Abbildung 4.1, e) erzeugt wurden, das VOI segmentiert. Das Ergebnis der VOI-Segmentierung ist in (Abbildung 4.1, f) dargestellt.

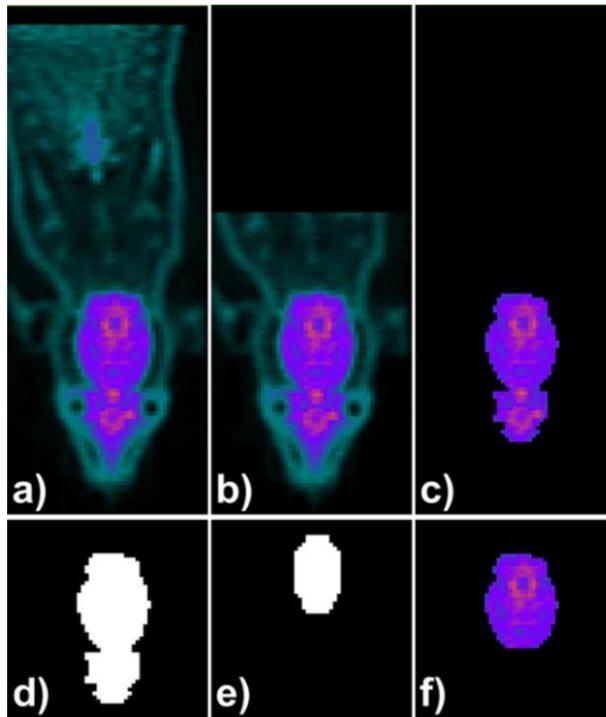


Abbildung 4.1 - VOI-Segmentierung bei  $[^{18}\text{F}]$ FDG. (a) zeigt den vollständigen PET-Datensatz. Nach Datenreduktion (b) und automatischer Schwellwertanpassung mit der Otsu-Methode (c) wird aus den verbliebenen Bilddaten ein Binärbild erzeugt (d). Durch Konturabgleich mit dem verkleinerten, zum Binärbild transformierten MRT-Atlas (e), wird das VOI segmentiert (f).

Abbildung 4.2, a zeigt exemplarisch ein vom NU\_DPA-Tool erstelltes PET-Template. Dieses basiert auf den sieben scheinoperierten Sprague-Dawley-Ratten (à vier Messungen) der experimentellen Kontrollgruppe von Versuch A. Zusätzlich zum PET-Template wurde für die spätere Co-Registrierung mit dem T2\*-gewichteten MRT-Bilddatensatz das VOI aus der PET-Vorlage segmentiert (Abbildung 4.2, b). Wie bereits erwähnt, erfolgte die Segmentierung des VOI entsprechend den Ausführungen in Kapitel 3.3.2.1.

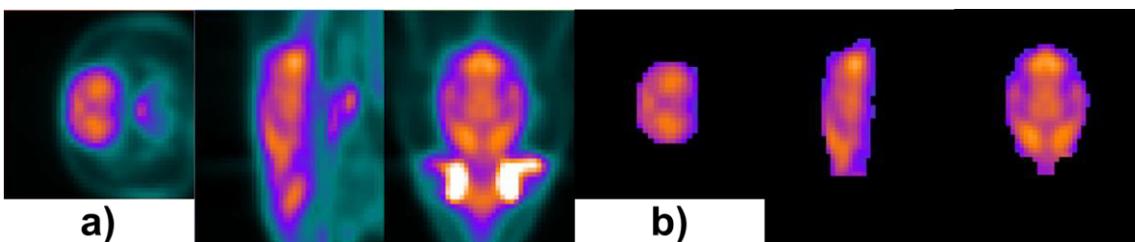


Abbildung 4.2 -  $[^{18}\text{F}]$ FDG-PET-Template aus Versuch A und dessen automatisch segmentiertes VOI. Das  $[^{18}\text{F}]$ FDG-PET-Template (a) und das segmentierte VOI (b) basieren auf den sieben scheinoperierten Sprague-Dawley-Ratten der experimentellen Kontrollgruppe.

Bei Versuch B kam es aufgrund der induzierten Photothrombose zu einer Veränderung der  $[^{18}\text{F}]$ FDG Radiotracer-Akkumulation innerhalb des VOI. Dies erforderte eine optimierte Ausrichtung der Bilddaten durch Einbeziehung der

Harderianischen Drüsen unter Verwendung des von Matlab implementierten *imregister.m*-Algorithmus. Neben der Ausrichtung auf dem dazugehörigen Kontrollbild-Datensatz desselben Tieres (zweiter Pfad von links, Abbildung 3.5) wurden die Bilddatensätze mit Erkrankung von Versuch B noch, aufgrund der starken äußeren Einflussparameter, auf einem 2. PET-Template ausgerichtet (dritter Pfad von links, Abbildung 3.5). Die nachfolgende Abbildung 4.3 zeigt in diesem Zusammenhang das optionale 2. PET-Template aus dem Versuch B - PT-Datenreihe (Tabelle 3.6). Dabei weisen die hinzugefügten Pfeile in Abbildung 4.3, a auf die äußeren Einflussparameter hin, welche das [<sup>18</sup>F]FDG-Uptake-Verhalten stark beeinflussen (rote Pfeile: Ischämie, grüne Pfeile: Entzündungsprozesse durch die Wundheilung aufgrund des chirurgischen Eingriffs). In Abbildung 4.3, b ist zum Vergleich das PET-Template bestehend aus sechs gesunden Wistar-Ratten dargestellt.

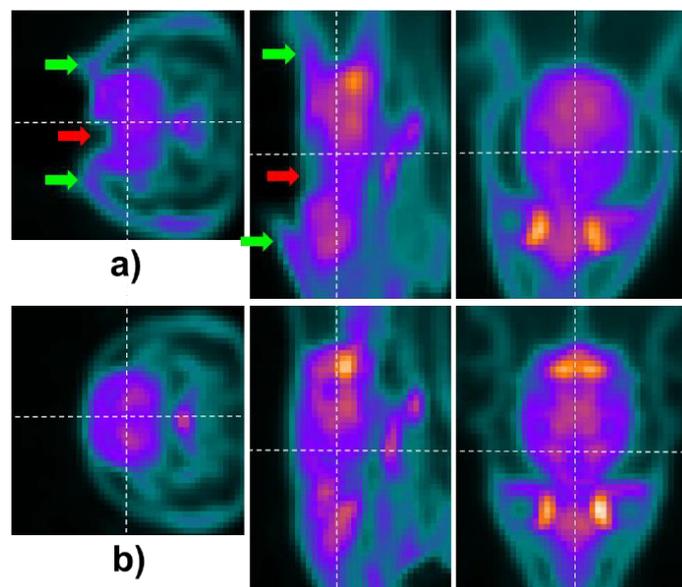


Abbildung 4.3 - Beispiel eines optionalen 2. PET-Templates (PT unstimuliert) in transversaler, sagittaler und koronaler Schnittebene (a). Das 2. PET-Template wurde aus zehn Wistar Ratten mit ischämischem Schlaganfall gemittelt. Die roten Pfeile zeigen die starken Veränderungen im [<sup>18</sup>F]FDG-Uptake aufgrund der Ischämie. Die grünen Pfeile hingegen weisen auf eine erhöhte [<sup>18</sup>F]FDG-Anreicherung hin, die auf die Entzündungsprozesse bei der Wundheilung nach dem chirurgischen Eingriff zurückzuführen ist. (b) zeigt zum Vergleich ein Wistar Ratten PET-Template bestehend aus sechs gesunden Tieren.

Nach der Ausrichtung aller Bilddatensätze auf dem PET-Template erfolgte die Registrierung mit den anatomischen MRT-Bilddaten anhand zweier affiner Co-Registrierungen. Dabei entspricht die erste Co-Registrierung mittels der Gradientenbilder beider VOI in erster Linie einem Vorverarbeitungsschritt. Die nachfolgende Abbildung 4.4 stellt beispielhaft die Ausrichtung des Sprague

Dawley PET-Templates auf den dazu passenden Sprague Dawley T2\*-gewichteten MRT-Bilddatensatz bzw. MRT-Atlas [43-46] grafisch dar.

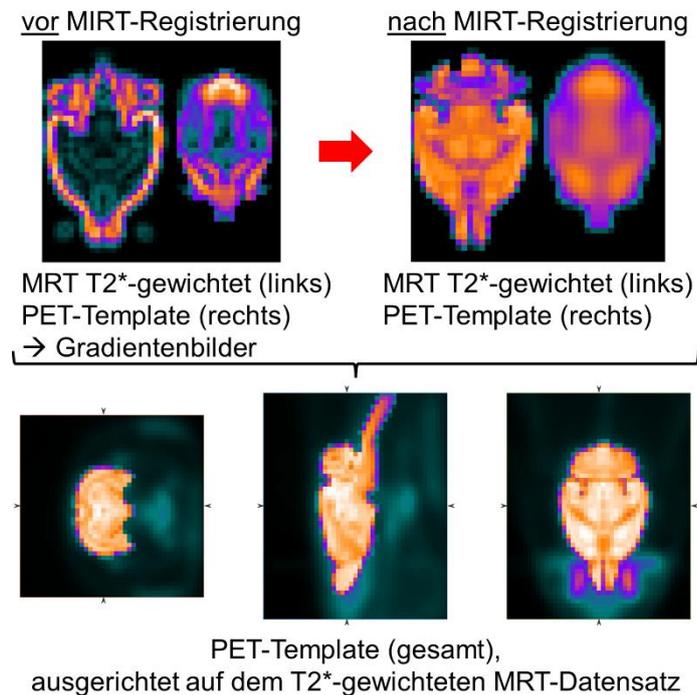


Abbildung 4.4 - Prozess der Co-Registrierung: Oben: Darstellung der ursprünglichen VOI-Gradientenbilder (MRT T2\*-gewichtet und  $[^{18}\text{F}]$ FDG-PET-Template), sowie die ausgerichteten VOI nebeneinander. Unten: T2\*-gewichteter MRT-Bilddatensatz (VOI), überlagert mit dem vollen Datensatz des PET-Templates.

Für die in Abbildung 4.4 aufgeführte Co-Registrierung liegt der Korrelationskoeffizient für das VOI nach Pearson bei 0,851 (vor der Registrierung: 0,725), der Korrelationskoeffizient nach Spearman bei 0,834 (vor der Registrierung: 0,682). Da es sich hier bei beiden Bilddatensätzen um Bilddatensätze verschiedener bildgebender Modalitäten handelt (PET versus MRT), ist eine ähnliche Intensitätsverteilung innerhalb der beiden Datensätze auszuschließen. Das heißt, der rangbasierte Korrelationskoeffizient nach Spearman ist dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson vorzuziehen.

Hinsichtlich der statistischen Auswertung im Programm NU\_DPA sollen die nachfolgenden Abbildungen beispielhaft die Darstellung der semiquantitativen Parameter im Boxplot-Format, die Darstellung der QQ-Plots und die Darstellung des Zeitverlaufs zeigen. Die in Rot dargestellte Vergrößerung dient nur zur Veranschaulichung und ist kein Teil der erstellten Plots.

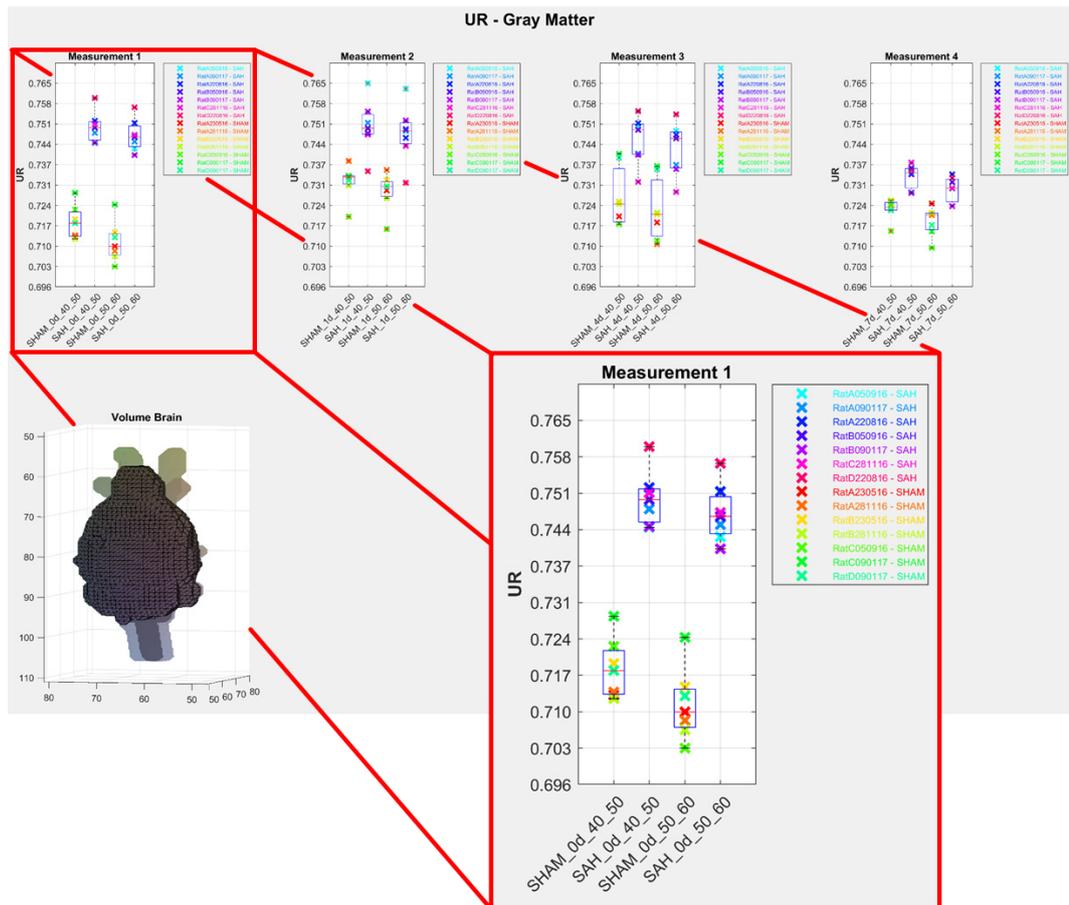


Abbildung 4.5 - Boxplot-Beispieldarstellung zur Überprüfung der semiquantitativen Parameter auf Ausreißer bzw. Extremwerte.

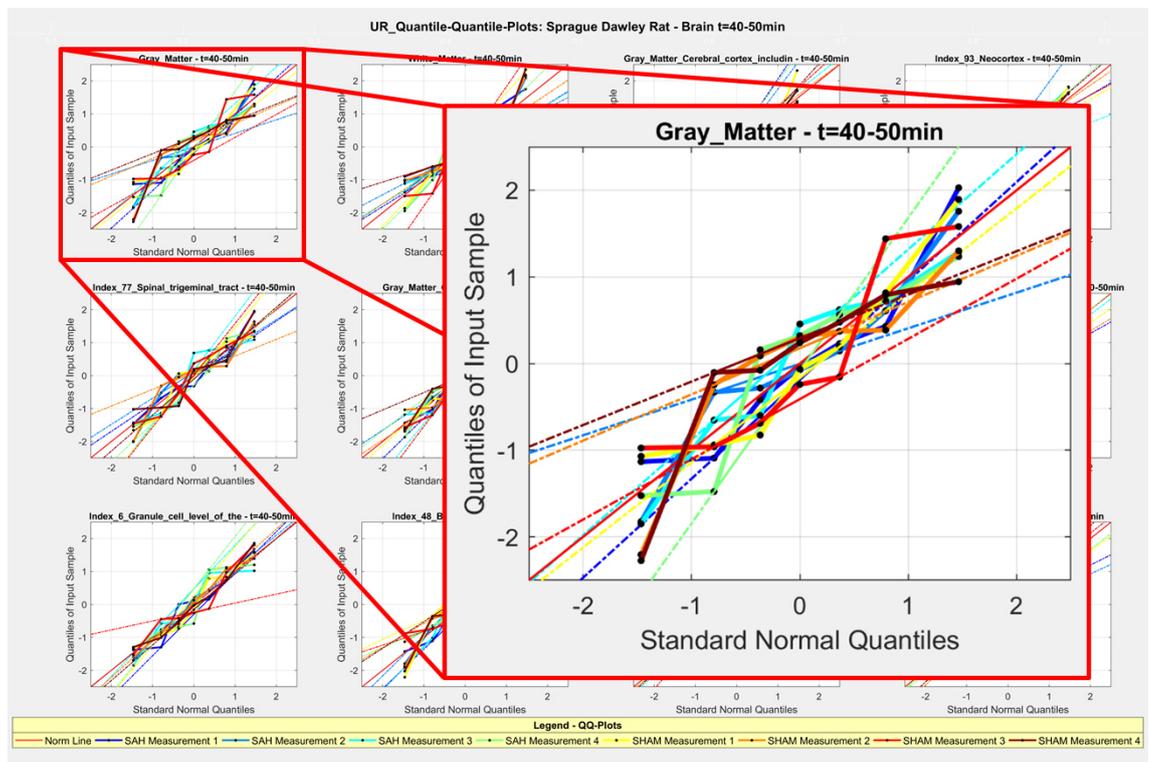


Abbildung 4.6 - QQ-Plot-Beispieldarstellung zur visuellen Überprüfung der berechneten semiquantitativen Parameter auf Normalverteilung.

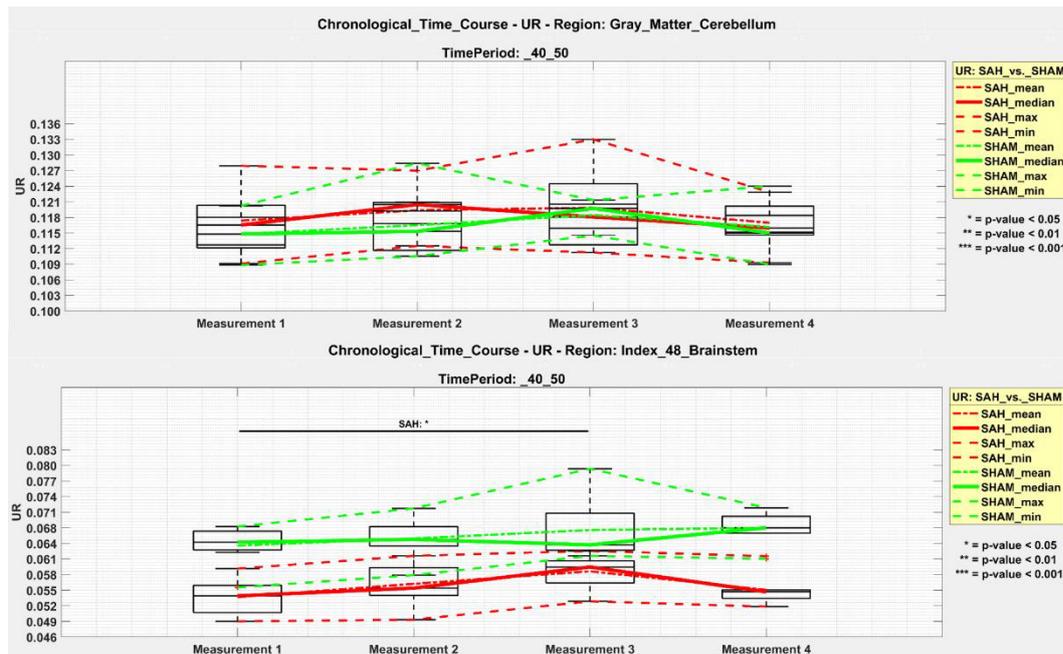


Abbildung 4.7 - Beispieldarstellungen des zeitlichen Verlaufs bei Mehrfachmessungen anhand der Daten von Versuch A - SAB-Datenreihe (ausgewertet nach UR): [<sup>18</sup>F]FDG-Anreicherung im Cerebellum (oben) und im Hirnstamm (unten).

### 4.1.1 Versuch A - SAB-Datenreihe

Tabelle 4.1 listet für die fünf größten Hirnregionen die signifikanten Effekte (ausgewertet nach UR) auf, welche zwischen beiden experimentellen Gruppen (Sham und SAB) an den jeweiligen  $\mu$ -PET-Messungen (Tabelle 3.5) gefunden wurden. Die statistische Auswertung der SAB-Bilddaten erfolgte aufgrund der relativ geringen Bilddaten nichtparametrisch mittels Mann-Whitney U-Test. In Matlab entspricht dieser dem implementierten *ranksum.m*-Algorithmus. Neben dem direkten Vergleich beider Gruppen wurden die berechneten semiquantitativen Parameter auch innerhalb einer experimentellen Gruppe (Sham bzw. SAB) über die Zeit verglichen. Der p-Wert gibt an, ob dabei signifikante (\*,  $p < 0,05$ ), sehr signifikante (\*\*,  $p < 0,01$ ) oder höchst signifikante (\*\*\*,  $p < 0,001$ ) Unterschiede gefunden wurden. Die letzte Spalte in Tabelle 4.1 gibt den Wertebereich des errechneten semiquantitativen Parameters UR wieder. Anhand dieser Ergebnisse lassen sich gewisse Rückschlüsse auf den [<sup>18</sup>F]FDG-Uptake in den Teilregionen des VOI ziehen. Zusätzlich sind noch die Einzelwerte für die jeweiligen Messungen (Measurement 1  $\triangleq$  3 h, Measurement 2  $\triangleq$  1 Tag, Measurement 3  $\triangleq$  4 Tage, Measurement 4  $\triangleq$  7 Tage) im Boxplot-Format aufgeführt. Die hier dargestellten signifikanten Unterschiede zeigten sich über

den gesamten gemessenen Zeitraum von 20 min, wobei die Reihenfolge in den jeweiligen gelisteten Boxplots von links nach rechts wie folgt entspricht: Sham zwischen 40 - 50 min nach Injektion, SAB zwischen 40 - 50 min nach Injektion, Sham zwischen 50 - 60 min nach Injektion, SAB zwischen 50 - 60 min nach Injektion.

**Tabelle 4.1 - Signifikanzen der fünf größten Atlas-Hirnregionen im SAB-Modell bei einer Auswertung nach UR**

No.	Region	experimentelle Gruppen	Messungen d $\leftrightarrow$ Tag(e)	p-Wert	Wertebereich UR
1	Graue Materie (engl. <i>gray matter</i> )	Sham – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 3 h 1 d $\leftrightarrow$ 1 d 4 d $\leftrightarrow$ 4 d 7 d $\leftrightarrow$ 7 d	*** ** ** **	0.703 – 0.765
		SAB – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 7 d 1 d $\leftrightarrow$ 7 d 4 d $\leftrightarrow$ 7 d	*** ** *	
		Sham – Sham	3 h $\leftrightarrow$ 1 d 1 d $\leftrightarrow$ 7 d	** *	
2	Weiße Materie (engl. <i>white matter</i> )	Sham – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 3 h 1 d $\leftrightarrow$ 1 d 4 d $\leftrightarrow$ 4 d	*** * *	0.184 – 0.245
		SAB – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 7 d 1 d $\leftrightarrow$ 7 d 4 d $\leftrightarrow$ 7 d	*** ** **	
		Sham – Sham	3 h $\leftrightarrow$ 1 d 1 d $\leftrightarrow$ 7 d	** *	

$p \leq 0,05$  \*;  $p \leq 0,01$  \*\*;  $p \leq 0,001$  \*\*\*

No.	Region	experimentelle Gruppen	Messungen d $\leftrightarrow$ Tag(e)	p-Wert	Wertebereich UR
3	Neokortex (engl. <i>neocortex</i> )	Sham – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 3 h 1 d $\leftrightarrow$ 1 d 4 d $\leftrightarrow$ 4 d 7 d $\leftrightarrow$ 7 d	*** *** *** ***	0.173 – 0.267
		SAB – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 4 d 3 h $\leftrightarrow$ 7 d 1 d $\leftrightarrow$ 4 d 1 d $\leftrightarrow$ 7 d	** ** * **	
4	Basale Vorderhirnregion (engl. <i>basal forebrain region</i> )	Sham – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 3 h 1 d $\leftrightarrow$ 1 d 4 d $\leftrightarrow$ 4 d 7 d $\leftrightarrow$ 7 d	*** *** *** ***	0.016 – 0.026
		SAB – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 1 d 3 h $\leftrightarrow$ 7 d 1 d $\leftrightarrow$ 7 d	* * **	

p  $\leq$  0,05 \*; p  $\leq$  0,01 \*\*; p  $\leq$  0,001 \*\*\*

No.	Region	experimentelle Gruppen	Messungen d $\leftrightarrow$ Tag(e)	p-Wert	Wertebereich UR
5	Olfaktorisches System (engl. <i>olfactory system</i> )	Sham – SAB	1 d $\leftrightarrow$ 1 d 4 d $\leftrightarrow$ 4 d 7 d $\leftrightarrow$ 7 d	* ** ***	0.085 – 0.112
		SAB – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 4 d 3 h $\leftrightarrow$ 7 d 1 d $\leftrightarrow$ 7 d	* ** *	
		Sham – Sham	1 d $\leftrightarrow$ 4 d	*	

$p \leq 0,05$  \*;  $p \leq 0,01$  \*\*;  $p \leq 0,001$  \*\*\*

Im Vergleich beider Gruppen über den zeitlichen Verlauf der [18F]FDG-Anreicherung (Tabelle 4.1, Messung 1  $\rightarrow$  Messung 4) lag der mittlere UR-Wert der SAB-Gruppe für die graue Materie, dem Neokortex und dem olfaktorischen System kontinuierlich über dem der Sham-Gruppe. Für die weiße Materie und die basale Vorderhirnregion lag der [18F]FDG-Uptake mit einer Ausnahme fortwährend unterhalb der Sham-Gruppe. An Tag 7 lag der UR-Wert für die weiße Materie bei beiden experimentellen Gruppen auf vergleichbarem Niveau.

Im Gegensatz zur Auswertung der Bilddaten nach UR zeigten sich bei einer Auswertung der Bilddaten nach  $SUV_{mean}$  im NU\_DPA-Programm nur geringe, vereinzelte signifikante Effekte über den vollen Messzeitraum von 20 min.

**Tabelle 4.2 - Signifikanzen der fünf größten Atlas-Hirnregionen im SAB-Modell bei einer Auswertung nach SUV**

No.	Region	experimentelle Gruppen	Messungen d $\leftrightarrow$ Tag(e)	p-Wert	Wertebereich SUV
2	Weißer Materie	Sham – Sham	1 d $\leftrightarrow$ 4 d	*	1,707 – 3,315
3	Neokortex	Sham – SAB	3 h $\leftrightarrow$ 3 h	**	2,476 – 5,131
		Sham – Sham	3 h $\leftrightarrow$ 4 d	**	
4	Basale Vorderhirnregion	Sham – SAB	1 d $\leftrightarrow$ 1 d 4 d $\leftrightarrow$ 4 d 7 d $\leftrightarrow$ 7 d	** *** ***	0,887 – 1,731
		Sham – Sham	1 d $\leftrightarrow$ 4 d	**	
		Sham – Sham	1 d $\leftrightarrow$ 4 d	**	

$p \leq 0,05$  \*;  $p \leq 0,01$  \*\*;  $p \leq 0,001$  \*\*\*

## 4.1.2 Versuch B - PT-Datenreihe

In der Datenanalyse zeigte sich im [18F]FDG-PET, dass der Glukose-Metabolismus in der vom Schlaganfall betroffenen Region stark von der zerebralen Ischämie beeinflusst wurde [35]. Aufgrund der veränderten [18F]FDG-Anreicherung in der Läsion wurde bei der Auswertung nach UR auf die Cerebellum-Region und nicht auf das gesamte Gehirn als Referenzregion bezogen. Aus der unter Kapitel 3.3.2.3 aufgeführten Formel wird somit:

$$UR = \frac{\text{gemessene Radioaktivität im } VOI_{\text{Teilregion}}}{\text{gemessene Radioaktivität im } VOI_{\text{Cerebellum}}}$$

Die Wahl der Cerebellum-Region als Referenzregion liegt darin begründet, dass bei vergleichbaren neurologischen Studien keine signifikanten Unterschiede im [18F]FDG-Uptake aufgezeigt werden konnten [67, 68]. Zusätzlich war die Cerebellum-Region nicht vom operativen Eingriff sowie von der induzierten Photothrombose betroffen. Den Informationen in Tabelle 3.6 entsprechend wurden die ischämischen Schlaganfall-Bilddaten auf zwei unterschiedliche Arten analog zu den Ausführungen in Kapitel 3.3.2.2 ausgewertet:

In der ersten Auswertungsart wurde ein 3-Gruppenvergleich durchgeführt (Sham, PT unstimuliert und PT stimuliert). Das heißt, jedes der untersuchten Tiere war Teil aller drei aufeinander aufbauenden, experimentellen Gruppen. Aufgrund der geringen Datenanzahl von  $n = 6$  Tieren, erfolgte die statistische Auswertung mit Hilfe des nichtparametrischen Friedman-Tests (Post-hoc: Wilcoxon-Rangsummentest).

Die zweite Auswertung erfolgte anhand eines 2-Gruppenvergleichs zwischen den experimentellen Gruppen PT unstimuliert und PT stimuliert. Durch die fehlenden Kontrollbild-Datensätze für jedes Tier wurden die Bilddaten mit Hilfe eines zweiten PET-Templates (Abbildung 4.3, a) aufeinander ausgerichtet. Ähnlich wie bei dem 3-Gruppenvergleich war die kleine Datenanzahl von  $n = 10$  ausschlaggebend, die Bilddaten anhand des nichtparametrischen Wilcoxon-Rangsummentest auszuwerten.

Bei beiden Analysen wurden die gleichen Tiere, allerdings in unterschiedlichen Zuständen, verglichen. Entsprechend sind die Daten miteinander verbunden.

Im Rahmen dieser Dissertation soll sich die Auswertung der Daten nur auf den 3-Gruppenvergleich beschränken, das heißt, die nachfolgenden Signifikanzen stellen die signifikanten Unterschiede zwischen den folgenden PET-Bilddaten dar (Tabelle 4.3).

**Tabelle 4.3 - Informationen zum 3-Gruppenvergleich Versuch B - Tier-Modell ischämischer Schlaganfall (Photothrombose)**

Experimentelle Gruppe	$\mu$ -PET-Messungen	Photothrombose (rechter sensorischer Kortex)	Mikroelektrode	Tiefenhirnstimulation im MLR
Sham	-1 Tag	Nein	Nein	Nein
Tag 0: Induktion der Photothrombose und Implantation der Mikroelektrode				
PT unstimuliert	+2 Tage	Ja	Ja	Nein
PT stimuliert	+3 Tage	Ja	Ja	Ja

Die nachfolgende Tabelle 4.4 listet für die fünf größten Hirnregionen des MRT-Atlas‘ die gefundenen Signifikanzen auf (ausgewertet nach UR). Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen experimentellen Gruppen sind durch einen \* gekennzeichnet (\*  $\triangleq$   $p < 0,05$ ). Aufgrund der fehlenden Vergleichbarkeit mit der [18F]FDG-Aufnahme im gesamten Gehirn (Referenzregion: Cerebellum), wird im Gegensatz zu den Ergebnissen in Kapitel 4.1.1 der Wertebereich nicht gesondert aufgeführt.

Da für die Auswertung der MLR-DBS-Daten eine Unterscheidung der beiden Hemisphären essentiell ist (Photothrombose im rechten somatosensorischen Kortex, implantierte Mikroelektrode im rechten MLR), wurde der Kortex - im Atlas als Isokortex bezeichnet - manuell in linke und rechte Hemisphäre unterteilt. Zusätzlich sind in diesem Fall noch die Boxplots (inkl. Einzelwerte) aufgeführt. Dabei sind die Boxplots von links nach rechts der Akquisitionszeit ansteigend (0 min  $\rightarrow$  60 min) und der  $\mu$ -PET-Messungen entsprechend (Sham, PT unstimuliert, PT stimuliert) aufgeführt.

Tabelle 4.4 - Signifikanzen der fünf größten Atlas-Regionen im PT-Modell bei einer Auswertung nach UR

No.	Region	experimentelle Gruppen	Zeitbereich	p-Wert
1	Isokortex (engl. <i>isocortex</i> )	PTu – PTs	0 – 20 min 20 – 60 min	- *
		PTu – Sham	0 – 60 min	*
		PTs – Sham	0 – 60 min	*
	Isokortex links (engl. <i>isocortex left</i> )	PTu – PTs	0 – 20 min 20 – 60 min	- *
		PTu – Sham	0 – 60 min	*
		PTs – Sham	0 – 60 min	*
	Isokortex rechts (PT) (engl. <i>isocortex right</i> )	PTu – PTs	0 – 20 min 20 – 60 min	- *
		PTu – Sham	0 – 60 min	*
		PTs – Sham	0 – 60 min	*

PTu ≙ PT unstimuliert, PTs ≙ PT stimuliert,  
 $p \leq 0,05$  \*; - ≙ nicht signifikant

No.	Region	experimentelle Gruppen	Zeitbereich	p-Wert
2	Olfaktorische Strukturen (engl. <i>olfactory structures</i> )	PTu – PTs	20 – 60 min	-
		PTu – Sham	20 – 60 min	*
		PTs – Sham	20 – 60 min	-
3	Corpus callosum	PTu – PTs	0 – 30 min	-
			30 – 60 min	*
		PTu – Sham	0 – 60 min	*
4	Hippocampus-Formation (engl. <i>hippocampal formation</i> )	PTu – PTs	0 – 60 min	-
		PTu – Sham		*
		PTs – Sham		*
5	Striatum	PTu – PTs	0 – 60 min	-
		PTu – Sham		*
		PTs – Sham		*

PTu  $\triangleq$  PT unstimuliert, PTs  $\triangleq$  PT stimuliert,  
 $p \leq 0,05$  \*; -  $\triangleq$  nicht signifikant

Für den rechten sensomotorischen Kortex zeigte sich, dass die UR in der von der Photothrombose betroffenen Region mit Stimulation im MLR höher liegt als ohne Stimulation. Diese Erkenntnis zu generieren war nur durch Multiplikation der linken bzw. rechten Hemisphären als Maske (alle Werte auf 1) möglich. Ein weiterer Nebeneffekt der Maskierung ist, dass dadurch ein genauerer Blick auf die Ausprägungen der einzelnen Erkrankungen (in diesem Fall die Photothrombose) ermöglicht wird. Die nachfolgende Abbildung 4.8 zeigt diesbezüglich die jeweiligen Photothrombosen der sechs Tiere für den Zustand PT unstimuliert (roter Pfeil). Die Tiere sind entsprechend ihrer Farbzueisung in Tabelle 4.4 markiert. Der Übersichtlichkeit wurden die Hemisphären der Tiere manuell durch eine leere Schicht separiert.

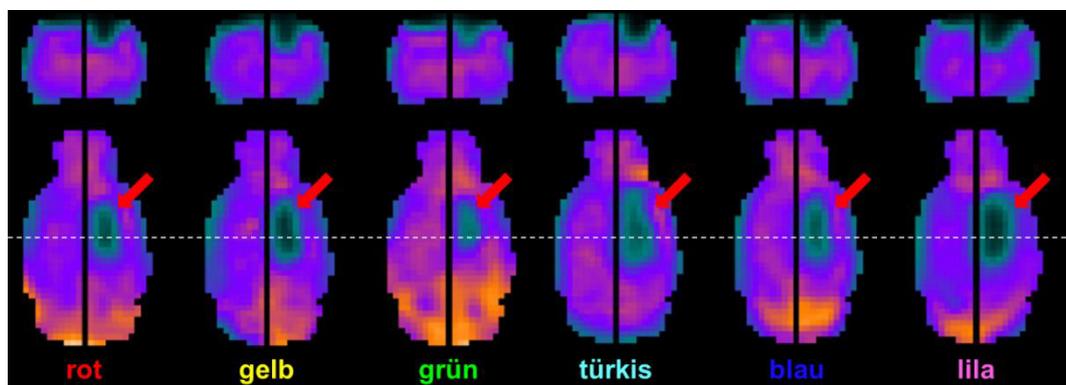


Abbildung 4.8 - Visuelle Überprüfung der Ausprägungen der Photothrombosen durch Darstellung der linken und rechten Hemisphären aller untersuchten Tiere im Zustand PT unstimuliert. Der rote Pfeil markiert die Veränderung im [18F]FDG-Uptake durch die Photothrombose, die weißen Schnittebene der unteren Darstellungen markiert die oberen Schnittebenen. Die Farbzueisungen entsprechen denen des Boxplot-Formats.

## 4.2 [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-PET Testdaten

Zusätzlich zu den beiden experimentellen Versuchsreihen A und B wurde das NU\_DPA-Programm anhand weiterer PET-Bilddatensätze getestet [17]. Der entscheidende Unterschied zu den vorangegangenen Daten liegt in der Spezifität des Radiotracers. Im Gegensatz zu [<sup>18</sup>F]FDG ist [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan ein Radiotracer, der sich nicht homogen im Gehirn, sondern spezifisch an das in der infarzierten Läsion stark exprimierte Target-Protein P-Selektin akkumuliert. Somit kommt es im gesunden Hirngewebe des VOI zu nahezu keiner Anreicherung von [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan.

Die folgenden Abbildungen zeigen erneut anhand spezifischer Beispiele den Ablauf der einzelnen Verarbeitungsschritte des NU\_DPA-Programms.

Abbildung 4.9, a stellt den vollständigen PET-Bilddatensatz dar. Entsprechend den Ausführungen in Kapitel 3.3.2.1 wurde zunächst aufgrund der manuellen Zentrierung des VOI im Detektorring des  $\mu$ -PET bei der VOI-Segmentierung das letzte Drittel im Bilddatensatz eliminiert (z-Achse, Abbildung 4.9, b). Durch Schwellwertanpassungen nach Otsu und die erwähnten morphologischen Matlab-Operationen wurden die Bilddaten anschließend weitergehend auf das VOI minimiert (Abbildung 4.9, c, d). Mit Hilfe des erzeugten Binärbildes aus den verbleibenden Bilddaten (Abbildung 4.9, e) ließen sich die inneren Voxel der binären Volumina lokalisieren (Abbildung 4.9, f). Diese inneren Voxel wurden dann als Ausgangspunkte für den Konturabgleich mit dem linear interpolierten, binären MRT-Atlas (Abbildung 4.9, g) verwendet. Abbildung 4.9, h stellt exemplarisch das Ergebnis einer solchen VOI-Segmentierung für den Target-spezifischen Radiotracer [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan dar.

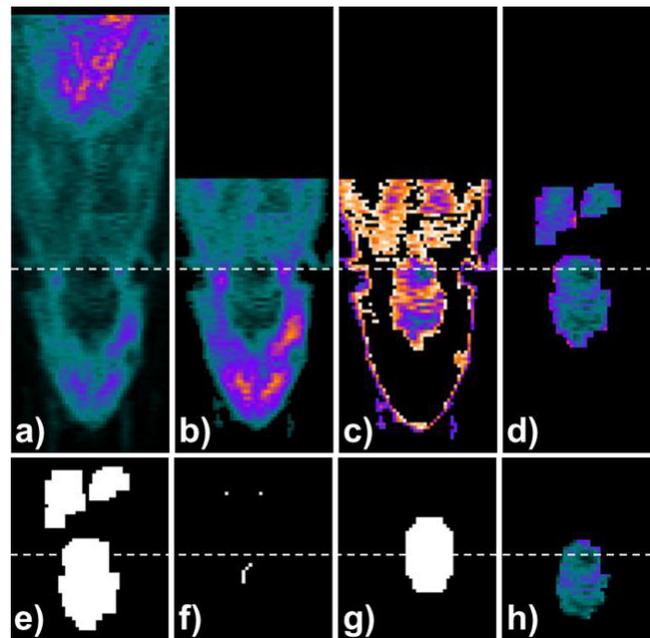


Abbildung 4.9 - VOI-Segmentierung bei [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan. Aufgrund der manuellen Positionierung des Kleintiers im Tomographen wurde der vollständige PET-Datensatz (a) um das hintere Drittel reduziert (b). Durch Annäherung mittels Schwellwertverfahren nach Otsu (c) und vorimplementierter morphologischer Operationen in Matlab ließen sich die Bilddaten weiter auf das VOI einschränken (d). Aus den verbleibenden PET-Daten wurde anschließend ein Binärbild erzeugt (e). Die inneren Voxel der verbliebenen Volumina (f) dienen als Startpunkte für den Konturabgleich zwischen PET-Binärbild (e) und verkleinertem, binär-transformiertem MRT-Atlas (g). Das Resultat der VOI-Segmentierung ist in (h) dargestellt.

Die nachfolgende Abbildung 4.10, a entspricht dabei dem gemittelten Bild aus 14 überlagerten Wistar Ratten Bilddatensätzen mit einer Schlaganfall-Läsion. Aufgrund der geringen Intensitätswerte des gesunden Hirngewebes innerhalb des VOI wurden für die VOI-Segmentierung die Bildinformationen des zentrierten [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-PET-Templates auf die Größe eines Quaders eingegrenzt. Anschließend wurden die Daten entsprechend der zu erwartenden geringen Radiotracer-Anreicherung im gesunden Hirngewebe reduziert. Um das gesunde Hirngewebe mit geringer Radiotracer-Anreicherung hervorzuheben, wurden die Bildintensitätswerte im nächsten Schritt invertiert (Abbildung 4.10, c). Zur Segmentierung des VOI wurde danach ein singuläres Voxel, zentriert im 3D-Raum, schrittweise auf die Größe des VOI aufgebläht, wobei das skelettierte Gradientenbild (Abbildung 4.10, d) des intensitätsinvertierten und normalisierten Bildes (Abbildung 4.10, c) die Ausdehnung des Voxels einschränkte. Abbildung 4.10, b zeigt das Ergebnis der VOI-Segmentierung des gesunden Hirngewebes des [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-PET-Templates, nachdem das intensitätsinvertierte und normalisierte Bild (Abbildung 4.10, c) mit der Maske des aufgeblähten Voxels multipliziert wurde.

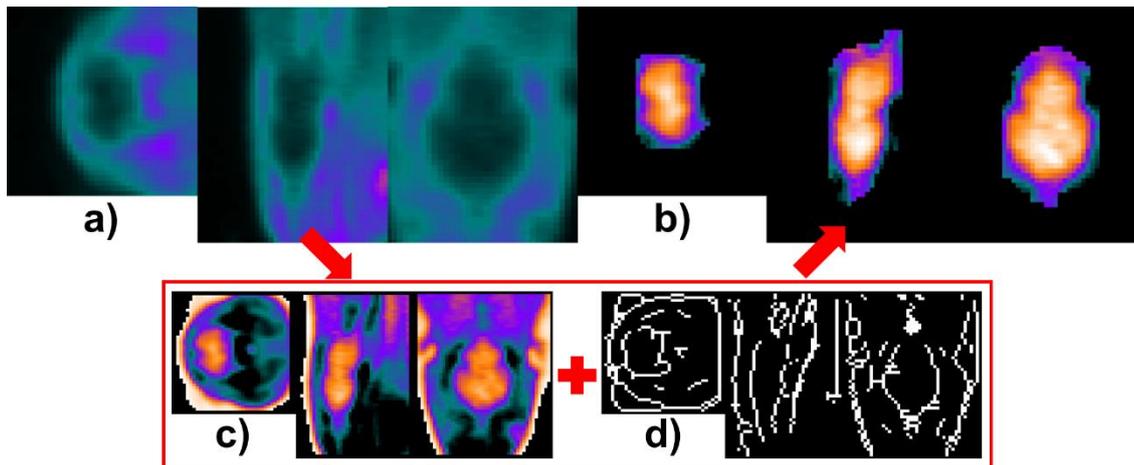


Abbildung 4.10 - [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-PET-Template und dessen automatisch segmentiertes VOI. Das [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-PET-Template (a) wurde über 14 Wistar Ratten mit einer Schlaganfall-Läsion gemittelt. Mittels Intensitätsinversion (c) und skelettierten Gradientenbild (d) lässt sich das VOI segmentieren (b).

Aufgrund der rigiden Ausrichtung und den damit verbundenen Schwierigkeiten bei der Ausrichtung der Daten, wurde für die Ausrichtung der Daten der Kopf der Ratte zum intensitätsinvertierten VOI hinzugefügt. Hierfür wurde aus dem vollständigen PET-Bilddatensatz (Abbildung 4.11, a) das segmentierte VOI in erweiterter Form extrahiert (Abbildung 4.11, b) sowie die Intensitätswerte invertiert (Abbildung 4.11, c). Um den Kopf der Ratte hinzuzufügen, wurde zunächst ein Binärbild aus dem vollständigen PET-Bilddatensatz erzeugt (Abbildung 4.11, d). Durch Datenreduktion in alle drei Koordinatenausrichtungen (Abbildung 4.11, e) und Ausschluss aller bereits im VOI enthaltener Voxel (Abbildung 4.11, f) konnte der Kopf der Ratte adäquat segmentiert werden. Dieser wurde anschließend mit einer niedrigeren Gewichtung (Abbildung 4.11, g) zum intensitätsinvertierten VOI hinzugefügt (Abbildung 4.11, h). Die Bilder in der unteren Reihe in Abbildung 4.11, i (roter Rahmen) zeigen exemplarisch das Ergebnis einer solchen rigiden Registrierung, bei der zwei intensitätsinvertierte [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Bilddatensätze des gleichen Tieres an zwei unterschiedlichen Messtagen aufeinander ausgerichtet wurden.

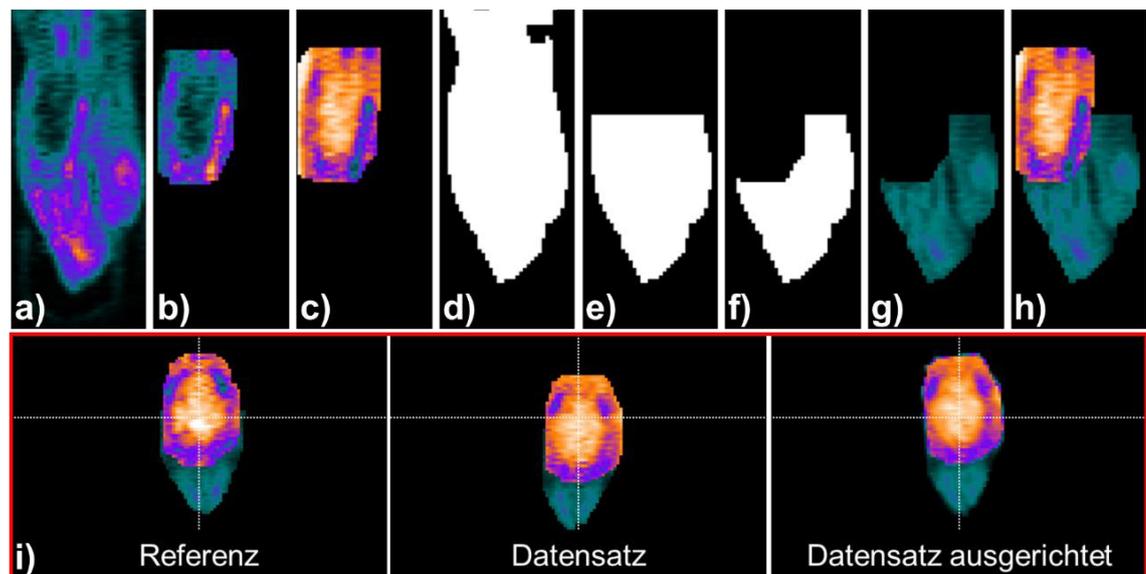


Abbildung 4.11 - Visualisierung einer rigiden Registrierung von zwei [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Bilddatensätzen unter Einbeziehung des Rattenkopfes zur Optimierung des Registrierungsprozesses. Beide Bilder, Referenz- und zu registrierendes Bild, basieren auf einer Kombination aus intensitätsinvertierten, segmentiertem VOI (b, c) und Rattenkopf (g). Um den Kopf zu extrahieren, wird das PET-Bild zunächst in ein Binärbild transformiert (d). Dieses wird mit Hilfe der Koordinaten aus dem umschließenden Quader des VOI reduziert (e). Nach Ausschluss der bereits im VOI enthaltenen Voxel wird das reduzierte Binärbild als Maske mit dem Ausgangsdatensatz multipliziert (g). Zuletzt werden das intensitätsinvertierte VOI (c) und der extrahierte Kopf (g) kombiniert (h). Die unteren Bilder (roter Rahmen) zeigen ein Beispiel einer solchen starren Registrierung.

Zusätzlich zeigt die nachfolgende Abbildung 4.12 das Ergebnis der Co-Registrierung des intensitätsinvertierten VOI mit dem T2\*-gewichtete MRT-Bilddatensatz. Im linken Bild sind der T2\*-gewichtete MRT-Bilddatensatz und der dazugehörige MRT-Atlas (Wistar Ratte [25]) sowie das intensitätsinvertierte VOI des [<sup>68</sup>Ga]-Fucoian-Templates nach doppelter affiner Co-Registrierung dargestellt (Korrelationskoeffizient nach Spearman: 0,822). In der rechten Darstellung ist der MRT-Atlas mit dem erstellten [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Template überlagert. Dabei ist erneut anzumerken, dass dem [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Template keine Bilddaten einer Kontrollgruppe zugrunde liegen, sondern dass es sich hierbei um einen gemittelten Datensatz aus Bilddaten mit einer Schlaganfall-Läsion handelt. Der rote Pfeil markiert die vom Schlaganfall betroffene Region.

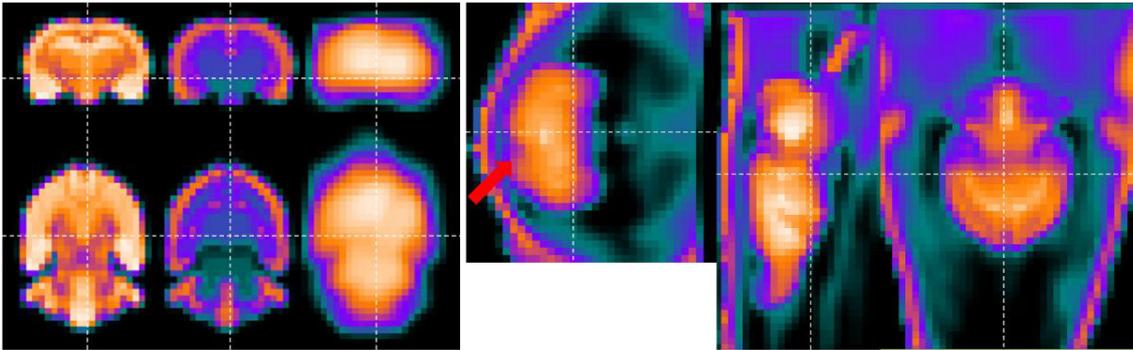


Abbildung 4.12 - [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Template mit Schlaganfall-Läsion nach Co-Registrierung mit dem MRT-Atlas. Auf der linken Seite sind das T2\*-gewichtete MRT-Bild und der MRT-Atlas des Wistar Rattengehirns [19] sowie das intensitätsinvertierte VOI des [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Templates mit Schlaganfall-Läsion dargestellt. Das rechte Bild zeigt das [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan-Template mit überlagertem MRT-Atlas. Der rote Pfeil markiert die vom Schlaganfall betroffene Region.

## 5 Diskussion und Ausblick

### 5.1 Das NU\_DPA-Programm

#### 5.1.1 Das NU\_DPA-Programm im Überblick

Ziel dieser Doktorarbeit war es, das Spektrum an bestehenden Datenauswertungs-Programmen mit einem einfacheren, klinisch einsetzbaren Auswertungstool zu erweitern und zu verbessern. Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte NU\_DPA-Programm ist ein semi-automatisiertes Datenauswertungs-Programm, welches in der Lage ist, akquirierte Bilddaten von Kleintieren für verschiedene Arten von Radiotracern zu analysieren. Anhand der hier aufgeführten Versuchsreihen konnte gezeigt werden, dass das Programm sowohl Bilddaten mit homogener Anreicherung im Gehirn (wie z.B. [ $^{18}\text{F}$ ]FDG) als auch Bilddaten mit Target-spezifischem Uptake (z.B. [ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan) verarbeiten kann. Zudem zeigt die Datenauswertung von Versuch B - PT-Datenreihe (Kapitel 3.2.2), dass das NU\_DPA-Programm auch für sehr komplexe Fragestellungen geeignet ist. So eignet sich das NU\_DPA-Programm beispielsweise auch bei einer starken Veränderung der Radiotracer-Anreicherung im Zielvolumen aufgrund einer induzierten Erkrankung (z.B. Ischämie).

Nach einem manuellen Datenimport und dem Input des Anwenders werden Bilddaten automatisch verarbeitet. Das Zielvolumen (VOI), welches untersucht werden soll, richtet sich nach dem hinzugefügten anatomischen Atlas. Dieser kann vom Anwender frei gewählt werden. Aufgrund der unterschiedlichen räumlichen Auflösungen werden die höher aufgelösten anatomischen Informationen im nächsten Schritt an die schlechtere räumliche Auflösung der PET-Daten angepasst. Der größenangepasste Atlas dient anschließend als Grundlage zur automatischen Segmentierung der VOI. Mit Hilfe der segmentierten VOI kann ein PET-Template aus den eigenen, akquirierten PET-Daten erstellt werden, auf dem schließlich alle PET-Datensätze ausgerichtet werden. Durch Ausrichtung auf den größenangepassten anatomischen Atlas,

lassen sich die PET-Daten letztendlich in einzelne Teilregionen untergliedern. Die jeweiligen Radiotracer-Anreicherungen in jeder Teilregion können dann anhand semiquantitativer Parameter ausgewertet werden. Abschließend können die berechneten Ergebnisse durch parametrische oder nicht-parametrische Tests statistisch ausgewertet werden.

Die Kodierungen des NU\_DPA-Programms enthalten und beruhen größtenteils auf vorimplementierte Matlab-Algorithmen, wie z.B. der Funktion *imresize3.m* zur Anpassung der Bildauflösung. Diese zu Grunde liegenden Matlab-Funktionen sollen helfen, die Fehleranfälligkeit des Programms zu minimieren und die Validität des Programms zu stärken. Auch die Unterteilung der Skripte in die einzelnen Verarbeitungsschritte (Kapitel 3.3.1) soll dem Anwender dabei helfen, einzelne Teilschritte leichter zuordnen zu können oder (falls nötig) bestimmte Kodierungen anzupassen. Des Weiteren können Zwischenschritte, wie z.B. die Ausrichtung zweier Datensätze aufeinander, einfacher (visuell) überprüft werden.

## **5.1.2 Das NU\_DPA-Programm im Vergleich zu anderen Auswertungsprogrammen**

Die hier aufgeführten Programme bzw. Toolboxen, mit denen das NU\_DPA-Programm verglichen wurde, sind: (i) die *spmratIHEP* Toolbox [36], (ii) das Software-Programm *AMIDE* [37], (iii) die *SAMIT* Toolbox [38], sowie (iv) das kommerzielle Software-Programm *PMOD*.

### **5.1.2.1 Anmerkungen zu bestehenden Datenauswertungs-Programmen**

Wie bereits in Kapitel 2 erwähnt, erlaubt die *spmratIHEP*-Toolbox eine voxelbasierte Analyse von  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ -PET-Bildern unter Verwendung eines  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ -PET-Templates und einer intrakraniellen Maske eines Rattengehirns. Die Unterteilung in unterschiedliche Teilregionen der auf dem  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ -PET-Template ausgerichteten Bilddaten erfolgte in der Toolbox anhand eines Paxinos & Watson-Atlas [69-71]. Dafür wurde der zum MRT-Atlas zugehörige hochaufgelöste MRT-Rattenhirn-Bilddatensatz zunächst auf die schlechtere PET-Auflösung angepasst. Anschließend wurde der MRT-Atlas in sechs vorher

definierte, anatomische Regionen unterteilt (Riechkolben, Kortex, Hippocampus, Thalamus, Mesencephalon und Kleinhirn). Jeder dieser Regionen wurde der gemittelte Wert aus dem eigen erstellten [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET-Template zugewiesen. Diese sechs Regionen bilden das sogenannte synthetische PET-Atlas-Bild. Das synthetische PET-Atlas-Bild wiederum dient als Referenzbilddatensatz, auf den alle weiteren Bilddatensätze per intensitätsbasierter, affiner Registrierung bzw. anhand der daraus erzeugten Transformationsmatrix ausgerichtet werden. Unklar dabei ist jedoch, wie der gemittelte Wert bzw. die Zuweisung der jeweiligen Region vorab aus dem gemittelten [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET-Template festgelegt wurde. Ein weiterer Kritikpunkt dieser Methode ist, dass durch die gemittelte Region-Zuweisung mögliche lokale Unterschiede innerhalb der vorher definierten Regionen bei der Co-Registrierung vernachlässigt wurden.

Der benutzerfreundlichen Handhabung des Software-Programms AMIDE steht entgegen, dass die Bearbeitung der Bilddaten für jeden einzelnen Bilddatensatz manuell erfolgen muss. Neben dem daraus resultierenden Zeitaufwand kann die Ausrichtung der Bilddaten nur anhand von Verschiebung und Rotation erfolgen. Eine Möglichkeit die Bilddaten zu skalieren ist nicht gegeben. Das heißt, für alle Bilddatensätze wird eine einheitliche Größe des VOI angenommen. Des Weiteren lässt sich eine Segmentierung des VOI nur frei Hand oder anhand eines geometrischen Formkörpers (z.B. Ellipsoid) vornehmen. Daher kann die Segmentierung des Zielvolumens bei Strukturen, die stark von einer geometrischen Form abweichen, schwierig sein und ist daher vor allem in den Randbereichen kritisch zu betrachten. Gleiches gilt für die selbstständige, korrekte Unterteilung des VOI in einzelne Teilregionen bei rein funktionellen Bilddaten. Auch bei Einbindung und Ausrichtung der Bilddaten auf einen geeigneten MRT-Atlas sind die Ergebnisse aufgrund der manuellen Ausrichtung sowie der fehlenden Skalierung zu einem gewissen Grad fehlerbehaftet.

Die SAMIT Toolbox wurde anhand von PET- als auch anhand von SPECT-Daten implementiert und validiert. Somit ist sie prinzipiell für Bilddaten unterschiedlicher Modalitäten anwendbar. Der Schwerpunkt der Toolbox liegt allerdings dabei auf der Erstellung Tracer-spezifischer PET- und SPECT-Templates für das Rattengehirn. Äquivalent zur spmratIHEP Toolbox erfolgt die Ausrichtung der erstellten Templates auf einen, auf den Paxinos & Watson-Atlas ausgerichteten, MRT-Bilddatensatz [71]. Der Registrierungsalgorithmus basiert auf der

normalisierten gegenseitigen Informationsmaximierung (engl. *normalized mutual information maximization algorithm*). Da es sich in diesem Fall um eine starre Registrierung handelt, bleiben mögliche Größenunterschiede zwischen dem Atlas und den funktionellen Bilddaten bestehen. Die semiquantitative Auswertung der Bilddaten erfolgt in der SAMIT Toolbox mittels SUV, wobei die statistische Auswertung der Ergebnisse mit einem weiteren Programm ausgeführt werden muss.

Das kommerzielle Software-Programm PMOD ist ein vollumfängliches Datenauswertungs-Programm. Neben einer grafischen Benutzeroberfläche (engl. *graphical user interface*, GUI) besitzt es bereits eine diverse Anzahl an Atlanten. Das *Rodent Brain Image Analysis Tool* (PNROD), ein Programm zur Auswertung von Bilddaten von Nagetiergehirnen, besitzt beispielsweise fünf Ratten- und zwei Maus-Gehirnatlanten [72]. Da es sich jedoch um ein kommerzielles Software-Programm handelt, sind die Atlanten nicht auf die eigenen Daten anpassbar und das Programm ist aufgrund der Lizenzgebühren mit stetigen Kosten verbunden.

### **5.1.2.2 Atlas-basierte Auswertung mit dem NU\_DPA-Programm**

Die Datenauswertung in der spmratlHEP Toolbox, der SAMIT Toolbox sowie mit dem Programm PMOD basiert auf anatomischen Atlanten. Dabei beinhalten diverse Datenauswertungs-Programme, wie z.B. PMOD, eine Vielzahl an vorimplementierten Atlanten. Dies hat den Vorteil, dass die Suche nach einem geeigneten Atlas entfällt. Die Auswertung mit dem NU\_DPA-Programm basiert hingegen auf dem hinzugefügten anatomischen Atlas. Das heißt, für die Datenauswertung muss zunächst ein dem Zielvolumen entsprechender anatomischer Atlas hinzugefügt werden. Je nach Verfügbarkeit kann der anatomische Atlas jedoch auch kostengünstiger, besser geeignet oder aktueller gegenüber einem vorimplementierten Atlas sein.

Durch die manuelle Hinzugabe des Atlas' besteht auch die Möglichkeit, den Atlas im Hinblick auf eigene medizinische Fragestellungen anzupassen. Dies ist durchaus von Vorteil wie beispielsweise die notwendige (manuelle) Unterteilung des anatomischen MRT-Atlas in linke und rechte Hemisphäre bei Versuch B - PT-Datenreihe (Kapitel 3.2.2) zeigt. Solche Anpassungen sind in bereits vorimplementierten Atlanten oftmals schwierig umzusetzen. Vorimplementierte

Atlanten bringen zudem gewisse Grundvoraussetzungen an die akquirierten Daten mit sich, limitieren die Anwendbarkeit des Datenauswertungs-Programms (z.B. *spmratIHEP Toolbox*) oder machen gegebenenfalls manuelle Nachbearbeitungen notwendig. Ein Beispiel hierfür wäre die Studie von Deleye *et al.*, in der mehrere [<sup>18</sup>F]-markierte Radiotracer in Mäusen mit PMOD analysiert wurden [73]. Damit die Daten mit Hilfe des anatomischen Atlas' von PMOD ausgewertet werden konnten, mussten die zusätzlich akquirierten CT-Daten mit den anatomischen CT-Daten des PMOD-Atlas' registriert werden. Das heißt, monomodal akquirierte, funktionelle Bilddaten allein würden nicht ausreichen, um die Daten am PMOD-Atlas auszurichten.

Da die Auswertung der Bilddaten bei dem hier vorgestellten NU\_DPA-Programm im direkten Zusammenhang mit den hinzugefügten anatomischen Bilddatensätzen steht, kann vermutet werden, dass das Programm auch bei anderen Organen (z.B. Herz) oder Spezies (z.B. Maus) funktioniert. Weitere Tests in dieser Hinsicht stehen jedoch noch aus.

Die Anpassung der MRT-Bilddatensätze auf die räumliche Auflösung der PET-Bilddaten erfolgt in dem NU\_DPA-Programm durch lineare Interpolation (bzw. optional durch Interpolation des nächsten Nachbarn). Im Gegensatz zu einer Mittelung der Bilddaten über mehrere Schichten ermöglicht eine lineare Interpolation der einzelnen Regionen letztendlich eine genauere Zuordnung der einzelnen Regionen. Speziell bei niedrig aufgelösten Bilddaten, wie z.B. bei PET-Bilddaten, kann die Datenauswertung somit durchaus optimiert werden. Nichtsdestotrotz sollte sich die Auswertung der Bilddaten an der räumlichen Auflösung der PET-Daten orientieren. Mögliche signifikante Ergebnisse in anatomischen Atlas-Regionen, die kleiner als die räumliche Auflösung der PET-Bilddaten sind, sollten bei der Auswertung sehr kritisch betrachtet oder gegebenenfalls aus der Analyse der Daten ausgeschlossen werden. Ein Beispiel hierfür wäre der *Nucleus subthalamicus* in einem Rattengehirn mit einer Volumengröße von  $\sim 0,8 \text{ mm}^3$  bei einer intrinsischen räumlichen PET-Auflösung des Siemens Inveon®  $\mu$ -PET Systems von ca. 1,5 mm [74-76].

### **5.1.2.3 VOI-Segmentierung und (PET-)Templates bei der Auswertung mit NU\_DPA**

Für die Erstellung des PET-Templates wird aus den Bilddaten das VOI segmentiert. Dieser Schritt erfolgt automatisiert und beruht auf den, auf die räumliche PET-Auflösung angepassten, anatomischen Bilddatensätzen. Dementsprechend basiert die VOI-Segmentierung auf der tatsächlichen Struktur des Zielvolumens und nicht auf einem geometrischen Körper wie z.B. bei AMIDE.

Ähnlich wie bei der SAMIT Toolbox bietet das Programm NU\_DPA die Möglichkeit, eigene Templates zu erstellen. Diese beruhen ebenfalls auf den eigenen akquirierten (PET-)Daten. Im Gegensatz zur SAMIT Toolbox werden die Templates jedoch automatisch erstellt. Der Anwender muss den Referenzbilddatensatz nicht vorab manuell bestimmen. Bei Bilddaten mit veränderten VOI-Strukturen bzw. bei Bilddaten mit Target-spezifischer Radiotracer-Anreicherung, die nur wenig Uptake im VOI haben, können eigens erstellte Templates bei der Ausrichtung der Bilddatensätze durchaus von Vorteil sein. Sollte es beispielsweise bei einem Tier zu einer abweichenden Radiotracer-Akkumulation gegenüber den anderen Tieren kommen, so wäre diese zu einem gewissen prozentualen Anteil im Template mitberücksichtigt. Dazu zählen auch die Einflüsse aufgrund unterschiedlich stark ausgeprägter Läsionen, wie sie z.B. nach einer Photothrombose auftreten (Abbildung 4.8).

Die Ausrichtung der Bilddaten auf dem anatomischen Atlas erfolgt, im Gegensatz zu AMIDE oder zur SAMIT Toolbox, anhand affiner Registrierung. Somit können Unterschiede in den Organgrößen bzw. geringfügige Abweichungen in den Organstrukturen besser angepasst werden. Ein kleiner Ausrichtungsfehler um eine einzelne Schichtebene könnte in der präklinischen Bildgebung bereits große Auswirkungen auf die Zuteilung der Teilregionen haben. Als Beispiel seien hier die Dimensionsgrößen von 20 x 13 x 32 Schichtebenen für das VOI des PET-Templates aus Versuch A - SAB-Datenreihe (Abbildung 4.2, b) genannt.

### **5.1.2.4 Datenauswertung mit dem NU\_DPA-Programm**

Im Vergleich zu den genannten Datenanalyse-Programmen (i-iv), die sich auf den SUV fokussieren, können die Bilddaten im NU\_DPA-Programm anhand drei semiquantitativer Parameter ( $A_N$ , SUV und UR) ausgewertet werden. Dies

ermöglicht eine flexiblere und umfassendere Interpretation der Daten. Zum Beispiel im Hinblick auf die Kinetik neuartiger Radiotracer kann eine zeitliche Auswertung nach  $A_N$  hilfreich sein. Das Verhältnis aus gemessener Radioaktivität in der VOI-Teilregion und injizierter Aktivität kann wichtige Informationen dazu beitragen, wann und in welcher Menge sich der applizierte Radiotracer *in vivo* quantitativ am besten am bzw. im Target angereichert hat. Eine Auswertung nach UR bietet wiederum den Vorteil, dass sie sich ausschließlich auf den tatsächlich angereicherten Radiotracer bezieht. Starke Schwankungen im Körpergewicht werden somit beispielsweise nicht berücksichtigt.

Keines der genannten frei verfügbaren Datenanalyse-Programme (i-iii) bietet Möglichkeiten zur statistischen Auswertung der akquirierten Bilddaten. Das bedeutet, dass im Gegensatz zum NU\_DPA-Programm ein weiteres Statistik-Softwareprogramm für die Auswertung der berechneten SUV benötigt wird. Im NU\_DPA-Programm wurden stattdessen die Matlab-implementierten Algorithmen, wie z.B. *friedman.m*, als statistische Tests in die Auswertung mit einbezogen. Aufgrund der zur Etablierung des Tools verwendeten Bilddaten ist das Programm derzeit jedoch nur für die in Kapitel 3.2 genannten Tierdaten getestet und validiert. Diese beinhalteten Bilddaten mit neurologischen Erkrankungen bei kleiner Tieranzahl pro Versuchsgruppe ( $n < 30$ ). Das heißt, der Schwerpunkt der statistischen Auswertung lag in unseren Studien vor allem auf den nichtparametrischen Tests. Zur Optimierung der Stabilität des Programms sollte das NU\_DPA-Programm weiter mit zusätzlichen Bilddaten getestet werden. Dies gilt vor allem für die Skripte, die die parametrischen statistischen Tests beinhalten. Die flexible Anwendung des NU\_DPA-Programms ermöglicht zur Auswertung entsprechender Daten die Anpassung bzw. Überarbeitung der Skripte sowie die Erweiterung des Entscheidungsbaumes (Abbildung 3.6), z.B. um Varianztests.

Neben der gegebenen Möglichkeit zur statistischen Auswertung ermöglichen vor allem die Boxplot-Darstellungen inkl. der eingezeichneten Einzelwerte eine kritische Überprüfung der eigenen Bilddaten. Dabei helfen die Grafiken besonders bei der Identifikation von Extremwerten, Ausreißern bis hin zum Erkennen möglicher Fehler bei der Ausrichtung der Bilddaten.

### 5.1.3 Limitierungen und Ausblick des NU\_DPA-Programms

Die Implementierung und Validierung dieses NU\_DPA-Programms erfolgte anhand der hier vorgestellten monomodalen PET-Bilddaten. Nichtsdestotrotz sind beide in diesem Programm enthaltenen Registrierungsalgorithmen auch in der Lage, Bilddaten von verschiedenen bildgebenden Modalitäten zu verarbeiten. Dazu zählen auch multimodale Bilddaten wie z.B. PET-CT oder PET-MR. Das heißt, bei multimodalen Bilddaten könnte die Ausrichtung der Bilddaten durch die Registrierung der hochaufgelösten anatomischen Bilddaten aufeinander optimiert werden (ähnlich [73]). Die funktionellen Bilddaten könnten dann anhand der resultierenden Transformationsmatrizen aufeinander ausgerichtet werden. Möglicherweise sind für die Anwendung dieser Art jedoch Anpassungen der Kodierungen notwendig.

Das Tool selbst basiert auf Matlab-Code ohne grafische Benutzeroberfläche. Dies ermöglicht zwar die einfachere Anpassung auf eigene medizinische Fragestellungen, ist aber auch gleichzeitig weniger benutzerfreundlich. Sollte das Programm NU\_DPA seine Validität anhand weiterer Testdaten bestätigen, könnte daher in Erwägung gezogen werden, die Kodierungen für eine breitere Anwendung benutzerfreundlicher zu gestalten. Des Weiteren könnte dann auch der manuelle Import der Bilddaten einfacher gestaltet werden.

Weitere mögliche Anwendungsgebiete des NU\_DPA-Programms, welche im Rahmen dieser Dissertation noch nicht getestet bzw. validiert wurden, sind beispielsweise:

- die Analyse von Bilddaten weiterer PET-Radiotracer
- die Auswertung weiterer intensitätsbasierter Bilddaten wie z.B. SPECT
- die Auswertung weiterer Zielvolumen bzw. Organe (z.B. Herz)
- die Untersuchung von weiteren Tierarten (z.B. Maus)

Mögliche weiterführende Anpassungen der Skripte des NU\_DPA-Programms auf die verschiedenen Anwendungsgebiete können diesbezüglich nicht ausgeschlossen werden.

## 5.2 Interpretation der Datenreihen

Die ausgewerteten Bilddaten von Versuch A und B dienen vor allem zur Implementierung und Etablierung des NU\_DPA-Programms. Daher sollen die gefundenen signifikanten Ergebnisse im Folgenden entsprechend ihrer medizinischen Fragestellung erläutert werden, eine tiefergehende medizinische Interpretation der Ergebnisse soll an dieser Stelle jedoch nicht erfolgen.

### 5.2.1 Diskussion der SAB-Ergebnisse von Versuch A

Bei einer SAB handelt es um eine Erkrankung des Gehirns mit globaler Minderdurchblutung des Gehirns. Dies führt zu einer Reduzierung in der Verarbeitung zerebralen Sauerstoffs [77]. Dementsprechend ist zu erwarten, dass sich diese globalen metabolischen Auswirkungen, ausgelöst durch die SAB, im gesamten Gehirn widerspiegeln. Bei einer Untersuchung der SAB mit Hilfe von [ $^{18}\text{F}$ ]FDG wäre demnach eine starke Alternierung in der Anreicherung zu erwarten.

Dennoch konnten bei der Auswertung der Bilddaten nach SUV nur vereinzelte signifikante Effekte in diversen Teilregionen des Gehirns gefunden werden. Diese gefundenen Ergebnisse decken sich weitestgehend mit den Ergebnissen, welche bei einer ersten manuellen Auswertung mittels AMIDE sowie bei der Etablierung des NU\_DPA-Programms gefunden wurden [78]. Zusätzlich zu den vereinzelt signifikanten Effekten konnte anhand der Boxplot-Darstellungen gezeigt werden, dass die Einzelwerte der Tiere stärker streuen. Des Weiteren zeigten sich auch vermehrt Extremwerte innerhalb der Boxplot-Darstellungen. Gerade bei Datenauswertungen mit geringer Datenanzahl können jedoch solche Extremwerte einen starken Einfluss auf die statistische Auswertung der semiquantitativen Parameter ausüben.

Erst durch die Erweiterung, zusätzliche semiquantitative Parameter miteinzubeziehen und somit die Auswertung der Bilddaten flexibler zu gestalten, konnten die unter Tabelle 4.1 aufgeführten signifikanten Unterschiede bei der Betrachtung der UR gefunden werden. Hauptursache für die starke Diskrepanz zwischen den gefundenen signifikanten Effekten bei einer Auswertung nach SUV gegenüber der Auswertung nach UR sind vermutlich die zur Berechnung

benötigten Einflussfaktoren wie Gewicht der Tiere und injizierte Radioaktivität. Während die injizierte Radioaktivität direkt beeinflusst werden kann, kann es bei Erkrankungen zu deutlichen Gewichtsschwankungen bei den Kleintieren kommen. Beispielsweise lag der mittlere Gewichtsverlust in dieser Versuchsreihe bei den SAB-Tieren zwischen den  $\mu$ -PET-Messungen 3 h und 4 Tage (nach OP) bei durchschnittlich 11 %. Da sich die Auswertung nach UR einzig auf das Verhältnis zwischen gemessene Radioaktivität im  $VOI_{\text{Teilregion}}$  zu gemessene Radioaktivität im  $VOI_{\text{Gehirn}}$  beschränkt, stellt sie eine effektive Alternative für die Auswertung des sich symmetrisch im Gehirn anreichernden Radiotracers [ $^{18}\text{F}$ ]FDG dar.

In der Auswertung nach UR zeigen sich dementsprechend die eigentlich zu erwartenden globalen Auswirkungen auf den Glukosestoffwechsel nach einer SAB. Alle großen Regionen des Gehirns zwischen beiden experimentellen Gruppen weisen starke Unterschiede im Glukosestoffwechsel auf. Vor allem zu den frühen Messzeitpunkten (3 h bzw. 1 d nach Induktion der SAB) liegen signifikante bis höchstsignifikante Unterschiede im [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Uptake zwischen den beiden experimentellen Gruppen Sham und SAB vor. Diese Unterschiede schwächen sich im weiteren zeitlichen Verlauf wieder zunehmend ab, was vermutlich auf den Regenerationsprozess der betroffenen Hirnregionen der Tiere zurückzuführen ist.

Bei der Auswertung der Tierdaten von Versuch A sind zwei studienrelevante Aspekte erwähnenswert, die bei einer möglichen medizinischen Interpretation der Daten berücksichtigt werden sollten.

Zum einen konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, dass das Betäubungsmittel Isofluran den Glukosestoffwechsel im Gehirn stark beeinflussen kann [79, 80]. Dieser Umstand ist allerdings im Allgemeinen zu berücksichtigen. Um die Auswirkungen der Narkose auf die Ergebnisse zu minimieren, wurden die Tiere daher in beiden experimentellen Versuchsgruppen sowohl während des chirurgischen Eingriffs als auch während der PET-Messungen in nahezu gleicher Menge und Dauer mit Isofluran anästhesiert. Weiterhin können die hier aufgeführten Ergebnisse aufgrund der kleinen Datenanzahl von  $n = 7$  nur einen ersten Hinweis auf mögliche signifikante Unterschiede im [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Metabolismus bei SAB sowie deren Kontrollgruppe

geben. Weitere Untersuchungen bzw. eine größere Anzahl an Tierdaten wären notwendig, um die gefundenen Ergebnisse zu bekräftigen.

## 5.2.2 Diskussion der PT-Ergebnisse von Versuch B

Ziel des Versuchs B war es, zu untersuchen, ob eine DBS im rechten MLR Auswirkungen auf den Glukosemetabolismus im rechten sensomotorischen Kortex hat, wenn dieser durch eine zerebrale Ischämie beeinträchtigt wurde. Basierend auf den Unterteilungen des MRT-Atlas' nach Johnson *et al.* [25] lag der Fokus in dieser Studie dementsprechend auf der Isokortex-Region. Diese umfasste den Kortex jedoch nur als Ganzes. Für die Beantwortung der medizinischen Fragestellung war es allerdings notwendig, beide Hemisphären der Isokortex-Region differenziert zu betrachten. Dies machte eine manuelle Unterteilung notwendig.

Aufgrund der exakten Ausrichtung der MRT-Daten entlang der Achsen des 3D-Raumes mussten mit Hilfe des NU\_DPA-Programms dafür lediglich die jeweiligen Raumhälften auf null gesetzt werden. Die Auswertung der Daten durch das NU\_DPA-Programm wurde dadurch nicht verändert. Es wurden lediglich zwei weitere Atlas-Regionen hinzugefügt. Die Möglichkeit, Atlas-Regionen bei Bedarf an die eigenen medizinischen Fragestellungen anzupassen und die Auswertung entsprechend zu erweitern, ermöglichen somit ein erweitertes Einsatzgebiet des NU\_DPA-Programms.

Durch die Unterteilung in linke und rechte Hemisphäre kann zusätzlich überprüft werden, inwieweit die Photothrombose immer in der gleichen Hirnregion entstanden ist. Somit kann zudem besser beurteilt werden, ob die Auswirkungen des ischämischen Schlaganfalls und die damit verbundenen Veränderungen in der [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Akkumulation zwischen den einzelnen Tieren vergleichbar sind. So kann anhand einer visuellen Verifikation beispielsweise überprüft werden, ob es gegebenenfalls zu verstärkten Entzündungsreaktionen um und/oder innerhalb des photothrombotischen Schlaganfalls gekommen ist. Ein Beispiel für eine solche unterschiedliche Ausprägung der induzierten Photothrombose wären die Darstellungen grün und lila in Abbildung 4.8. Sollte ein Tier gravierende Unterschiede in der Ausprägung der induzierten Photothrombose zu den

weiteren Tieren aufweisen, so sollte gegebenenfalls in Erwägung gezogen werden, das Tier aus der Versuchsreihe auszuschließen. Eine solcher Unterschied kann sonst (starken) Einfluss auf den [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Uptake und somit auf die gesamte statistische Auswertung haben.

In den Auswertungen nach UR konnte gezeigt werden, dass die DBS im rechten MLR die [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Akkumulation in der vom ischämischen Schlaganfall betroffenen Region signifikant beeinflussen kann (Tabelle 4.4, 20 - 60 min nach Applikation des Radiotracers). Die erhöhten [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Anreicherungen bei Stimulation bekräftigen die Aussage von Fluri *et al.* [54], dass eine DBS im rechten MLR in einem Ratten-Schlaganfall-Modell zu einer Verbesserung der gestörten Bewegungsfunktion beitragen kann. Zusätzlich zu den signifikanten Unterschieden, die im rechten sensomotorischen Kortex gefunden wurden, wurden weitere signifikante Unterschiede in verschiedenen anderen Regionen gefunden.

Es sei erwähnt, dass aufgrund der eingesetzten statistischen Tests und der geringen Tieranzahl pro experimenteller Gruppe der Minimalwert, der für den p-Wert berechnet werden kann, bei  $p = 0.03125$  liegt. Zur Erhöhung der statistischen Signifikanz wären weitere Daten notwendig.

### 5.2.3 Target-spezifische PT-Testdaten

Anhand der [ $^{68}\text{Ga}$ ]Fucoidan-PET-Daten konnte gezeigt werden, dass das NU\_DPA-Programm auch potentiell für weitere Target-spezifische Radiotracer geeignet sein kann. Trotz der geringen Signalintensitäten im Zielvolumen (in diesem Fall dem Gehirn) konnten die PET-Datensätze auf einem anatomischen MRT-Atlas ausgerichtet werden. Das heißt, die Daten können detailliert in Bezug auf die verschiedenen Teilregionen des MRT-Atlas ausgewertet werden. Besonders für Target-spezifische Radiotracer, die sich in einer bestimmten Teilregion des VOI anreichern, kann dies von Vorteil sein.

Neben der Target-Spezifität sollte zudem getestet werden, ob sich experimentelle Daten auch ohne Bilddatensätze einer Kontrollgruppe auswerten lassen. Gerade bei ersten Untersuchungen bzw. Tests, bei denen meist nur wenige Bilddatensätze vorliegen, kann dieser Aspekt hilfreich sein. Auf diese

Weise lässt sich eventuell schon in einem frühen Stadium der Versuche oder im Vorfeld einer größeren Versuchsreihe feststellen, ob Unterschiede zwischen den jeweiligen experimentellen Versuchsgruppen oder den zeitlichen Verläufen zu erwarten sind.

Zum fehlenden Vergleich mit den Bilddaten einer Kontrollgruppe gab es einen weiteren Grund die Auswertung der Bilddaten nur bis zur Berechnung der semiquantitativen Parameter durchzuführen. Die experimentellen Gruppen (2-5 h, 24 h, 48 h nach OP, Tabelle 3.7) beinhalten eine unterschiedliche Anzahl an Datensätzen pro experimenteller Gruppe. Zum Stand der Doktorarbeit waren die entsprechenden Skripte noch nicht für statistische Auswertungen dieser Art geeignet. Diesbezüglich müssten die Skripte des NU\_DPA-Programms für zukünftige statistische Auswertungen noch angepasst werden.

## 6 Abschließendes Fazit

Abschließend lässt sich sagen, dass das Matlab-basierte NU\_DPA-Programm eine gute Alternative für die Datenverarbeitung und -auswertung präklinischer Bilddaten darstellt. Das semi-automatisierte, auf MRT-Template basierte Auswerteprogramm ermöglicht die Untersuchung funktioneller *in vivo* Prozesse bei neurologischen Erkrankungen in Kleintieren. Anhand der aufgeführten Radiotracer [<sup>18</sup>F]FDG und [<sup>68</sup>Ga]Fucoidan konnte gezeigt werden, dass das Programm sowohl für homogen anreichernde Radiotracer als auch für Target-spezifisch Radiotracer geeignet ist. Die Auswahl, die Daten nach den semiquantitativen Parametern  $A_N$ , SUV bzw. UR auszuwerten, ermöglicht eine flexible Auswertung der Daten. Zusätzlich bietet es gegenüber anderen Programmen eine einfache Möglichkeit der statistischen Auswertung. Nach derzeitiger Einschätzung gibt es zurzeit kein kostenfreies Datenanalyse-Programm, das eine solch „kompakte“ Datenanalyse von funktionellen PET-Hirnbildern von Kleintieren inklusive statistischer Auswertung zulässt.

Die Skripte des NU\_DPA-Programms stehen zur Verfügung und können über die Mail-Adresse e\_schadt\_f@ukw.de angefordert werden.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Gibbs, R.A., et al., *Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution*. Nature, 2004. **428**(6982): p. 493-521.
2. Krieger, H.-. *Grundlagen der Strahlungsphysik und des Strahlenschutzes*. Springer Spektrum. Vol. 5. 2017, Berlin: Krieger, Hanno (1942-). 822.
3. Phelps, M.E., *PET : physics, instrumentation, and scanners*. 2006, New York: Springer. vi, 130 p.
4. Richter, D., *Compressed Sensing zur Filterung und Reduktion der Rekonstruktionszeit in der Positronen-Emissions-Tomographie*. 2014.
5. Jähne, B., *Digitale Bildverarbeitung und Bildgewinnung*. 2012: Springer Vieweg.
6. Simulations, P.I. *Bau ein Atom*. 2002-2018 [cited 2018 07 Nov]; Available from: [https://phet.colorado.edu/sims/html/build-an-atom/latest/build-an-atom\\_de.html](https://phet.colorado.edu/sims/html/build-an-atom/latest/build-an-atom_de.html).
7. Adler, P.B., H.-K., *Der Ionisierungsaufwand W organischer Moleküle und seine Abhängigkeit von der Molekülstruktur*. Zeitschrift für Naturforschung, 12/1965. **20**(12): p. 1700-1707.
8. Conti, M. and L. Eriksson, *Physics of pure and non-pure positron emitters for PET: a review and a discussion*. EJNMMI Phys, 2016. **3**(1): p. 8.
9. Ido, T., et al., *Fluorination with molecular fluorine. A convenient synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose*. The Journal of Organic Chemistry, 1977. **42**(13): p. 2341-2342.
10. Zhuang, H. and I. Codreanu, *Growing applications of FDG PET-CT imaging in non-oncologic conditions*. Journal of biomedical research, 2015. **29**(3): p. 189-202.
11. Gallagher, B.M., et al., *Metabolic trapping as a principle of radiopharmaceutical design: some factors responsible for the biodistribution of [18F] 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose*. J Nucl Med, 1978. **19**(10): p. 1154-61.
12. Berti, V., L. Mosconi, and A. Pupi, *Brain: normal variations and benign findings in fluorodeoxyglucose-PET/computed tomography imaging*. PET Clin, 2014. **9**(2): p. 129-40.
13. Fueger, B.J., et al., *Impact of animal handling on the results of 18F-FDG PET studies in mice*. J Nucl Med, 2006. **47**(6): p. 999-1006.
14. Pusch, G., et al., *Early Dynamics of P-selectin and Interleukin 6 Predicts Outcomes in Ischemic Stroke*. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2015. **24**(8): p. 1938-47.
15. Okada, Y., et al., *P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 expression after focal brain ischemia and reperfusion*. Stroke, 1994. **25**(1): p. 202-11.
16. Li, X., et al., *Targeting P-selectin by gallium-68-labeled fucoidan positron emission tomography for noninvasive characterization of vulnerable plaques: correlation with in vivo 17.6T MRI*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014. **34**(8): p. 1661-7.
17. Israel, I., et al., *Positron Emission Tomography and Autoradiography Imaging of P-selectin Activation Using 68Ga-Fucoidan in Photothrombotic Stroke*. Curr Neurovasc Res, 2018. **15**(1): p. 55-62.

18. Langner, J., *Development of a Parallel Computing Optimized Head Movement Correction Method in Positron Emission Tomography*, in *Department of Computer Science*. 2003, University of Applied Sciences, Dresden: Dresden. p. 128.
19. USA, S.M.S., *LSO Crystal Technology - High-Speed Imaging Without Compromise*. 2003.
20. Fahey, F.H., *Data acquisition in PET imaging*. J Nucl Med Technol, 2002. **30**(2): p. 39-49.
21. Hudson, H.M. and R.S. Larkin, *Accelerated Image-Reconstruction Using Ordered Subsets of Projection Data*. IEEE Transactions on Medical Imaging, 1994. **13**(4): p. 601-609.
22. Maes, F., et al., *Multimodality image registration by maximization of mutual information*. IEEE Trans Med Imaging, 1997. **16**(2): p. 187-98.
23. Viola, P. and W.M. Wells Iii, *Alignment by Maximization of Mutual Information*. International Journal of Computer Vision, 1997. **24**(2): p. 137-154.
24. Thaler, H.T., P.W. Ferber, and D.A. Rottenberg, *A statistical method for determining the proportions of gray matter, white matter, and CSF using computed tomography*. Neuroradiology, 1978. **16**: p. 133-5.
25. Johnson, G.A., et al., *A multidimensional magnetic resonance histology atlas of the Wistar rat brain*. Neuroimage, 2012. **62**(3): p. 1848-56.
26. Unnithan, A.K.A. and P. Mehta, *Hemorrhagic Stroke*, in *StatPearls*. 2020, StatPearls Publishing - Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
27. Lilla, N., et al., *First Description of Reduced Pyruvate Dehydrogenase Enzyme Activity Following Subarachnoid Hemorrhage (SAH)*. Front Neurosci, 2017. **11**: p. 37.
28. Djelilovic-Vranic, J., et al., *Follow-up of Vasospasm by Transcranial Doppler Sonography (TCD) in Subarachnoid Hemorrhage (SAH)*. Acta Inform Med, 2017. **25**(1): p. 14-18.
29. Kohler, M., et al., *[Stroke occurrence in Germany - on the comparability of insurance data and registry-based data]*. Fortschr Neurol Psychiatr, 2014. **82**(11): p. 627-33.
30. Balaban, B. and F. Tok, *Gait disturbances in patients with stroke*. PM R, 2014. **6**(7): p. 635-42.
31. Ojaghihaghighi, S., et al., *Comparison of neurological clinical manifestation in patients with hemorrhagic and ischemic stroke*. World J Emerg Med, 2017. **8**(1): p. 34-38.
32. Kelly, P.J., et al., *Carotid Plaque Inflammation Imaged by (18)F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography and Risk of Early Recurrent Stroke*. Stroke, 2019. **50**(7): p. 1766-1773.
33. Bunevicius, A., H. Yuan, and W. Lin, *The potential roles of 18F-FDG-PET in management of acute stroke patients*. Biomed Res Int, 2013. **2013**: p. 634598.
34. Heiss, W.D., *Radionuclide imaging in ischemic stroke*. J Nucl Med, 2014. **55**(11): p. 1831-41.
35. Balsara, R.D., et al., *Non-invasive imaging and analysis of cerebral ischemia in living rats using positron emission tomography with 18F-FDG*. J Vis Exp, 2014(94).
36. Nie, B., et al., *A statistical parametric mapping toolbox used for voxel-wise analysis of FDG-PET images of rat brain*. PLoS One, 2014. **9**(9): p. e108295.

37. Loening, A.M. and S.S. Gambhir, *AMIDE: a free software tool for multimodality medical image analysis*. Mol Imaging, 2003. **2**(3): p. 131-7.
38. Garcia, D.V., et al., *Correction: A Standardized Method for the Construction of Tracer Specific PET and SPECT Rat Brain Templates: Validation and Implementation of a Toolbox*. PLoS One, 2015. **10**(11): p. e0143900.
39. Agne, J. *ent*. 2013 [cited 2020 11 Aug]; Fast mutual information, joint entropy, and joint histogram calculation for N-D images]. Available from: <https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/41714-ent-varargin>.
40. Altman, Y. *export\_fig*. 2020 [cited 2020 11 Aug]; Available from: [https://github.com/altmany/export\\_fig/releases/tag/v3.11](https://github.com/altmany/export_fig/releases/tag/v3.11)
41. Schaefferkoetter, J. *Medical Image Reader and Viewer*. 2017; Available from: <https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/53745-medical-image-reader-and-viewer>.
42. Myronenko, A., *Non-rigid image registration regularization, algorithms and applications.*, in *Department of Science & Engineering*. 2010, Oregon Health & Science University. p. 177.
43. Papp, E.A., et al., *Waxholm Space atlas of the Sprague Dawley rat brain*. Neuroimage, 2014. **97**: p. 374-86.
44. Kjonigsen, L.J., et al., *Waxholm Space atlas of the rat brain hippocampal region: three-dimensional delineations based on magnetic resonance and diffusion tensor imaging*. Neuroimage, 2015. **108**: p. 441-9.
45. Sergejeva, M., et al., *Anatomical landmarks for registration of experimental image data to volumetric rodent brain atlasing templates*. J Neurosci Methods, 2015. **240**: p. 161-9.
46. Bakker, R., P. Tiesinga, and R. Kotter, *The Scalable Brain Atlas: Instant Web-Based Access to Public Brain Atlases and Related Content*. Neuroinformatics, 2015. **13**(3): p. 353-66.
47. Saïda, A.B. *swtest*. 2014 [cited 2020 11 Aug]; Shapiro-Wilk parametric hypothesis test of composite normality]. Available from: <https://de.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/13964-shapiro-wilk-and-shapiro-francia-normality-tests>.
48. Shen, J. *Tools for NifTI and ANALYZE image*. 2018 [cited 2020 11 Aug]; Available from: <https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/8797-tools-for-nifti-and-analyze-image>
49. Rueckert, D., et al., *Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images*. IEEE Trans Med Imaging, 1999. **18**(8): p. 712-21.
50. Bederson, J.B., I.M. Germano, and L. Guarino, *Cortical blood flow and cerebral perfusion pressure in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat*. Stroke, 1995. **26**(6): p. 1086-91; discussion 1091-2.
51. Veelken, J.A., R.J. Laing, and J. Jakubowski, *The Sheffield model of subarachnoid hemorrhage in rats*. Stroke, 1995. **26**(7): p. 1279-83; discussion 1284.
52. Lee, J.Y., et al., *Comparison of experimental rat models of early brain injury after subarachnoid hemorrhage*. Neurosurgery, 2009. **65**(2): p. 331-43; discussion 343.

53. Lilla, N., et al., *Early Transient Mild Hypothermia Attenuates Neurologic Deficits and Brain Damage After Experimental Subarachnoid Hemorrhage in Rats*. *World Neurosurg*, 2018. **109**: p. e88-e98.
54. Fluri, F., et al., *Stimulation of the mesencephalic locomotor region for gait recovery after stroke*. *Ann Neurol*, 2017. **82**(5): p. 828-840.
55. Kuroiwa, T., et al., *Development of a rat model of photothrombotic ischemia and infarction within the caudoputamen*. *Stroke*, 2009. **40**(1): p. 248-53.
56. Labat-gest, V. and S. Tomasi, *Photothrombotic ischemia: a minimally invasive and reproducible photochemical cortical lesion model for mouse stroke studies*. *J Vis Exp*, 2013(76).
57. Talley Watts, L., et al., *Rose Bengal Photothrombosis by Confocal Optical Imaging In Vivo: A Model of Single Vessel Stroke*. *J Vis Exp*, 2015(100): p. e52794.
58. Watson, B.D., et al., *Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis*. *Ann Neurol*, 1985. **17**(5): p. 497-504.
59. Bachmann, L.C., et al., *Deep brain stimulation of the midbrain locomotor region improves paretic hindlimb function after spinal cord injury in rats*. *Sci Transl Med*, 2013. **5**(208): p. 208ra146.
60. Payne, A.P., *The harderian gland: a tercentennial review*. *J Anat*, 1994. **185 ( Pt 1)**: p. 1-49.
61. Palma, G.a.C., Massimiliano and Dellepiane, Matteo and Scopigno, Roberto. *Improving 2D-3D registration by mutual information using gradient maps*. in *PCDS10*. 2010.
62. Schober, P., C. Boer, and L.A. Schwarte, *Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation*. *Anesth Analg*, 2018. **126**(5): p. 1763-1768.
63. Miederer, I., et al., *Pharmacokinetics of the cannabinoid receptor ligand [(18)F]MK-9470 in the rat brain - Evaluation of models using microPET*. *Med Phys*, 2018. **45**(2): p. 725-734.
64. Schwarz, C.G., et al., *Optimizing PiB-PET SUVR change-over-time measurement by a large-scale analysis of longitudinal reliability, plausibility, separability, and correlation with MMSE*. *Neuroimage*, 2017. **144**(Pt A): p. 113-127.
65. du Prel, J.-B., et al., *Choosing Statistical Tests*. *Dtsch Arztebl International*, 2010. **107**(19): p. 343-8.
66. Schadt, F., I. Israel, and S. Samnick, *Development and Validation of a Semi-Automated, Preclinical, MRI-Template Based PET Image Data Analysis Tool for Rodents*. *Frontiers in Neuroinformatics*, 2021. **15**(22).
67. Putzu, A., et al., *Regional Differences in Cerebral Glucose Metabolism After Cardiac Arrest and Resuscitation in Rats Using [(18)F]FDG Positron Emission Tomography and Autoradiography*. *Neurocrit Care*, 2018. **28**(3): p. 370-378.
68. Wang, Z., C. Mascarenhas, and X. Jia, *Positron Emission Tomography After Ischemic Brain Injury: Current Challenges and Future Developments*. *Transl Stroke Res*, 2020. **11**(4): p. 628-642.
69. Paxinos, G. and C. Watson, *Paxino's and Watson's The rat brain in stereotaxic coordinates*. Seventh edition. ed. 2014, Amsterdam ; Boston: Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier. 1 volume (unpaged).

70. Nie, B., et al., *A rat brain MRI template with digital stereotaxic atlas of fine anatomical delineations in paxinos space and its automated application in voxel-wise analysis*. Hum Brain Mapp, 2013. **34**(6): p. 1306-18.
71. Schwarz, A.J., et al., *A stereotaxic MRI template set for the rat brain with tissue class distribution maps and co-registered anatomical atlas: application to pharmacological MRI*. Neuroimage, 2006. **32**(2): p. 538-50.
72. Ltd, P.T. *PNROD Rodent Brain Image Analysis*. [cited 2021 14 Apr]; Available from: <https://pmod.com/files/pdf/brochures/pnrod.pdf>.
73. Deleye, S., et al., *Evaluation of Small-Animal PET Outcome Measures to Detect Disease Modification Induced by BACE Inhibition in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease*. J Nucl Med, 2017. **58**(12): p. 1977-1983.
74. Hamani, C., et al., *The subthalamic nucleus in the context of movement disorders*. Brain, 2004. **127**(Pt 1): p. 4-20.
75. Visser, E.P., et al., *Spatial resolution and sensitivity of the Inveon small-animal PET scanner*. J Nucl Med, 2009. **50**(1): p. 139-47.
76. Disselhorst, J.A., et al., *Image-quality assessment for several positron emitters using the NEMA NU 4-2008 standards in the Siemens Inveon small-animal PET scanner*. J Nucl Med, 2010. **51**(4): p. 610-7.
77. Carpenter, D.A., et al., *Cerebral oxygen metabolism after aneurysmal subarachnoid hemorrhage*. J Cereb Blood Flow Metab, 1991. **11**(5): p. 837-44.
78. Schadt, F., S. Samnick, and I. Israel, *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2018*, in *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2018*, L. Lhotska, et al., Editors. 2018, Springer Singapore: Prague. p. Pages 685-691.
79. Chun, I.K., et al., *Effect of isoflurane on rat brain metabolism assessed by <sup>18</sup>F-FDG small animal PET with voxel-based approach*. Journal of Nuclear Medicine, 2014. **55**(supplement 1): p. 1803-1803.
80. Park, T.Y., et al., *Effects of isoflurane anesthesia and intravenous morphine self-administration on regional glucose metabolism (<sup>18</sup>F]FDG-PET) of male Sprague-Dawley rats*. Eur J Neurosci, 2017. **45**(7): p. 922-931.

# Lebenslauf



---

# Publikationen

## Originalarbeiten

1. **Schadt, F**, Israel I, Samnick S. Development and Validation of a Semi-Automated, Preclinical, MRI-Template Based PET Image Data Analysis Tool for Rodents. *Frontiers in Neuroinformatics*. 2021;15(22). doi: 10.3389/fninf.2021.639643.
2. Page L, Ullmann AJ, **Schadt F**, Wurster S, Samnick S. In Vitro Evaluation of Radiolabeled Amphotericin B for Molecular Imaging of Mold Infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020 Jun 23;64(7):e02377-19. doi: 10.1128/AAC.02377-19. PMID: 32393491; PMCID: PMC7318046.
3. Israel I, Fluri F, **Schadt F**, Buck AK, Samnick S. Positron Emission Tomography and Autoradiography Imaging of P-Selektin Activation Using 68Fucoidan in Photothrombotic Stroke. *Curr Neurovasc Res*. 2018;15(1):55-62. doi: 10.2174/1567202615666180319152007. PMID: 29557745.

## Proceedings Book Series

1. **Schadt, F.**, et al. (2018). *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2018. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2018*. L. Lhotska, L. Sukupova, I. Lacković and G. S. Ibbott. Prague, Springer Singapore. 68/3: Pages 685-691.

## Poster

1. **Schadt, F.**, et al. (2017), *EUREKA! 12<sup>th</sup> International GSLS Student Symposium, Würzburg, Deutschland, Innovative analysis methods for preclinical evaluation of PET radiotracers for in vivo imaging in neurological diseases*
2. **Schadt, F.**, et al. (2018). *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2018, Prag, Tschechische Republik, Innovative analysis methods for preclinical evaluation of PET radio-tracers for in-vivo imaging in neurological diseases*
3. **Schadt, F.**, et al. (2018), *EUREKA! 13<sup>th</sup> International GSLS Student Symposium, Würzburg, Deutschland, First validation of a PET data analysis tool for analyzing neurological diseases in vivo*

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, die Dissertation „Entwicklung und erste Validierung eines innovativen Analysen-Tools für präklinische Bewertungen von PET-Radiopharmazeutika zur *in vivo* Untersuchungen neurologischer Erkrankungen“ eigenständig, d. h. insbesondere selbständig und ohne Hilfe eines kommerziellen Promotionsberaters, angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Ich erkläre außerdem, dass die Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Würzburg, den 21. Juni 2021

---

(Fabian Schadt)

## Affidavit

I hereby confirm that my thesis entitled „ Development and initial validation of an innovative analytical tool for preclinical evaluations of PET radiopharmaceuticals for *in vivo* investigation of neurological disease“ is the result of my own work. I did not receive any help or support from commercial consultants. All sources and / or materials applied are listed and specified in the thesis.

Furthermore, I confirm that this thesis has not yet been submitted as part of another examination process neither in identical nor in similar form.

Wuerzburg, June 21, 2021

---

(Fabian Schadt)

# Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei allen beteiligten Personen, die mich während meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Samuel Samnick für die Bereitstellung des Themas und die Möglichkeit, meine Promotion im Interdisziplinären PET-Zentrum und Radiopharmazie an der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität Würzburg anzufertigen und die hervorragende Betreuung sowie die fortwährende fachliche Diskussionsbereitschaft und die exzellente Unterstützung.

Weiterhin bedanke ich mich bei meinen beiden weiteren Betreuern Herr Prof. Dr. Wolfgang Bauer und Herr Prof. Dr. Peter Jakob für die hervorragende Betreuung, die tollen fachlichen Diskussionen und Ratschläge sowie die großartige Unterstützung.

Im Besonderen danke ich bei meiner Arbeitskollegin Frau Dr. Ina Israel. Ihre Hilfe bei der Einarbeitung im Labor und am Kleintier-PET und ihre Mithilfe bei der Durchführung der Messungen sowie ihre stetige fachliche Diskussionsbereitschaft und Motivation waren eine besonders hervorzuhebende Unterstützung. Weitergehend bedanke ich mich bei allen Arbeitskolleginnen und -kollegen meiner Arbeitsgruppe für die Bereitstellung der benötigten Radiotracer, das tolle Arbeitsklima, die sehr gute Zusammenarbeit und die ausgezeichnete Hilfsbereitschaft. Dazu zählen Frau Dr. Ina Israel, Herr Dr. Philipp Maier, Herr Dr. Andreas Schirbel, Herr Dr. Jan Wenz, Herr Felix Arndt, Herr Bernd Hallmann, Herr Denis Lamparter sowie Frau Bettina Mahren.

Ein besonderer Dank geht auch an den Klinikdirektor der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, Herrn Prof. Dr. Andreas Buck, sowie an alle anderen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik für die gute Zusammenarbeit und das hervorragende Arbeitsklima.

Des Weiteren bedanke ich mich bei allen Kooperationspartnern für deren gute Zusammenarbeit. Besonders hervorzuheben ist dabei die Kooperation mit Frau Dr. Nadine Lilla und Herrn Dr. Felix Fluri.

## Danksagung

---

Ebenfalls geht mein Dank an die Graduate School of Life Sciences (GSLs) der Universität Würzburg, die großartige Rahmenbedingungen für eine strukturierte Promotion bereitgestellt hat.

Für das Korrekturlesen dieser Arbeit bedanke ich mich herzlich bei, Frau Dr. Ina Israel, Herrn Dr. Philipp Maier, Herrn Kilian Neuwert sowie meiner Eltern Gerhard und Christiane Schadt.

Abschließend bedanke ich mich noch herzlich bei meinen Eltern Gerhard und Christiane Schadt, meiner Familie sowie meinen Freunden für den Rückhalt und die unermüdliche Motivation und Unterstützung.