

**Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. Chr. Reiners**

**Entwicklung eines 3D-Ganzkörper-Ultraschalls an Kleintieren für
morphologische Bildgebung, Volumetrie und Bildfusion mit PET**

**Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg**

**vorgelegt von
Kilian Becker
aus Kahl a. Main**

Würzburg, November 2010

Referent: Prof. Dr. rer. nat. M. Laßmann

Koreferent: Prof. Dr. med. M. Beer

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 29.03.2011

Der Promovend ist Arzt.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	Physikalische Grundlagen	1
1.1.1	Ultraschall	1
1.1.2	Positronen-Emissions-Tomographie (PET)	3
1.2	Ultraschall – Klinischer Einsatz	3
1.2.1	2D-Ultraschall	4
1.2.2	3D-Ultraschall	5
1.3	Positronen-Emissions-Tomographie – Klinischer Einsatz	7
1.4	Kleintierbildgebung	8
1.4.1	Morphologische und funktionelle Bildgebung	8
1.4.2	3D-Ultraschall an Kleintieren	9
1.4.2.1	Vor- und Nachteile des 3D-Ultraschalls	9
1.4.2.2	Einsatzmöglichkeiten des 3D-Ultraschalls in der Kleintierbildgebung	10
1.5	Fragestellung und Zielsetzung	11
2	MATERIAL UND METHODEN	12
2.1	Eingesetzte Hard- und Software	12
2.2	Statistische Methoden	14
2.3	Bilddoptimierung am Modell	15
2.3.1	Überlegungen zur Bilddoptimierung	15
2.3.2	Entwicklung eines geeigneten Prüfkörpers	15
2.3.3	Quantifizierung der Auflösung	17
2.3.4	Optimierung der Bildgebung	19
2.3.4.1	Vergleich verschiedener Ultraschall-Geräte	19
2.3.4.2	Betrachtung der verschiedenen Achsen und Schalltiefen	20
2.3.4.3	Validierung und Reproduzierbarkeit	22
2.3.4.4	Variation der Ultraschallparameter	23
2.4	3D-Ultraschall an Kleintieren	25
2.4.1	Voraussetzungen zur Ganzkörper-3D-Bildgebung	25
2.4.2	Entwicklung	25
2.4.3	Evaluation anhand von Volumenberechnungen	29
2.5	Koregistrierung und Bildfusion von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen	30
2.5.1	Voraussetzungen zur Koregistrierung	30
2.5.2	Entwicklung eines kompatiblen Tierhalters für 3D-Ultraschall und PET	30
2.5.3	Halbautomatische Koregistrierung	32
2.5.4	Bildfusion von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen	33
3	ERGEBNISSE	34
3.1	Bilddoptimierung am Modell	34
3.1.1	Fadenphantom	34
3.1.2	Vergleich verschiedener Ultraschall-Geräte	34
3.1.3	Betrachtung der verschiedenen Achsen und Schalltiefen	36
3.1.4	Validierung und Reproduzierbarkeit	37
3.1.5	Variation der Ultraschallparameter	39

3.2	3D-Ultraschall an Kleintieren	43
3.2.1	Etabliertes Protokoll zur Ganzkörper-3D-Bildgebung	43
3.2.2	Evaluation anhand von Volumenberechnungen	44
3.3	Koregistrierung und Bildfusion von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen ...	48
3.3.1	Tierhalter	48
3.3.2	Koregistrierung	51
3.3.3	Bildfusion	53
4	DISKUSSION	58
4.1	Bildoptimierung am Modell	58
4.1.1	Fadenphantom	58
4.1.2	Vergleich verschiedener Ultraschall-Geräte	60
4.1.3	Betrachtung der verschiedenen Achsen und Schalltiefen	60
4.1.4	Validierung und Reproduzierbarkeit	62
4.1.5	Variation der Ultraschallparameter	63
4.2	3D-Ultraschall an Kleintieren	64
4.2.1	Etabliertes Protokoll zur Ganzkörper-3D-Bildgebung	64
4.2.2	Evaluation anhand von Volumenberechnungen	66
4.3	Koregistrierung und Bildfusion von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen ...	68
4.3.1	Tierhalter	68
4.3.2	Koregistrierung	68
4.3.3	Bildfusion	69
4.4	Ausblick	71
5	ZUSAMMENFASSUNG	72
6	LITERATURVERZEICHNIS	75
7	GLOSSAR	79

1 Einleitung

1.1 Physikalische Grundlagen

1.1.1 Ultraschall

Ultraschall wird seit mehr als 50 Jahren in der medizinischen Diagnostik verwendet (Wild and Reid 1952). Ultraschall besteht aus mechanischen longitudinalen Wellen, deren Ausbreitung an Materie gebunden ist. Physikalisch gleich den hörbaren Schallwellen, aber in einem höheren für Menschen akustisch nicht registrierbaren Frequenzbereich, kann man sie als elastische Schwingungen verstehen. Die Frequenz f steht mit der Wellenlänge λ über die Schallgeschwindigkeit c in reziprok proportionalem Zusammenhang:

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad (\text{Gl. 1})$$

Die Geschwindigkeit der Schallwellenausbreitung, wie auch Reflexion und Streuung, hängen stark von der Materie ab, in welcher sich die Wellen fortbewegen.

Durch piezoelektrische Kristalle werden elektrische Impulse in Schallwellen umgewandelt und umgekehrt. Es gibt verschiedene Darstellungsmöglichkeiten des Ultraschalls, im Folgenden soll es nur um die B-Mode-Darstellung gehen, in der Schallreflexionen als Bildpunkte unterschiedlicher Graustufen auf einem Bildschirm dargestellt werden. Die Ultraschallsonde, bestehend aus vielen parallel angeordneten piezoelektrischen Kristallen, ist sowohl Sender als auch Empfänger, sie sendet Schallwellen aus und detektiert die im Gewebe reflektierten Signale in unterschiedlichem zeitlichen Abstand (Echozeit) und unterschiedlicher Intensität (Amplitude). Da die Schallausbreitungsgeschwindigkeit im menschlichen Körper in der einzelnen Geweben mit Ausnahme des Knochens annähernd 1540 Meter pro Sekunde (m/s) beträgt (Hill 1986; Zoller, Gresser et al. 1994), entspricht die Echozeit eines Signals der Bildtiefe. Die Stärke des empfangenen Signals (Amplitude) wird einem bestimmten Grauwert zugeordnet. Signale mit längeren Echozeiten wurden in tieferen, vom Schallkopf weiter entfernten, Bereichen reflektiert und haben durch die größere Streuung und Absorption insgesamt eine niedrigere Amplitude, was durch die Anpassung des Grauwertes (depth gain compensation) ausgeglichen wird. Durch die Vielzahl der parallel angeordneten Kristalle entsteht so ein zweidimensionales Bild, welches ein Schnittbild durch das Gewebe unter dem Schallkopf darstellt.

Bei der Leitung des Schalls ist außerdem die Impedanz Z_F (=akustischer Widerstand) als Maß für die Härte eines Mediums entscheidend. Große Impedanzsprünge führen zu hoher Schallreflexion, so dass Strukturen unterhalb großer Impedanzsprünge nicht mehr dargestellt werden können, da sie vom Ultraschall nicht erreicht werden (Zoller, Gresser et al. 1994).

Die Impedanz Z_F ist direkt proportional der Dichte ρ und der Schallgeschwindigkeit c :

$$Z_F = \rho * c \quad (\text{Gl. 2})$$

Der große Impedanzsprung zwischen zwei Medien ist der Grund für die fehlende Tiefendarstellbarkeit von Knochen und luftgefüllten Hohlorganen. Die Dichte dieser Medien unterscheidet sich deutlich zur Dichte von Weichteilgewebe. Aus Gleichung 2 (Gl. 2) geht hervor, dass die unterschiedliche Dichte dieser Medien mit ihren unterschiedlichen Impedanzen einhergeht. Die Impedanz ist außerdem auch eine komplexe Funktion der Frequenz, womit sich die geringe Eindringtiefe hochfrequenter Schallwellen erklären lässt.

Die räumliche Auflösung oder das räumliche Auflösungsvermögen wird definiert als der kleinste noch wahrnehmbare Abstand zweier Punkte und ist abhängig von der Wellenlänge und damit nach Gleichung 1 (Gl. 1) von der Schallfrequenz. Eine höhere Schallfrequenz ist verbunden mit einer höheren Auflösung, aber auch mit einer größeren Impedanz und einer höheren Absorption und Streuung des Ultraschalls durch stärkere Wechselwirkung mit der Materie, welche zu einer Minderung der Eindringtiefe führen. Bei der Wahl der geeigneten Schallfrequenz ist immer ein Kompromiss zwischen notwendiger Eindringtiefe und möglichst hoher Auflösung zu finden. So wird in der Abdominalsonographie meist eine Frequenz von 3,5 MHz eingesetzt, um eine ausreichende Eindringtiefe zu gewährleisten, in der Schilddrüsen-sonographie haben sich 5 bis 10 MHz etabliert, für Hauttumoren werden auch 20 MHz und mehr eingesetzt.

Bei der Auflösung im Ultraschall muss zwischen axialer und lateraler Orientierung unterschieden werden. Die axiale Auflösung ist allein von der Wellenlänge abhängig, die laterale zusätzlich von der Breite der abgestrahlten Schallkeule, der Bildzeilendichte und dem Fokus. Das laterale Auflösungsvermögen nimmt mit zunehmender Eindringtiefe ab (Reiser, Kuhn et al. 2006).

1.1.2 Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist ein in der klinischen Diagnostik mittlerweile weit verbreitetes Verfahren zur funktionellen Bildgebung. Durch die PET ist es möglich, molekulare Gewebestrukturen (z. B. Oberflächenmoleküle von Zellen) darzustellen und Stoffwechselmechanismen im Gewebe zu quantifizieren, wie z. B. den Glukosestoffwechsel einzelner Organe.

Ein Radiopharmakon, auch Radiotracer genannt, ist ein Molekül mit einem radioaktiven Nuklid. Dieses Nuklid ist instabil und zerfällt unter Abgabe von Energie in einen energieärmeren Zustand. Die PET wird durch den β^+ -Zerfall möglich. Dieser entsteht durch den Zerfall eines Protons in ein Neutron, ein Positron und Elektron-Neutrino, dabei kann das Proton Teil eines Atomkerns sein, wie es beim Zerfall des Nuklids ^{18}F auftritt. Das radioaktive Fluor-Isotop ^{18}F zerfällt unter Abgabe eines Positrons und eines Elektron-Neutrinos in das stabile schwere Sauerstoffisotop ^{18}O . Das abgestrahlte Positron reagiert mit einem Elektron und wird unter Abgabe von Energie vernichtet (Paarvernichtung, Annihilation). Die dabei entstehende Energie (Vernichtungsstrahlung) wird in Form zweier Photonen mit je 511 keV frei, welche bei Vernachlässigung der kinetischen Energie des Positrons in einem Winkel von 180° emittiert werden.

Diese Tatsache macht sich die PET zunutze. Mit Hilfe von Photomultipliern und Szintillationskristallen im Ring des Tomographen werden die mit einer Energie von 511 keV eintreffenden Photonen detektiert. Durch komplexe Verschaltung der Kristalle wird die nahezu gleichzeitige Detektion zweier emittierter Photonen als Koinzidenz registriert. Das Zeitfenster hierfür beträgt 4-15 Nanosekunden. Als Information aus dieser Koinzidenz erhält man eine Koinzidenzlinie (=line of response). Durch aufwendige mathematische Algorithmen kann aus der riesigen Menge der detektierten Koinzidenzen ein dreidimensionaler Datensatz rekonstruiert werden, der Auskunft über Menge und Lage der radioaktiven Zerfälle gibt (Krause, Buck et al. 2007).

1.2 Ultraschall – Klinischer Einsatz

Ultraschall ist in der Medizin als anatomisch-bildgebendes und funktionelles diagnostisches Verfahren fest etabliert. Je nach Anwendungsbereich und maximal geforderter Eindringtiefe werden in der Medizin Ultraschallgeräte zwischen 3,5 MHz z. B. für Abdominalsonographie und 20 bis 40 MHz für dermatologische und ophthalmologische Fragestellungen verwendet

(Daftari, Barash et al. 2001; Serrone, Solivetti et al. 2002). In der Schilddrüsendiagnostik hat sich eine Frequenz von 5 bis 10 MHz durchgesetzt (Knudsen, Bulow et al. 2000; Reiners, Schumm-Draeger et al. 2003; Reiners, Wegscheider et al. 2004). In diesem Bereich wurden auch die in dieser Arbeit behandelten Ultraschalluntersuchungen an Mäusen durchgeführt, die in Größe und Gewicht mit einer Schilddüse vergleichbar sind.

1.2.1 2D-Ultraschall

Der klinische Einsatzbereich des Ultraschalls ist weit und in vielen Fachdisziplinen als diagnostisches Instrument routinemäßig im Einsatz.

Die Vorteile liegen dabei auf der Hand: Ultraschall ermöglicht eine nicht-invasive morphologische und funktionelle Bildgebung. Im Gegensatz zu röntgenologischen Verfahren ist keine Strahlenexposition zur Bildgebung notwendig. Die zur Diagnostik verwendeten Schallwellen haben bis auf eine bei langer Exposition minimale Temperaturerhöhung des beschallten Gewebes keine biologische Wirkung (Curley 1993). Verglichen mit anderen bildgebenden Verfahren ist Ultraschall sehr kostengünstig, fast überall verfügbar und die Akquisition von Bildern ist sehr schnell durchführbar. Außerdem ist der Ultraschall bisher das einzige bildgebende Verfahren, das die Morphologie in Echtzeit abbilden kann.

Nachteile der Sonographie sind die physikalischen Limitationen durch Schallabsorption und Schallreflexion an mit Luft gefüllten Hohlorganen und Knochenstrukturen und die relativ starke Abhängigkeit des Untersuchungsergebnisses vom Untersucher. Die auf die vorliegenden Untersuchungsbedingungen einzustellenden Parameter am Ultraschallgerät haben ebenfalls großen Einfluss auf die Qualität der Untersuchung. Nur ein erfahrener Untersucher kann die technischen Möglichkeiten des Ultraschalls voll ausschöpfen und ein valides Ergebnis ermitteln.

Anhand der Vorteile lässt sich die Verbreitung dieser Untersuchungsmethode nachvollziehen. In der Pädiatrie und Geburtshilfe hat der Ultraschall einen besonderen Stellenwert, da bei diesen Patienten die Vermeidung von Strahlenexposition eine besondere Rolle spielt und dank eines noch geringen Knochenanteils auch Skelettstrukturen gut beurteilt werden können.

Für die funktionelle Bildgebung wird die Echtzeitbildgebung mit 10-20 Bildern pro Sekunde ausgenutzt, z.B. in der Kardiologie zur Beurteilung von Wandbewegungsstörungen des

Herzens. Eine weitere Information über funktionelle Abläufe im Körper liefert der Dopplereffekt. Dieser Effekt bezeichnet die Veränderung der Wellenfrequenz bei einer relativen Bewegung zwischen Sender und Empfänger, im speziellen Fall zwischen Schallkopf und dem Medium, welches den Schall reflektiert. In Gefäßen kann so mittels Dopplerfunktion die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes ermittelt werden und die Funktion des Gefäßes beurteilt werden. Durch die Dopplerfunktion lässt sich auch die Vaskularisierung von Gewebe darstellen, dies ist hilfreich bei der Beurteilung von Organfunktion oder Tumordignität (Donnelly, Geng et al. 2001; Alcazar, Castillo et al. 2003).

In der Schilddrüsendiagnostik ist die Volumetrie mittels Ultraschall fest etabliert, auch als Grundlage zur Dosisberechnung und Verlaufskontrolle bei Radiojodtherapie (Lucas 2000; Reiners and Schneider 2002; van Isselt, de Klerk et al. 2003). So kann mit Hilfe einer angepassten Ellipsoid-Formel nach Brunn et al. das Volumen der Schilddrüse aus zwei orthogonalen Bildschnitten durch jeden Schilddrüsenlappen berechnet werden (Brunn, Block et al. 1981). Zusätzlich kann das Volumen von Knoten bestimmt werden, die Beurteilung der Kontur sowie der Echostruktur erlauben Aussagen zur Dignität von Knoten oder auch zu entzündlich-autoimmunen Prozessen in der Schilddrüse. Schließlich kann durch ultraschallgesteuerte Punktion suspekter Befunde die korrekte Gewinnung des zytologischen Materials aus dem Befund ermöglicht werden (Gerdes, Spuck et al. 1987).

1.2.2 3D-Ultraschall

In den letzten fünfundzwanzig Jahren wurde die Sonographie für den medizinischen Einsatz weiterentwickelt und es gelang die Entwicklung der dreidimensionalen Bildgebung mittels Ultraschall. Brinkley et al. leisteten bereits 1982 Pionierarbeit für die dreidimensionale Ultraschall-Bildgebung (3D-US) (Brinkley, McCallum et al. 1982; Brinkley, Muramatsu et al. 1982).

Heute gibt es für die Erhebung von 3D-US-Datensätzen verschiedene Möglichkeiten, wie spezielle Schallköpfe oder an konventionelle Schallköpfe applizierte Systeme: Bei den 3D-Schallköpfen unterscheidet man sogenannte Matrix-Schallköpfe, bei denen die piezoelektrischen Kristalle in zwei Achsen angeordnet sind und so die dritte Dimension erzeugen, von Schallköpfen mit in einer Reihe angeordneten Kristallen, die sich mit einem Motor über einen bestimmten Winkel bewegen und dabei kontinuierlich B-Bilder generieren („Wobble“-Schallkopf) (Tong, Downey et al. 1996; Fenster and Downey 2000; Fenster, Downey et al. 2001; Acar, Dulac et al. 2005). Vorteil bei den integrierten Systemen ist die

einfache Handhabung, Nachteil das begrenzte Sichtfeld, besonders im Nahfeld des Schallkopfs.

Eine alternative Methode zur Aufnahme eines 3D-Datensatzes ist die konstante Bewegung eines konventionellen Schallkopfs über eine definierte Fläche mit einem Schrittmotor. So ist zu jedem generierten B-Bild die Position des Schallkopfs durch die mechanisch definierte Bewegung festgelegt, es entsteht eine 3D-Matrix (Fenster and Downey 2000; Fenster, Downey et al. 2001).

Eine weitere Möglichkeit ist die Nutzung von Freihand-Systemen mit Sensor und Transmitter. Dabei werden zu jedem B-Bild des Schallkopfs Positionskordinaten und Winkel gespeichert, und daraus eine Volumen-Matrix errechnet. Sensor und Transmitter können mit akustischen, optischen oder elektromagnetischen Systemen arbeiten. Das für die folgenden Untersuchungen verwendete System mit Magnetfeld-Positionssensor findet seit etwa 15 Jahren Anwendung in der Medizin (Detmer, Bashein et al. 1994).

Auch 3D-US wird heute als Ergänzung zum konventionellen Ultraschall in vielen Bereichen eingesetzt. In der Geburtshilfe ist die Methode fest etabliert (Hull and Pretorius 1998; Hata, Kanenishi et al. 2005; Hata, Kanenishi et al. 2006), aber auch in der Schilddrüsenbildgebung (Schlögl, Werner et al. 2001; Lyshchik, Drozd et al. 2004; Lyshchik, Drozd et al. 2004; Andermann, Schlögl et al. 2007), bei Vermessung von arteriosklerotischen Plaques und der Prostatabildgebung wird der 3D-US zunehmend eingesetzt (Crivianu-Gaita, Miclea et al. 1997; Fenster, Landry et al. 2004; Fenster, Blake et al. 2006).

Die Nutzung des Dopplereffekts eröffnet weitere Möglichkeiten, so kann die Tumolvaskularisation auch anhand eines 3D-Datensatzes beurteilt werden (Ohishi, Hirai et al. 1998). Besonders interessant ist der intraoperative Einsatz von 3D-US bei Brustkrebs und in der Neurochirurgie: die Daten werden mit CT- oder MRT-Datensätzen koregistriert, dadurch ist die intraoperative Navigation und der Vergleich des OP-Situs mit den koregistrierten CT- oder MRT-Daten möglich (Tamaki, Sato et al. 1999; Rasmussen, Lindseth et al. 2007).

Neben den verschiedensten klinischen Anwendungen wurden die 3D-US-Systeme an „In-vitro-Modellen“ und in Postmortem-Studien evaluiert und die Überlegenheit vor allem in der Volumetrie gegenüber dem 2D-Ultraschall gezeigt (Berg, Torp et al. 2000; Partik, Stadler et al. 2002; Schlögl, Andermann et al. 2006; Andermann, Schlögl et al. 2007).

1.3 Positronen-Emissions-Tomographie – Klinischer Einsatz

Die PET-Untersuchung gehört mittlerweile bei vielen onkologischen Erkrankungen wie Bronchialkarzinom, kolorektalem Karzinom und Lymphom zum primären Staging oder Restaging mit der Frage nach Lymphknoten- oder Fernmetastasen (Facey, Bradbury et al. 2007). Die besonderen diagnostischen Möglichkeiten der PET ergeben sich aus den Eigenschaften von Tumorzellen. Diese haben typischerweise einen erhöhten Verbrauch von Glukose. Das durch das radioaktive Isotop Fluor-18 veränderte Glukosemolekül (FDG) wird bei annähernd gleichen chemischen Eigenschaften analog zu Glukose in die Zelle aufgenommen, kann aber nach der Phosphorylierung nicht weiter verstoffwechselt werden.

Das in den stoffwechselaktiven Zellen angereicherte FDG kann durch seinen radioaktiven Zerfall detektiert werden und erlaubt damit Rückschlüsse auf den Glukoseumsatz. Durch Bestimmung des SUV (standardized uptake value) wird die FDG-Speicherung einer bestimmten markierten Region (ROI) auf Nuklidzerfall, verabreichte Aktivität und Patientengewicht normiert. Ein verstärkte FDG-Speicherung (hoher SUV) spricht eher für einen malignen Prozess.

Ein weiteres Radiopharmakon für PET-Untersuchungen ist [18F]-Fluorethylcholin (FEC). Cholin ist ein Bestandteil der Phospholipide, die zum Aufbau Zellmembran notwendig sind, und reichert sich daher in stark proliferierenden Geweben und auch der Leber an. FEC kommt in der Diagnostik von Prostata Tumoren zum Einsatz (Hara, Kosaka et al. 2002).

Parallel zur PET mittels FDG oder FEC als Radiopharmakon gibt es auch Moleküle, die ganz spezifische Eigenschaften von Tumoren ausnutzen, so z. B. ⁶⁸Ga-DOTATOC, welches spezifisch an Somatostatin-Rezeptoren bindet, die von vielen neuroendokrinen Tumoren an der Zelloberfläche exprimiert werden (Krause, Buck et al. 2007).

Neben dem Einsatz in der Onkologie wird die PET auch bei neurologischen Krankheitsbildern zur Differenzierung und Diagnostik von Basalganglienerkrankungen, Demenzen und Epilepsie eingesetzt (Tai and Piccini 2004).

1.4 Kleintierbildgebung

1.4.1 Morphologische und funktionelle Bildgebung

Nuklearmedizinische Methoden wie Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) erlauben die nicht-invasive Darstellung von Metabolismus und Rezeptorbesatz im Gewebe zur Untersuchung physiologischer und pathologischer Vorgänge im Organismus. Da diese Methoden nur über eine limitierte örtliche Auflösung verfügen, ist die Kombination mit hochauflösenden bildgebenden Verfahren sinnvoll, um anatomische Informationen zu erhalten und den diagnostischen Wert zu erhöhen (Keidar, Haim et al. 2004). Dies gilt nicht nur für den klinischen Alltag sondern auch für den präklinischen Einsatz bei Tiermodellen.

Zur morphologischen Bildgebung an Kleintieren stehen Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT) und auch (3D-)Ultraschall zu Verfügung, SPECT und speziell für Kleintierbildgebung entwickelte PET-Geräte ermöglichen ergänzend dazu „In-vivo Molecular Imaging“.

Für die Koregistrierung von CT mit Kleintier-PET existieren bereits Koregistrierungs-algorithmen, auch kommerzielle Kombinationsgeräte sind mittlerweile verfügbar (Chow, Rannou et al. 2005; Jan, Chuang et al. 2005; Liang, Yang et al. 2007). Vorteile einer solchen Koregistrierung sind die bessere Lokalisation von im PET oder SPECT auffälligen Nuklidanreicherungen und damit die Steigerung der diagnostischen Aussagekraft, zusätzliche morphologische Informationen und die mögliche Berechnung der Schwächungskorrektur für PET und SPECT.

Die Schwächungskorrektur erlaubt eine Berechnung der tatsächlich emittierten Strahlung einer Region of Interest (ROI) aus den Werten der detektierten Strahlung unter Kenntnis der den Ort des Nuklidzerfalls (ROI) umgebenden Gewebe. Weil röntgendichtere Strukturen emittierte Photonen stärker abschwächen und die Laufstrecken der Photonen durch Gewebe unterschiedlich lang sind, wodurch mehr Interaktionen möglich sind und damit die Schwächung der Photonen größer ist, führt dies zu einer Verminderung der detektierten Counts in Abhängigkeit vom Emissionsort. Daher ist eine solche Schwächungskorrektur bei vielen Fragestellungen notwendig.

1.4.2 3D-Ultraschall an Kleintieren

Neben CT und MRT ermöglicht auch der Ultraschall die Erhebung morphologischer Daten. Durch 3D-Ultraschall kann man ebenfalls 3-dimensionale Datensätze generieren, die mit nuklearmedizinischen Bildmodalitäten koregistriert werden könnten. Bisher gibt es noch keinen zu CT oder MRT analogen Ganzkörper-3D-Ultraschall an Mäusen. Die Etablierung eines solchen Verfahrens wäre wünschenswert und eine gute Ergänzung in der multimodalen Kleintierbildgebung.

1.4.2.1 Vor- und Nachteile des 3D-Ultraschalls

Der 3D-Ultraschall verfügt über eine Reihe von Vorteilen in der nicht-invasiven morphologischen Bildgebung. Bei Ultraschalluntersuchungen sind im Gegensatz zu röntgenologischen Verfahren keine ionisierenden Strahlen zur Bildgebung notwendig, was besonders bei longitudinalen Studien in Tumormodellen von großem Interesse ist, da eine hohe Strahlenexposition bei häufigen Messungen das Tumorstadium beeinflussen kann. So kommt es zum Beispiel bei einem Kleintier-CT an der Maus zu einer Exposition von ca. 75 mGy, abhängig von der erwünschten Auflösung (Boone, Velazquez et al. 2004; Figueroa, Winkelmann et al. 2008).

Zudem ermöglicht die kurze Akquisitionszeit der Daten eine kürzere Anästhesie mit geringerer Belastung für die Tiere. Weitere Vorteile des Ultraschalls sind die gute Verfügbarkeit und die relativ geringen Kosten im Vergleich zu CT und MRT. Ultraschallgeräte sind frei beweglich, können leicht in das PET-Labor integriert werden und ermöglichen somit einen effizienteren Versuchsablauf.

Im Vergleich zur B-Bild-Sonographie ist die 3D-Bildgebung geringer vom Untersucher abhängig, ermöglicht außerdem die Speicherung eines ganzen Volumendatensatzes mit Möglichkeit zur Nachverarbeitung, Vergleich zu Voruntersuchungen - von besonderem Interesse bei Verlaufskontrollen - und die Bildfusion der 3D-Daten mit PET- und SPECT-Datensätzen (Fenster, Downey et al. 2001).

Nachteile des 3D-US sind die physikalischen Grenzen des Ultraschalls: Die Bestimmung von Dichtewerten für die Schwächungskorrektur bei PET und SPECT ist nicht möglich, außerdem gibt es durch hohe Impedanzsprünge an Übergängen zwischen Weichteilgewebe und Knochen oder gasgefüllten Hohlorganen starke Schallreflexionen, wodurch tiefer liegende Strukturen nicht mehr dargestellt werden können.

Ein weiteres, speziell bei der Kleintierbildgebung bestehendes Problem, ist die Schallankopplung: Aufgrund des Fells der Tiere, welches durch Lufteinschlüsse zu starker Reflexion der Schallwellen führt, und der für einen 7,5 MHz-Standardschallkopf zu feinen Körperkontur ist der Übergang der Schallwellen vom Schallkopf in das Gewebe schwierig.

1.4.2.2 Einsatzmöglichkeiten des 3D-Ultraschalls in der Kleintierbildgebung

3D-Ultraschall ist in der Kleintierbildgebung bereits weit verbreitet, da er sich hervorragend zur Darstellung der Morphologie eignet. Mittels hochauflösenden Systemen können auch feinste Strukturen wie die murine Prostata und murine Lebermetastasen dargestellt werden. Die 3D-Volumetrie wurde anhand histologischer Aufarbeitung validiert (Wirtzfeld, Wu et al. 2005; Wirtzfeld, Graham et al. 2006). Die Untersuchung ist im Vergleich zu CT und MRT schnell und kostengünstig durchführbar, was die praktische Anwendbarkeit in longitudinalen Studien noch verstärkt.

Bei der Tumorthherapie wird die Effektivität von Chemotherapien unter anderem beurteilt, in dem das Tumolvolumen im Verlauf bestimmt wird, Wachstumskurven erstellt werden und damit gute Aussagen über Progress oder Remission getroffen werden können (Therasse, Arbuck et al. 2000). Die Bildgebung hat auch bei präklinischen Tumormodellen eine entscheidende Rolle in der Beurteilung des Ansprechens von Antitumorthérapien (Weissleder 2002). Der Nutzen des 3D-US zur nichtinvasiven Verlaufsbeobachtung in Tumormodellen wurde bereits gezeigt (Graham, Wirtzfeld et al. 2005).

Neben den bereits erwähnten Arbeiten über die Koregistrierung von PET- und CT-Datensätzen zur Steigerung der diagnostischen Aussagekraft gibt es auch erste Ansätze zur 3D-Bildfusion von Ultraschall und PET. Liao et al. haben bereits erste Ergebnisse publiziert. Hierbei kam ein 45 MHz-Hochfrequenz-Ultraschall zum Einsatz und es wurden nur gezielte Ausschnitte des Ganzkörpers geschallt. Bei der Bildfusion kamen Glasperlen als „fiducial markers“ zum Einsatz (Liao, Li et al. 2005; Liao, Chen et al. 2007; Liao, Hwang et al. 2007). Lang et al. zeigten auch schon die Machbarkeit der Teilkörper-Bildfusion von 3D-US und PET, ausführliche Ergebnisse dazu stehen noch aus (Lang, Hermann et al. 2007).

1.5 Fragestellung und Zielsetzung

Für die vorliegende Arbeit stellten sich auf Grundlage der bisher publizierten Arbeiten im Bereich Kleintierbildgebung mit 3D-Ultraschall folgende Fragen:

- Ist der 3D-US mittels in der Klinik verwendeter Ultraschallgeräte und Schallköpfe geeignet für die Ganzkörper-Kleintierbildgebung?
- Sind die gewonnenen Ultraschall-Datensätze geeignet zur Bildfusion mit nuklearmedizinischen Datensätzen des Kleintier-PET?

Aus diesen Fragestellungen heraus konnten für die vorliegende Arbeit vier Ziele formuliert werden, die teilweise parallel erarbeitet wurden:

- (1) Die 3D-Bildgebung sollte mit Hilfe quantifizierbarer Qualitätskriterien optimiert werden,
- (2) ein Verfahren mit standardisiertem Aufnahme- und Auswerteprotokoll zum Ganzkörper-3D-Ultraschall sollte etabliert und validiert werden,
- (3) ein für beide Aufnahmemodalitäten – 3D-US und PET – kompatibler Tierhalter musste entwickelt werden,
- (4) die Bildfusion der Ultraschall-Daten mit den im gleichen Versuchsaufbau gewonnenen nuklearmedizinischen Datensätzen des Kleintier-PET sollte realisiert werden.

2 Material und Methoden

2.1 Eingesetzte Hard- und Software

Für die Ultraschalluntersuchungen standen drei verschiedene Geräte der klinischen Routine zu Verfügung: Siemens Sonoline Elegra[®], Siemens Sonoline G 50[®] (Siemens AG, Healthcare Sector, Erlangen) und SonoSite Titan[®] (SonoSite GmbH, Erlangen) jeweils mit 7,5 MHz-Linearscanner. Abb. 2.1 zeigt zwei der verwendeten Ultraschallgeräte und den eingesetzten handelsüblichen PC mit der Software für 3D-Datenaquisition.

Zur Realisierung der 3D-Aufnahmen wurde das kommerziell verfügbare 3D-System Freescan[®] (EchoTech 3D Imaging Systems GmbH, Hallbergmoos) bestehend aus elektromagnetischem Sensor-Transmitter-System, Framegrabber zur Digitalisierung der B-Bilddaten und einer 3D-Verarbeitungssoftware verwendet. Dieses System wurde bereits in früheren Arbeiten zur Schilddrüsenvolumetrie evaluiert und hat seine Tauglichkeit bewiesen. (Schlögl, Werner et al. 2001; Schlögl, Andermann et al. 2006) Der Transmitter mit Reichweite von ca. 50 cm wird neben dem zu untersuchenden Bereich bzw. neben dem Versuchsaufbau positioniert und der Sensor mittels Clip am Schallkopf starr befestigt. Um die Lage des Sensors in Relation zum Schallkopf zu bestimmen, muss das System für jeden zur 3D-Akquisition verwendeten Schallkopf einmalig geeicht werden.

Abb.2.2 zeigt schematisch das Prinzip der 3D-Datenerfassung. Die B-Bilddaten werden als VHS-Videosignal über einen Framegrabber digitalisiert und in das Software-Programm gespielt. Das Sensor-Transmitter-System registriert Position und Orientierung des Schallkopfs, so dass für jedes Bild, das auf den Rechner übertragen wird, Ort und Lage im Feld des Transmitters bekannt sind. Dabei kann der Schallkopf frei geführt werden. Im nächsten Schritt werden die Daten von der Software ausgewertet. Vor Verarbeitung der B-Bilddaten in die Matrix muss bei jeder Aufnahme auf dem digitalen B-Bild die Länge einer definierten Strecke angegeben werden, um anschließend Längen- und Volumenbestimmungen korrekt ausführen zu können.

Es wird ein 3D-Datensatz erzeugt, indem die zweidimensionalen Informationen der Ultraschallbilder in eine reguläre Voxel-Matrix konvertiert werden. Mehrfach erfasste Punkte werden gemittelt, nicht erfasste interpoliert. Die Abmessung des entstehenden Quaders resultiert aus der gescannten Fläche und der festgelegten Eindringtiefe.

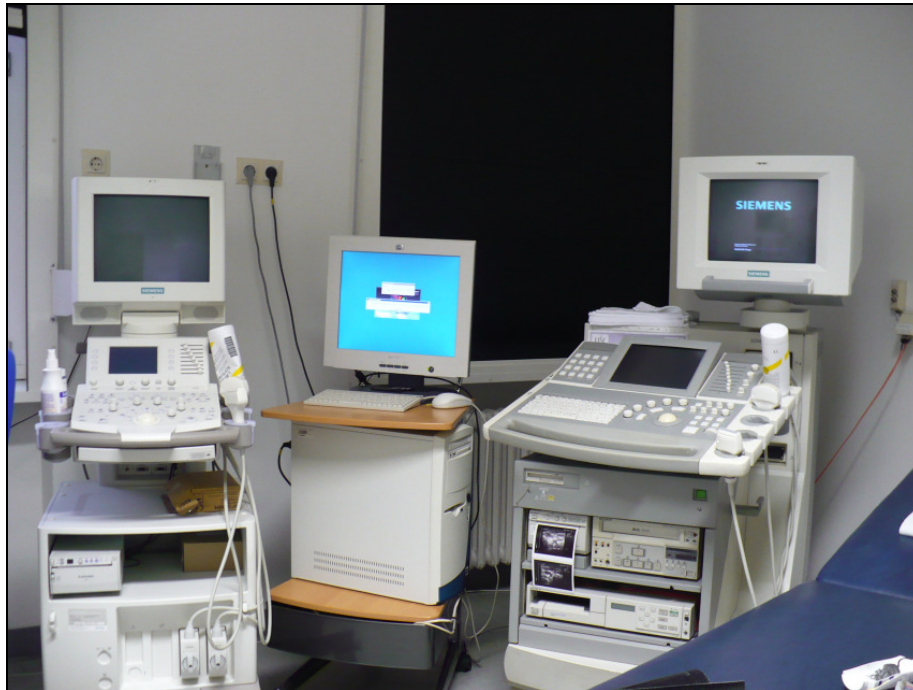


Abb. 2.1: Eingesetzte Hardware im Versuchslabor (Siemens Sonoline G50[®], Windows Rechner mit 3D-Software Freescan[®] Echotech, Siemens Sonoline Elegra[®])

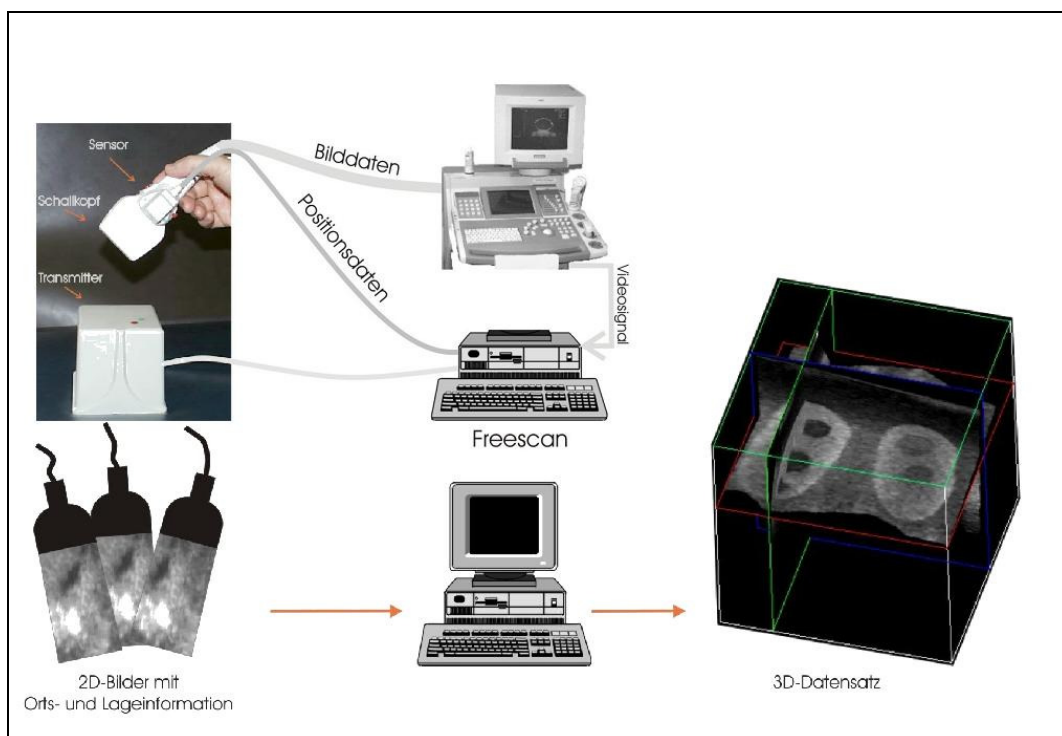


Abb. 2.2: Prinzip der 3D-Datenerfassung (mit freundlicher Genehmigung von S. Schlögl, Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, Universität Würzburg)

Für die Berechnung von Volumina stehen zwei verschiedene Methoden zu Verfügung, Segmentierung und multiplanare Volumenapproximation (MVA). Beide Methoden wurden bereits von Schlögl et al. validiert (Schlögl, Werner et al. 2001; Schlögl, Andermann et al. 2006).

Für die PET-Aufnahmen wurde das dedizierte Kleintier-PET Inveon[®] (Siemens AG, Healthcare Sector, Erlangen) eingesetzt. Als Radiotracer kamen [¹⁸F]-Fluordesoxyglukose und [¹⁸F]-Fluorethylcholin unter Verwendung standardisierter Untersuchungsprotokolle zur Anwendung.

Die Bildfusion wurde mit der frei verfügbaren Software AMIDE (<http://amide.sourceforge.net>) realisiert (Loening and Gambhir 2003). Hierzu wurden die 3D-US-Datensätze im DICOM-Format (Digital Imaging and Communications in Medicine) eingelesen, PET-Datensätze als IMG-Datei (Image-Datei).

2.2 Statistische Methoden

Für die statistische Auswertung wurde bei allen Messwerten eine Gauß'sche Normalverteilung angenommen. Es wurden Mittelwert (MW), Standardabweichung (STABW), Variationskoeffizient (VarK), Korrelationskoeffizient (r) und Konfidenzintervall (CI) berechnet.

Zur mathematischen Signifikanzprüfung wurde der t-Test für zwei unabhängige Stichproben verwendet. Unter der Annahme zweier unabhängiger normalverteilter Stichproben dient der t-Test zur Überprüfung einer aufgestellten Hypothese und erlaubt eine Aussage zur Signifikanz der ermittelten Daten. Der berechnete Signifikanzwert p (=Irrtumswahrscheinlichkeit) gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein Ergebnis durch Zufall entstanden ist. Eine Signifikanz wurde für $p < 0,05$ angenommen.

Zur graphischen Auswertung der Volumenberechnungen mittels 3D-US wurde der Bland-Altman-Plot verwendet. Die graphische Darstellung in dieser Form dient dem Vergleich einer neuen Messmethode mit dem Goldstandard, wobei die Differenzen der Messwerte gegen die Messwerte des Goldstandards aufgetragen werden (Bland and Altman 1986). Es lassen sich systematische Messfehler und Streubreiten der Differenzen in Abhängigkeit von der Messgröße erkennen.

2.3 Bildoptimierung am Modell

2.3.1 Überlegungen zur Bildoptimierung

Erstes Ziel der Studie sollte die Bildoptimierung sein. Dafür war es notwendig, einen Prüfkörper zu entwickeln, um die Auflösung als quantitatives Maß für die Qualität verschiedener Ultraschallgeräte und verschiedener Einstellungsparameter an den Geräten und an der 3D-Software beurteilen zu können.

Da die Auflösung im 3D-Ultraschall nicht in allen Dimensionen die gleiche Qualität hat, sind die verschiedenen Achsen bei der Bestimmung der Auflösung zu unterscheiden. Abb. 2.3 zeigt schematisch die Achsen in einem dreidimensionalen Datensatz. Zusätzlich zu den zwei Achsen – die laterale Achse x und axiale Achse y definieren das Schnittbild – in der konventionellen B-Bild-Sonographie hat der 3D-US eine dritte Achse (z -Achse), welche im rechten Winkel zum B-Bild in Richtung der Schallkopfbewegung orientiert ist.

In den drei Achsen sind unterschiedliche Kriterien für die Auflösung entscheidend. Die Auflösung in der y -Achse, welche parallel zur Schallausbreitung läuft, wird maßgeblich durch die Wellenlänge des Ultraschalls bestimmt. Für die x -Achse spielt neben der Wellenlänge die Breite des Schallkegels eine entscheidende Rolle, dieser wird durch Fokus und Zeilendichte beeinflusst. Bei der z -Achse ist außerdem noch das Sampling der B-Bilder entscheidend, also der Menge der Bilder, die pro Sekunde digitalisiert werden und in den 3D-Datensatz einfließen.

Unterschiedliche Abstände zwischen Schallkopf und Objekt haben ebenfalls einen Einfluss auf die Auflösung, da durch geringere Schallreflexion und größere Streuung der Schallwellen bei längerer Laufstrecke die Amplitude niedriger ist. Außerdem nimmt die Breite der Schallkegels mit der Entfernung zum Sender zu. Aufgrund dieser Überlegungen müssen folgende Anforderungen an das Phantom gestellt werden: Eine Beurteilung der Auflösung in den drei Achsen des Raumes und auch in verschiedenen Abständen zum Schallkopf sollte möglich sein, um diese Parameter unabhängig voneinander zu erfassen.

2.3.2 Entwicklung eines geeigneten Prüfkörpers

Für das Vorhaben wurde ein speziell für den 3D-Ultraschall einsetzbares, und auf die Fragestellung angepasstes Phantom entwickelt, welches die objektive Beurteilung der Qualität, respektive der Auflösung, ermöglicht.

Zu diesem Zweck wurde ein Fadenphantom mit Fäden in verschiedenen Achsen und Tiefen entworfen. Das in der Abb. 2.4 dargestellte Phantom besteht aus einem Plexiglas-Gerüst an dem die Fäden in zwei zueinander orthogonalen Achsen mit je einem Zentimeter Abstand angeordnet sind. Als Fadenmaterial wurde der chirurgische Faden Vicryl® 2-0 (Johnson & Johnson MEDICAL GmbH, Norderstedt) mit einer werkseitig angegebenen Fadendicke im Toleranzbereich von 0,3 – 0,35 mm verwendet. Die Abstände der Fäden zum Schallkopf, der in den Versuchen immer in einem fest definierten Abstand das Phantom absannte, waren 14 mm, 24 mm und 34 mm. Diese Abstände orientierten sich an dem Abstandsbereich, innerhalb dessen auch die späteren Untersuchungen an Kleintieren durchgeführt werden sollten.

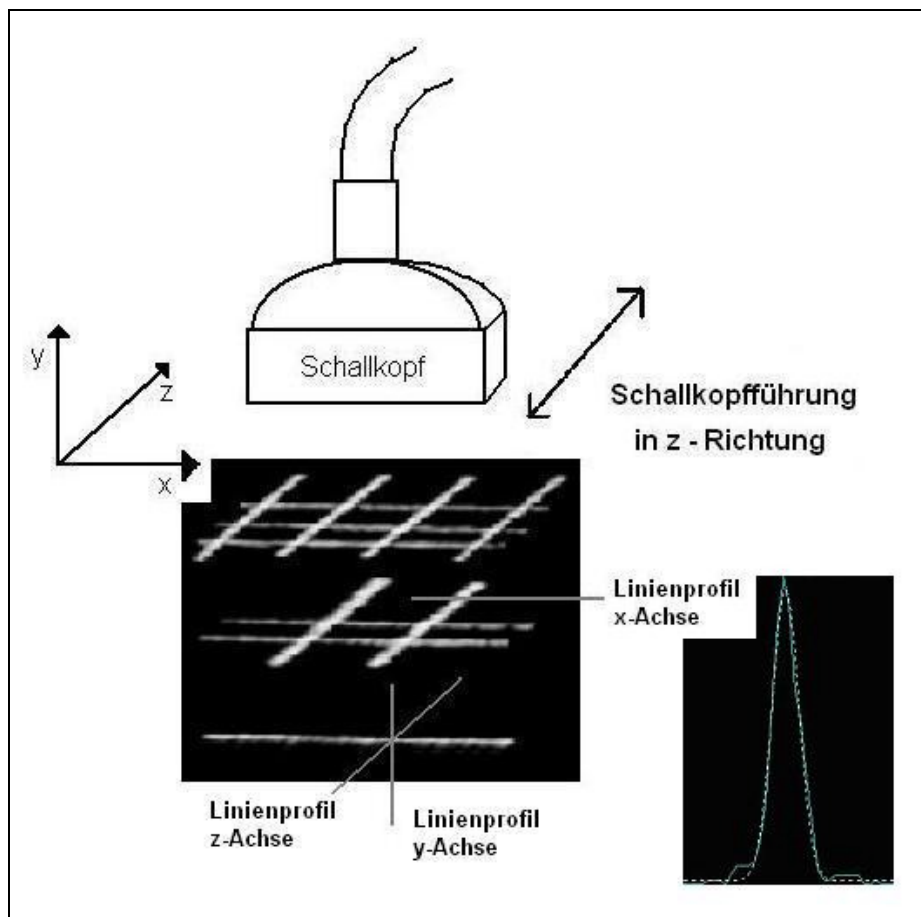


Abb. 2.3: Schallkopfführung und Orientierung der verschiedenen Achsen am Fadenphantom

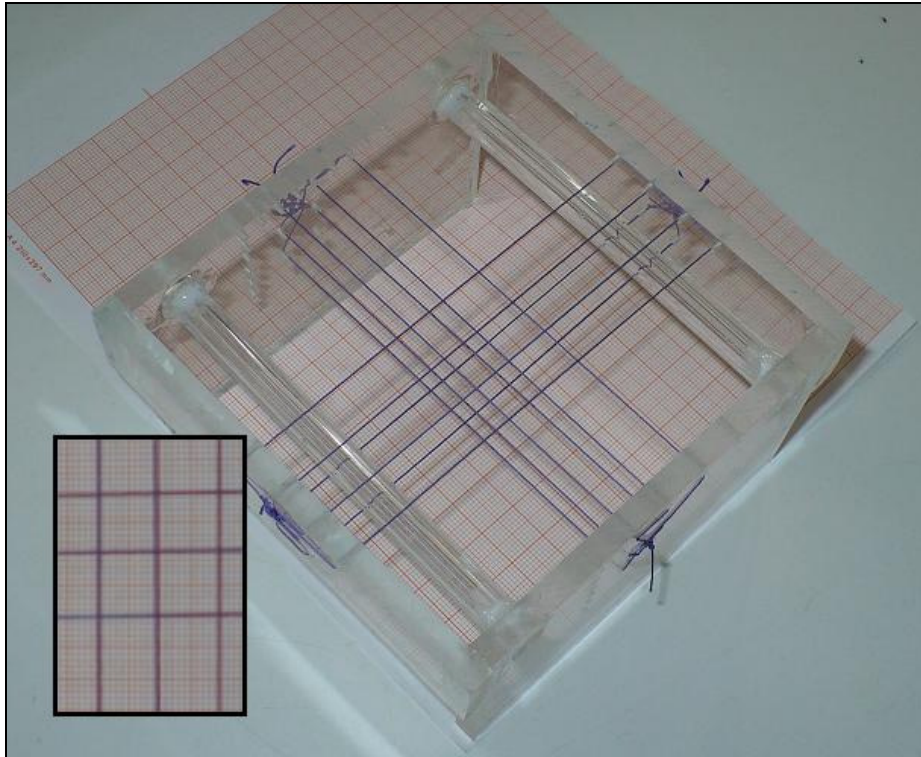


Abb. 2.4: Fadenphantom, Abstände der Fäden jeweils 10 mm

Das Phantom sollte eine bessere Aussage über die Bildqualität im Vergleich zu Volumenmodellen ermöglichen. Volumenmodelle sind Prüfkörper mit bekanntem Volumen, zum Beispiel mit Salzwasser gefüllte und im Wasserbecken liegende Ballons. Die Volumina dieser Prüfkörper sind durch die Wasserverdrängung (Submersionsmethode) bestimmt worden und können mit den mittels 3D-US berechneten Volumina verglichen werden. Volumenmodelle haben meist einfache Objektformen und klar definierte Impedanzunterschiede und liefern daher bei Volumenberechnungen aus 3D-US-Datensätzen hervorragende Ergebnisse, die bei in-vivo Organuntersuchungen durch schlechtere Abgrenzbarkeit und komplexere Formen nicht erreicht werden können.

Anhand des entwickelten Phantoms sollten auch mögliche technische Schwächen und Grenzen des 3D-US aufgedeckt werden.

2.3.3 Quantifizierung der Auflösung

Zur quantifizierbaren Beurteilung der Auflösung musste ein geeignetes Kriterium herangezogen werden. Analog zur Bestimmung der Systemauflösung bei PET und SPECT mittels Halbwertsbreite (FWHM) anhand von Linienquellen wurde die Halbwertsbreite der Fadensignale bestimmt (Krause, Buck et al. 2007). Hierzu wurden durch die Querschnitte

der einzelnen Fäden des Phantoms Linienprofile gelegt. Linienprofile ordnen einer im Datensatz markierten Geraden x die zugehörige Signalintensität y zu. Abb. 2.5 zeigt ein solches Linienprofil, dessen Lage durch den Fadenquerschnitt aus Abb. 2.3 hervorgeht. Die Bestimmung der Halbwertsbreite (FWHM) des Fadensignals als Maß für die Ortsauflösung im 3D-US ist bereits bekannt (Tong, Downey et al. 1996). Die Halbwertsbreite ist die Differenz zwischen den Werten x_1 und x_2 , an denen eine Funktion $f(x)$ auf die Hälfte des Maximums abgesunken ist:

$$f(x_1) = f(x_2) = \frac{1}{2} f(x_{\max})$$

$$FWHM = |x_1 - x_2|$$

(Gl. 3)

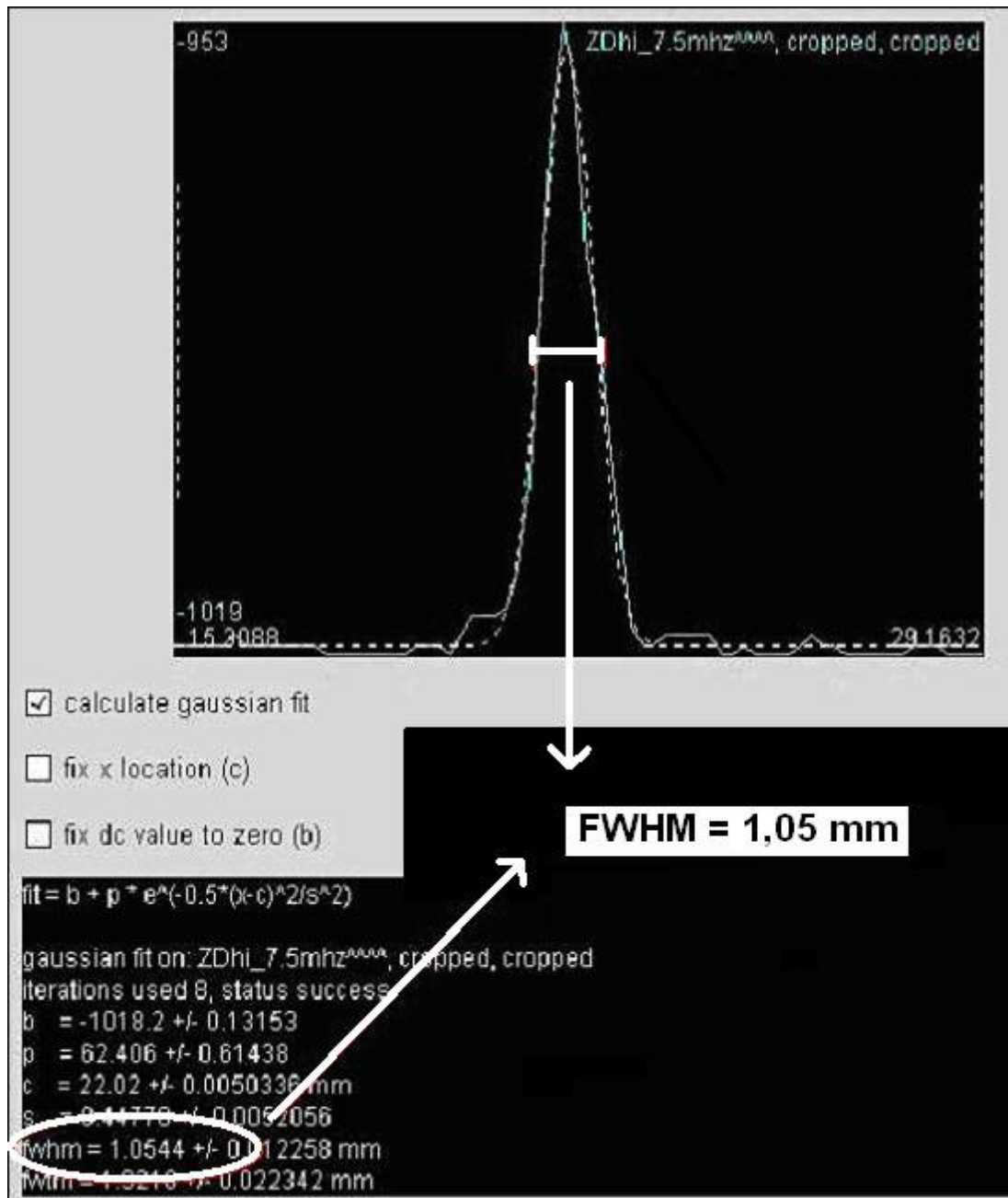


Abb. 2.5: Die Halbwertsbreite eines Linienprofils der Signalintensität durch den Fadenquerschnitt wird als Maß für die Auflösung verwendet

2.3.4 Optimierung der Bildgebung

2.3.4.1 Vergleich verschiedener Ultraschall-Geräte

Mit Hilfe des entwickelten Phantoms wurden die zu Verfügung stehenden Geräte in einem Vorversuch evaluiert. Hierzu wurden Aufnahmen mit unterschiedlichsten Einstellungen durchgeführt. Für die Ultraschalluntersuchungen standen drei verschiedene Geräte der klinischen Routine zu Verfügung: Siemens Sonoline Elegra[®], Siemens Sonoline G 50[®]

(Siemens AG, Healthcare Sector, Erlangen) und SonoSite Titan[®] (SonoSite GmbH, Erlangen) jeweils mit 7,5 MHz-Linearscanner. Nach visueller Beurteilung der Aufnahmen sollte das für die Fragestellungen am besten geeignete Gerät in den folgenden Versuchen genauer untersucht werden. Hierbei sollten die Einstellungen am Ultraschallgerät und an der 3D-Software variiert und mit Hilfe von Linienprofilen im Fadenquerschnitt die Halbwertsbreiten (FWHM) als Maß für die Auflösung in den drei Achsen und verschiedenen Bildtiefen bestimmt und verglichen werden.

2.3.4.2 Betrachtung der verschiedenen Achsen und Schalltiefen

Die am Ultraschallgerät möglichen Einstellungen der Parameter können aus Tab. 2.1 entnommen werden. Es wurden drei verschiedene Messreihen (Versuch 1 – 3) zur Optimierung der Bildgebung durchgeführt. Ein Teil der Parameter wurde während aller Versuche konstant eingestellt, da eine Veränderung derselben entweder mehr der Nachbearbeitung für das B-Bild dient und die Rohdaten damit verfälscht würden oder andere Einstellungen dieser Parameter für den 3D-Ultraschall absolut kontraindiziert sind: Die Tiefenverstärkung (depth gain compensation, DGC) wurde ausgeschaltet, da Wasser die Schallwellen bei den vorliegenden kurzen Distanzen nahezu verlustfrei leitet und deshalb tiefere Signale kaum geschwächt werden. Auch die Bildpersistenz, die auf dem Bildschirm im B-Mode die unmittelbar vorherigen Bilder mit dem aktuellen Bild zu 25-75 Prozent mischt, wurde ausgeschaltet, da jedes Bild mit den exakten Positionsdaten in der Volumenmatrix angeordnet wird. Aus Tab. 2.1 lässt sich nochmals entnehmen, warum der eingestellte Parameter nicht variiert wurde.

Im Vergleich der Ultraschall-Geräte (Kapitel 2.3.4.1) hatte sich Sonoline G 50[®] als die beste Wahl für 3D-US erwiesen, weshalb die folgenden Versuche mit diesem Gerät durchgeführt wurden.

Im ersten Versuch (Versuch 1) wurde die Auflösung in Abhängigkeit von Achse und Schalltiefe untersucht. Dabei wurden die in den folgenden Versuchen variierten Parameter in der Standardeinstellung des Geräts belassen. Diese Einstellungen für Vers. 1 lassen sich aus Tab. 2.2 entnehmen.

Folgende Parameter am Ultraschallgerät wurden bei allen Versuche konstant eingestellt:	
<u>Parameter</u>	<u>Erklärung</u>
Grauskala = B	Standardeinstellung, B-Bild Helligkeit linear zur Signalamplitude
DGC-Regler = 0	Keine Impedanzsprünge im Wasser
Dynamikbereich (DB) = 65/70	Streuung der Grauwerte über alle Amplitudenhöhen, keine Schwellenwerte (threshold) für die Zuordnung weiß / schwarz
Persistenz = 0	Da der Schallkopf während der 3D-Aufnahmen bewegt wird, soll nur das aktuelle Schallsignal in die B-Bild-Darstellung einfließen
Kontur = 2	Standardeinstellung
B-Verstärkung = 10dB	Gute optische Beurteilung der Ultraschallbilder vom Fadenphantom möglich
Bildtiefe = 40 mm	Bei maximaler Fadentiefe von 34 mm optimale Bildschirmdarstellung
Folgende Parameter am Ultraschallgerät und bei der digitaler Verarbeitung wurden bei den verschiedenen Versuchen variiert:	
<u>Parameter</u>	<u>Fragestellung</u>
Bildfrequenz des Framegrabbers (FPS)	Einfluss des Samplings auf die Auflösung, besonders in der z-Achse
Zeilendichte (ZD) / Bildfrequenz	Einfluss der Zeilendichte (standard / high) auf die Auflösung, besonders in der x-Achse / Bildfrequenz im B-Bild (14Hz/26Hz): aus technischen Gründen abhängig von der Zeilendichte (hohe Zeilendichte = geringe Bildfrequenz)
Fokus	Einfluss auf die Auflösung in verschiedenen Bildtiefen
Scangeschwindigkeit (v)	Entstehung von Artefakten, Einfluss auf die Auflösung
Frequenz des Ultraschalls (f)	Einfluss der Schallfrequenz auf die Auflösung
Folgende unterschiedliche Bedingungen in den 3D-Datensätzen wurden untersucht:	
<u>Parameter</u>	<u>Fragestellung</u>
Schalltiefe (Abstand des Schallobjekts zum Schallkopf)	Einfluss des Abstandes zwischen Prüfkörper (Faden) und Schallkopf auf die Auflösung
Achsen	Unterschiedliche Auflösung in den drei zueinander orthogonale Achsen x, y und z

Tab. 2.1: Konstante und variierte Parameter bei den Versuchen am Fadenphantom; unterschiedliche Bedingungen

Es wurden sechs voneinander unabhängige Aufnahmen (Studie 1 – 6) durchgeführt, dabei wurden alle Parameter jeweils gleich eingestellt. In jeder Aufnahme wurden in den drei verschiedenen Fadentiefen für jede Achse Linienprofile im Durchmesser des Fadenquerschnitts erstellt. Dazu wurden an jedem Faden in der gleichen Achse jeweils 6 Linienprofile manuell festgelegt, deren Halbwertsbreiten (FWHM) berechnet und anhand dieser Daten Mittelwert und Standardabweichung bestimmt. Wir erhielten je Scan neun Mittelwerte mit Standardabweichung.

<u>Parameter</u>	<u>Wert</u>
<u>Versuch 1:</u>	
Untersuchung der Auflösung in verschiedenen Achsen und unterschiedlichen Schalltiefen	
(Alle Parameter wurden während der sechs unabhängigen Aufnahmen (n=6) konstant eingestellt, jeder FWHM-Wert einer 3D-Aufnahme besteht aus dem Mittelwert von sechs Linienprofilen)	
Bildfrequenz des Framegrabbers (FPS)	12,5 Hz
Zeilendichte (ZD) / Bildfrequenz	ZD = high, Bildfrequenz = 14 Hz
Fokus	14 mm
Scangeschwindigkeit (v)	3 mm/s
Frequenz des Ultraschalls (f)	7,5 MHz
Schalltiefe (Abstand des Schallobjekts zum Schallkopf)	14 mm, 24 mm, 34 mm
Achsen	x, y, z

Tab. 2.2: Einstellung der Parameter in Versuch 1

2.3.4.3 Validierung und Reproduzierbarkeit

Anhand der Daten aus Vers. 1 sollte die manuelle Festlegung der Lage der Linienprofile in den vermeintlichen Durchmesser des Querschnitts weiter untersucht werden und die Art der Datengewinnung damit validiert werden.

Zur Validierung wurde an der ersten Aufnahme (Studie 1) aus Vers. 1 eine zweite Messung durchgeführt, welche pro Faden 18 Linienprofile festlegt. Jeweils drei Linienprofile wurden im selben Querschnitt festgelegt und aus ihren FWHM-Werten ein Mittelwert gebildet, somit sollte ein möglicher Fehler bei der manuellen Festlegung der Linienprofile aufgedeckt werden. Der Faden wurde wieder an 6 Querschnitten untersucht, was eben zu 18 (3 * 6) Linienprofilen je Achse am selben Faden führt. Abb. 2.6 zeigt die Lage der bestimmten

Linienprofile im Vergleich. Aus den 6 Mittelwerten der Fadenquerschnitte wurde ein Mittelwert mit Standardabweichung berechnet und mit den Mittelwerten aus nur jeweils 6 Linienprofilen verglichen. Es sollte damit gezeigt werden, dass die Bestimmung des Mittelwerts aus 6 Linienprofilen je Faden und Achse zu einem validen Ergebnis führt.

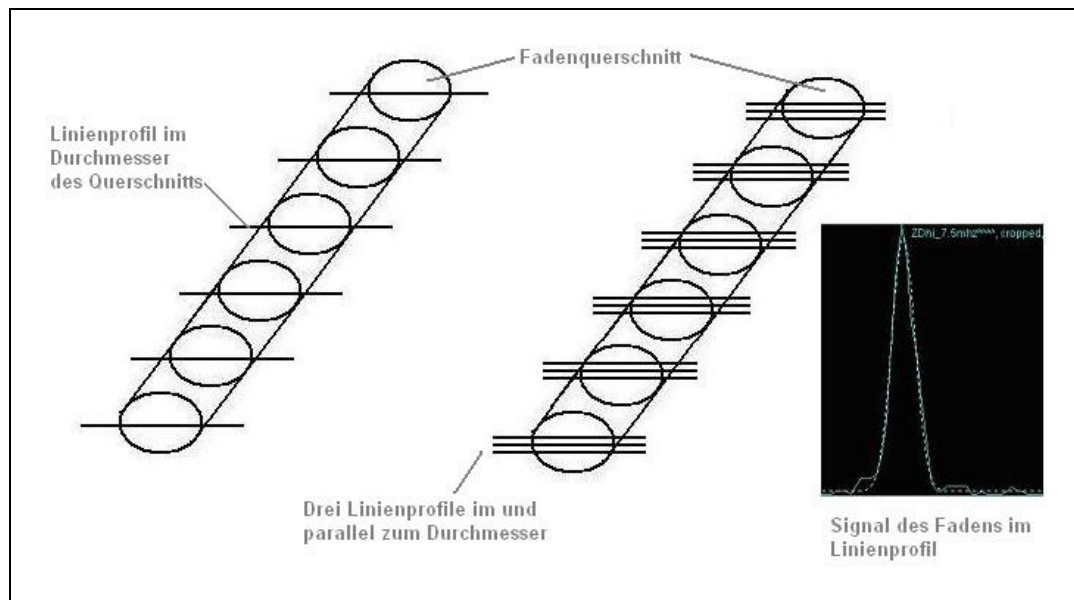


Abb. 2.6: Lage der Linienprofile in den aufgenommenen 3D-US-Datensätzen, 6 vs. 18 Linienprofile

Auch die Reproduzierbarkeit sollte untersucht werden. Dafür dienten erneut die Daten aus Vers. 1, da in diesem Versuch sechs voneinander unabhängige Aufnahmen durchgeführt wurden. Die Auftragung der einzelnen Werte von Studie 1 bis Studie 6 anstatt des Mittelwerts mit Standardabweichung erlaubt Aussagen über die Reproduzierbarkeit der Aufnahmen.

2.3.4.4 Variation der Ultraschallparameter

Eines der Ziele der Arbeit war die Optimierung der 3D-US-Bildgebung. Daher sollte im zweiten Versuch (Vers. 2) herausgearbeitet werden, welchen Einfluss Scangeschwindigkeit (v), Bildwiederholungsrate des Framegrabbers (frames per second, FPS) und Zeilendichte auf die Auflösung haben. Da bei hoher Zeilendichte die Bildwiederholungsrate des Ultraschallgerätes nur bei 14 Bildern pro Sekunde liegt, wurde bei hoher Bildwiederholungsrate des Framegrabbers (FPS = 25 Hz) nur die Standard-Zeilendichte (ZD = standard, US-Bildfrequenz = 26 Hz) untersucht. Andernfalls würde man mehr Bilder pro Sekunde digitalisieren als der Ultraschall im B-Bild überhaupt erzeugt.

Es erfolgten Aufnahmen in zwei Scangeschwindigkeiten (2,2 mm/s und 4,4 mm/s) mit jeweils 12,5 und 25 FPS am Framegrabber. Außerdem wurde die Zeilendichte zwischen normal (ZD = standard) und hoch (ZD = high) variiert. Die variierten Parameter sind in Tab. 2.3 zusammengefasst, die übrigen Parameter wurden wiederum konstant gehalten (Tab. 2.1).

<u>Versuch 2:</u>	
Untersuchung von Scangeschwindigkeit, Zeilendichte und Bildfrequenz des Framegrammers	
<u>Parameter</u>	<u>Wert</u>
Bildfrequenz des Framegrabbers (FPS)	12,5 Hz, 25 Hz
Zeilendichte (ZD) / Bildfrequenz	ZD = high, Bildfrequenz = 14 Hz
Fokus	14 mm
Scangeschwindigkeit (v)	2,2 mm/s, 4,4 mm/s
Frequenz des Ultraschalls (f)	7,5 MHz
Schalltiefe (Abstand des Schallobjekts zum Schallkopf)	14 mm
Achsen	x, y, z

Tab. 2.3: Einstellung der Parameter in Versuch 2

<u>Versuch 3:</u>	
Untersuchung von Ultraschallfrequenz und Fokus	
<u>Parameter</u>	<u>Wert</u>
Bildfrequenz des Framegrabbers (FPS)	12,5 Hz
Zeilendichte (ZD) / Bildfrequenz	ZD = high, Bildfrequenz = 14 Hz
Fokus	14 mm, 25 mm
Scangeschwindigkeit (v)	3 mm/s
Frequenz des Ultraschalls (f)	6 MHz, 7,5 MHz, 9 MHz
Schalltiefe (Abstand des Schallobjekts zum Schallkopf)	14 mm, 24 mm
Achsen	x, y, z

Tab. 2.4: Einstellung der Parameter in Versuch 3

Im dritten Versuch (Vers. 3) wurden Auswirkungen von Frequenz und Fokus auf die Auflösung untersucht. Es wurden Untersuchungen mit 6, 7,5 und 9 MHz durchgeführt, jeweils mit einem Fokus bei 14 mm und 25 mm. Dabei wurden wieder die verschiedenen Achsen und Fadentiefen berücksichtigt. Bei den übrigen Parametern am Ultraschallgerät, die in Tab. 2.4 zusammengefasst sind, wurde auf die Standardeinstellung zurückgegriffen. Die Bildwiederholungsrate des Framegrabbers (FPS) wurde auf 12,5 Hz gesetzt, die Zeilendichte auf „high“, beide Einstellungen als Konsequenz aus Versuch 2. Bei dieser Untersuchung sollte das unterschiedliche Verhalten der Auflösung in verschiedenen Fadentiefen in Abhängigkeit von Frequenz und Fokus beurteilt werden.

2.4 3D-Ultraschall an Kleintieren

2.4.1 Voraussetzungen zur Ganzkörper-3D-Bildgebung

Zweites Ziel der Arbeit war die Entwicklung eines standardisierten Versuchsaufbaus, der im Vergleich zu bisherigen Verfahren des 3D-US an Kleintieren die Ganzkörper-Darstellbarkeit ermöglicht. Voraussetzung hierfür war die Realisierung der Schallanbindung zwischen Schallkopf und Kleintierkörper, die Durchführung der Untersuchung in Inhalationsnarkose und eine geeignete Lagerung auf einem Tierhalter, die das Abfahren des Körpers mit dem Schallkopf ermöglicht. Diese ersten Versuche zur Ganzkörperbildgebung wurden an euthanasierten Studienendpunkttieren durchgeführt (Aktenzeichen des Tierschutzantrages: 55.2-2531.01-17/08).

2.4.2 Entwicklung

Nach verschiedenen Überlegungen und Versuchen zur Schallankopplung mit Gelkissen als Vorlaufstrecke, komplette Einbettung der Maus in Ultraschallgel und Durchführung des Ultraschall im Wasserbecken, stellte sich die US-Aufnahme im Wasserbecken als die praktikabelste Möglichkeit zur Übertragung der Schallwellen zwischen Schallkopf und Körper ohne wesentliche Impedanzsprünge dar, gerade bei der gegebenen unregelmäßigen Körperoberfläche im Vergleich zur Form des Linearscanners.

Ein weiteres Problem stellte sich durch die Reflexion des Schalls am Fell der Tiere. Das Fell enthält Lufteinschlüsse und lässt sich somit von den Schallwellen kaum durchdringen, was in Abb. 2.7 sehr deutlich wird. Allein die Umrisse des Tierkörpers sind sichtbar, die Darstellung

der inneren Organe ist aber nicht möglich. Durch Entfernung der Haare lässt sich dieses Problem gut lösen und entfällt natürlich bei der Verwendung von haarlosen Mäusen.

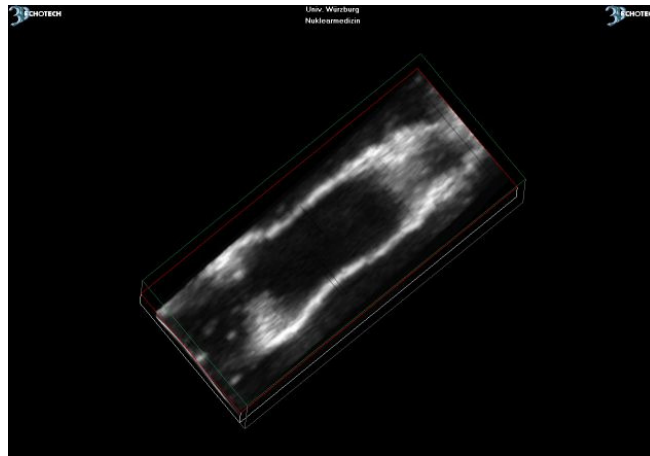


Abb. 2.7: Ultraschall der Maus ohne Enthaarung: Starke Reflexion des Fells machen eine Beurteilung der inneren Organe unmöglich



Abb. 2.8: Durch die Atemmaske wird Atemluft zugeführt und die Inhalationsanästhesie aufrecht erhalten

Um die Untersuchung im Wasserbecken am lebenden Tier durchzuführen, mussten noch weitere Voraussetzungen geschaffen werden: Die Temperatur des Wassers muss der mittleren Körpertemperatur von Mäusen entsprechen, da diese sonst aufgrund des ungünstigen Oberflächen-Volumen-Verhältnisses schnell hypo- bzw. hypertherm würden und damit vital bedroht wären. Da die Körpertemperatur von Mäusen bei Umgebungstemperatur von 15 °C bis 25 °C im Mittel 36,6 °C beträgt (Doss and Ohnesorge 1966), wurde das

Wasser mit Hilfe einer unter dem Becken positionierten Wärmeplatte auf 36 °C bis 37 °C erwärmt.

Außerdem musste die Atmung des Tieres gesichert werden. Dies gelang durch die Entwicklung einer kleinen Atemmaske, die in Abb. 2.8 zu sehen ist. Über diese Maske, die am Tierhalter befestigt werden kann, wird die Atemluft zugeführt und die Inhalationsnarkose aufrecht erhalten. Sie besteht aus Anteilen einer Einmalspritze, hat einen zuführenden Schenkel für Frischgas und einen abführenden Schenkel, damit im Wasser keine den Ultraschall störenden Luftblasen aufsteigen. Die Schnauze der Maus reicht in die Atemmaske hinein, die Abdichtung erfolgt durch eine Gummimembran. Durch leichten Überdruck in der Maske kann die Maus gut atmen und das Einströmen von Wasser wird verhindert. Möglicherweise eintretendes Wasser wird dank des Gasflusses durch den abführenden Schenkel, der am Boden der Maske abgeht, aus dieser entfernt.

Um das gleichmäßige Abscannen der Oberfläche der Maus mit dem Schallkopf zu ermöglichen und standardisierte Schallbedingungen zu erzeugen, wurde eine Schallkopfführung gebaut, die in Abb. 2.9 und Abb. 2.10 dargestellt ist. Das verwendete Material ist Plexiglas. Die stirnseitigen senkrecht gestellten Wände werden durch zwei rechteckige Stäbe im Abstand von 45 mm, die als Auflage für den Schallkopf dienen, verbunden. An den Stirnseiten sollte auch der später noch entwickelte Tierhalter in einer fest definierten Position angebracht werden können. Die Fläche zwischen den Stäben definiert das Schallfenster, welches der Schallkopf abfahren kann, der darunter befindliche Raum das Volumen, welches in den Aufnahmen erfasst werden kann. Seitlich sollten keine Wände vorhanden sein, sodass gestreute Schallwellen nicht an den Schallkopf reflektiert werden. Auf einem der Stäbe, der die Auflage für den Schallkopf bildet, wurde eine Schiene angebracht, die als Anschlag und Führung dient. Das Wasser wird im Becken so hoch eingefüllt, dass die Schallkopfauflagen 1 mm unterhalb der Wasseroberfläche liegen, somit ist die Schallankopplung gewährleistet.

Für die Schallkopfführung wurden in das Untersuchungs-Wasserbecken Anschläge geklebt, die ihre Position definieren. Die starre Position ist für die Aufnahmen wichtig, da eine relative Bewegung des Versuchsaufbaus zum 3D-Transmitter ein Artefakt im Datensatz erzeugen würde. Unter der Tierhalterung, auf der die Maus gelagert ist, am Boden des Wasserbeckens ist ein Schwamm angebracht, der Schallwellen absorbiert und damit Artefakte minimieren soll.

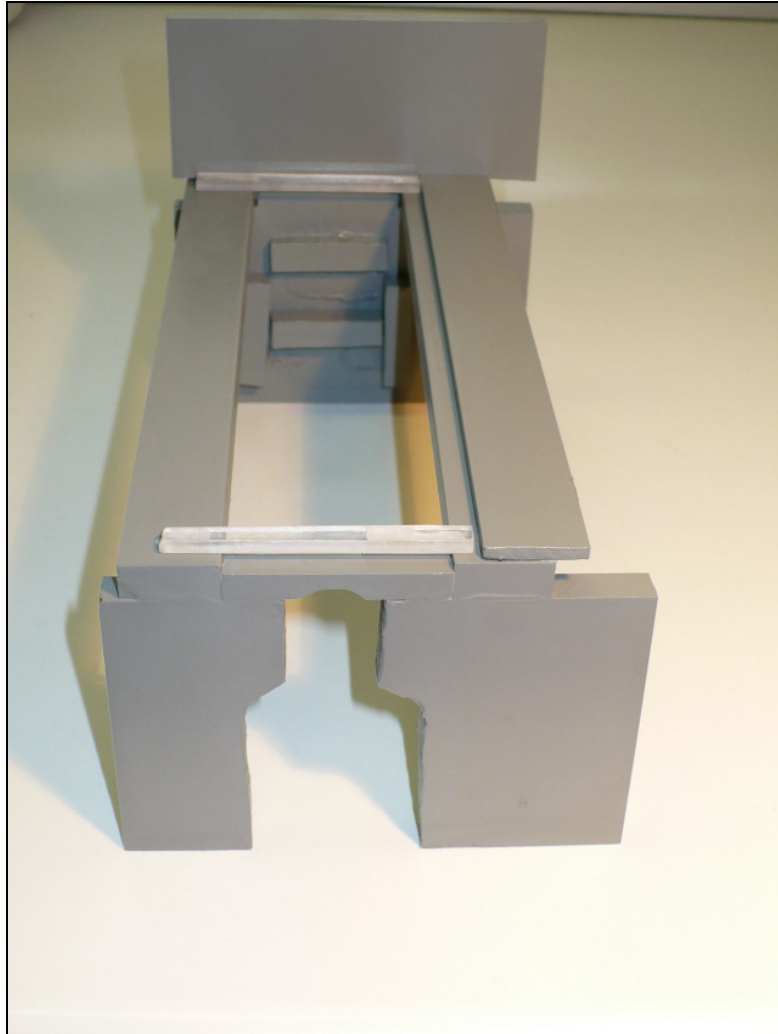


Abb. 2.9.: Diese Schallkopfführung wurde im Rahmen des Versuchs entwickelt

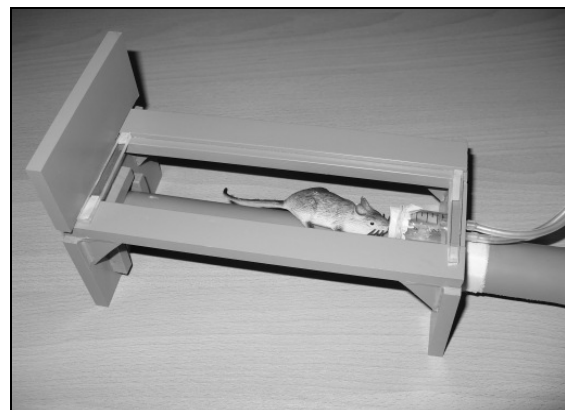
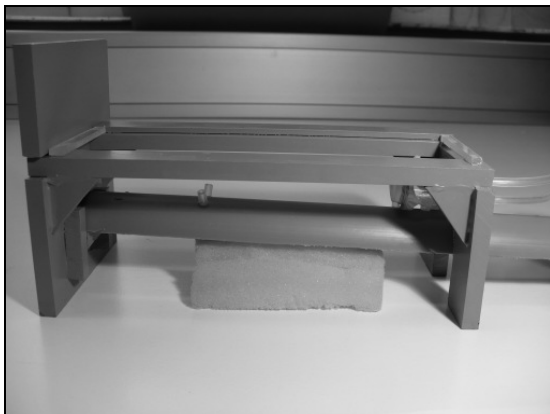


Abb. 2.10 a, b: Schallkopfführung mit Tierhalter, seitliche Ansicht (unter dem Tierhalter befindet sich ein Schwamm zur Schallabsorption)

2.4.3 Evaluation anhand von Volumenberechnungen

Die Praktikabilität des entwickelten Versuchsaufbaus sollte mittels einer Untersuchung an lebenden Mäusen gezeigt werden. Dabei sollten mit Hilfe der 3D-Software Organvolumen bestimmt werden und mit dem Goldstandard verglichen werden. Hierzu wurden sechs Studienendpunkttiere mit einem Gewicht von 18 – 29 Gramm dreimal gescannt, währenddessen waren die Tiere über eine dicht sitzende Atemmaske in Inhalationsnarkose (1,5 – 2% Isofluran in Sauerstoff) versetzt. Die Ultraschalluntersuchungen dauerten je Maus ein bis zwei Minuten. Die Mäuse wurden nach der Untersuchung noch in Narkose euthanasiert, anschließend wurden Leber, Nieren oder Tumoren entnommen (Aktenzeichen des Tierschutzantrages: 55.2-2531.01-17/08).

In der Nachverarbeitung der Datensätze wurde das Volumen mit Hilfe der 3D-Software FreeScan[®] durch Segmentierung oder Multiplanare Volumenapproximation (MVA) bestimmt. Es wurden jeweils drei Aufnahmen am gleichen Tier durchgeführt, in jedem Datensatz wurden Leber, Nieren oder Tumoren markiert und das Volumen errechnet.

Bei der Segmentierung werden in parallelen Schichten jeweils die Grenzen der zu messenden Struktur markiert, der Abstand zur nächsten Schicht als dritte Dimension ergibt das Volumen einer Scheibe. Je geringer der Schichtabstand, desto genauer die Messung.

Für die MVA muss eine Achse definiert werden, die als Rotationsachse von 6 im gleichen Winkel zueinander stehenden Flächen dient. Auf den entstehenden Schnittebenen mit 30° Winkelabstand werden die Konturen des Objekts umfahren. So entstehen in den orthogonal zur Rotationsachse liegenden Ebenen Konturen mit 12 (2 * 6) Markierungspunkten. Die Schichtdicke der einzelnen Ebene wird gegen null approximiert. Der Vorteil der MVA liegt in der schnelleren Durchführbarkeit der Volumenberechnung und minimaler Schichtdicken, Nachteil ist der begrenzte Einsatz bei komplexen Formen. Beide Methoden wurden bereits am zur Verfügung stehenden Programm von Schlögl et al. validiert (Schlögl, Werner et al. 2001; Schlögl, Andermann et al. 2006).

Für die Volumenberechnung der Leber wurde die Segmentierung gewählt, für Nieren die MVA und für Tumoren verschiedene Methoden.

Als Goldstandard für die Volumetrie wurde mit Hilfe einer Präzisionswaage das Gewicht des Organs bestimmt und unter Berücksichtigung des spezifischen Gewichts der Organe,

welches mit Ausnahme von Knochengewebe annähernd 1 mg/mm^3 beträgt, wurde das Volumen ermittelt. Die berechneten Volumina wurden mittels Bland-Altman-Plot mit dem Goldstandard verglichen (Bland and Altman 1986).

2.5 Koregistrierung und Bildfusion von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen

2.5.1 Voraussetzungen zur Koregistrierung

Zur Koregistrierung von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen mussten folgende Voraussetzungen geschaffen werden: Die Maus sollte im gleichen Versuchsaufbau die Untersuchung von PET und 3D-US erhalten, um dieselbe Lagerung beizubehalten. Dazu sollte ein für beide Untersuchungen kompatibler Tierhalter entwickelt werden. Außerdem sollte die Möglichkeit zur halbautomatischen Koregistrierung geschaffen werden. Diese Datensätze sollten dann schließlich in einen gemeinsamen Datensatz einfließen. Bei der halbautomatischen Koregistrierung lassen sich die Aufnahmen anhand von Markern, die in beiden Bildgebungsmodalitäten zu erkennen sind, fusionieren, sodass Position und Lage des Tieres in den fusionierten Datensätzen übereinstimmen.

2.5.2 Entwicklung eines kompatiblen Tierhalters für 3D-Ultraschall und PET

Drittes Ziel der Arbeit war die Entwicklung eines zu den zwei Untersuchungsmodalitäten 3D-US und PET kompatiblen Tierhalters. Dazu wurden verschiedene Materialien und Formen für den Tierhalter geprüft.

Als Materialien wurden Kohlefaser- und Plexiglashalterungen untersucht, wie sie bei PET-Untersuchungen standardmäßig verwendet werden, zusätzlich Polyethylen (PE). Der Tierhalter sollte im Ultraschall möglichst geringe Artefakte bilden und auch im PET keine relevante Schwächung erzeugen, die die Countstatistik beeinflussen würde. Außerdem muss ausreichende Stabilität gewährleistet sein, da der Tierhalter im PET nur an einem Ende befestigt wird und die Maus frei tragen muss.

Bei der Frage nach der besten Form für einen Tierhalter sollten konvexe und konkave Formen untersucht werden, eine völlig flache Oberfläche wurde ausgeschlossen, da sie keine ausreichende Stabilität für den Tierhalter bietet. Theoretisch sollte ein konvexer Tierhalter im 3D-US die besten Ergebnisse liefern, da die Reflexion der Schallwellen aus

Bereichen außerhalb der ROI (region of interest) dabei am geringsten wäre. Abb. 2.11 zeigt den Strahlengang der Schallwellen bei Reflexion an der Oberfläche des Tierhalters.

Der entwickelte Tierhalter sollte außerdem in beiden Untersuchungsmodalitäten definierte Positionen einnehmen. Zur starren Adaptation des Tierhalters an die Haltevorrichtung des PET wurde ein Adapter aus Plexiglas gebaut, der in Abb. 2.12 (unten) zu sehen ist. Dies ermöglicht die Aufnahmen im PET immer in der exakt gleichen Bettposition durchzuführen und erleichtert die spätere halbautomatische Koregistrierung. Für die Ultraschall-Untersuchung wurde die Schallkopfführung so modifiziert, dass der Tierhalter nur eine definierte Position annehmen kann. Um das Handling beim Ultraschall zu verbessern, wurde bei dieser Untersuchung eine Haltevorrichtung im rechten Winkel an den Tierhalter adaptiert. Dieser Adapter ist in Abb. 2.12 (oben) zu sehen.

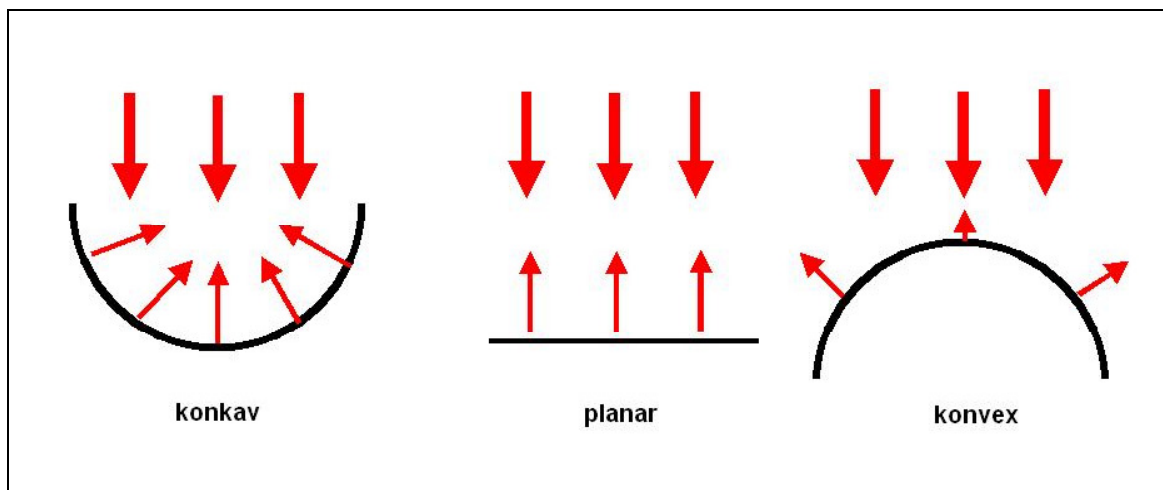


Abb. 2.11: Skizze zur Schallreflexion am Tierhalter, möglichst wenig Schallreflexion wird durch einen konvexen Tierhalter ermöglicht

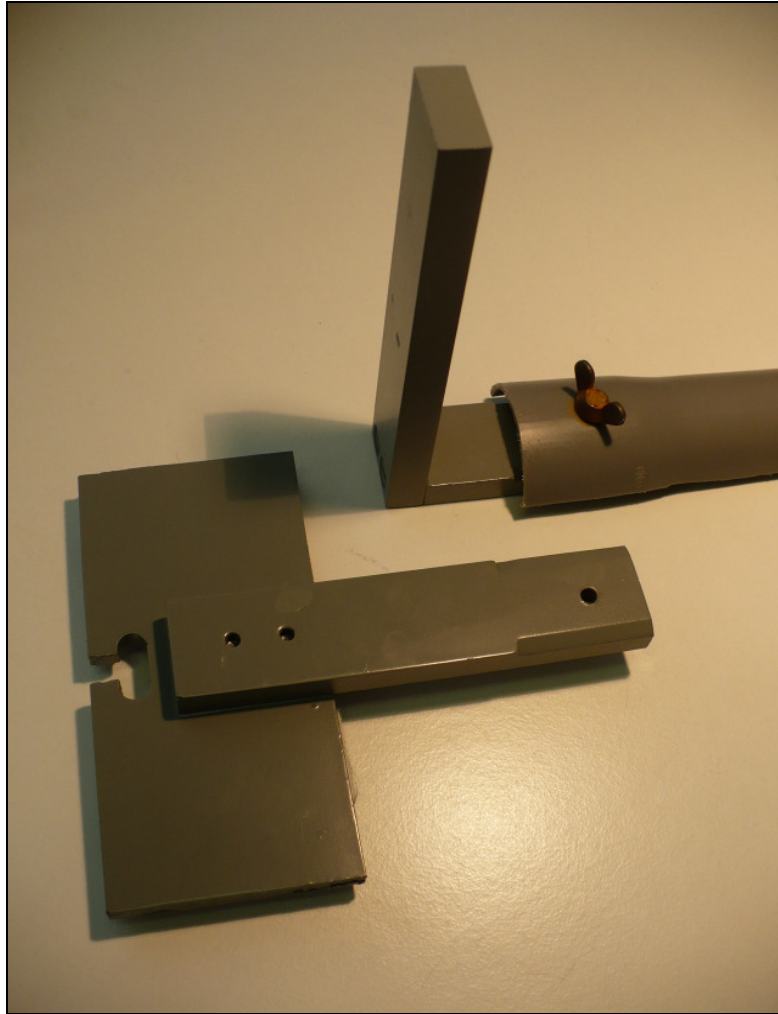


Abb. 2.12: Die starre Ankopplung des Tierhalters mit definierten Lagepunkten im PET und im 3D-US ermöglicht eine reproduzierbare Lagerung

2.5.3 Halbautomatische Koregistrierung

Viertes Ziel der Arbeit war die Koregistrierung und Bildfusion von PET und 3D-US. Zuerst sollte eine Möglichkeit zur halbautomatischen Koregistrierung mit Hilfe geeigneter Marker gefunden werden. Diese Marker mussten am Untersuchungsobjekt oder alternativ am Tierhalter fest angebracht und in beiden Untersuchungsmodalitäten darstellbar sein. Mit Hilfe von mindestens drei dieser Marker kann die Position und Orientierung eines Untersuchungsobjekts definiert werden. Durch Erkennung und Fusion dieser Marker in den Datensätzen von 3D-US und PET sollte somit gleichzeitig die Fusion des Untersuchungsobjekts verwirklicht werden. Der Vorteil der halbautomatischen gegenüber der manuellen Koregistrierung ist die schnellere Durchführung mittels Fusion anhand von drei vorgegebenen Fixpunkten („fiducial markers“) und die geringere Unsicherheit bezüglich der in den einzelnen Datensätzen dargestellten Strukturen.

2.5.4 Bildfusion von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen

Um die Bildfusion zu realisieren, wurden die im gleichen Versuchsaufbau gewonnenen Datensätze von PET und 3D-US in die frei verfügbare Software Amide übertragen. Durch die auf dem Tierhalter angebrachten Plastikspitzen konnte die Bildfusion der Datensätzen ermöglicht werden. Durch Fusion der Bilddaten sollte Morphologie und Metabolismus eines Organs bzw. einer Gewebestruktur parallel dargestellt werden.

3 Ergebnisse

3.1 Bildoptimierung am Modell

3.1.1 Fadenphantom

Das entwickelte Fadenphantom wurde bereits ausführlich beschrieben (Kapitel „Material und Methoden“). Es stellt die Grundlage für die Bildoptimierung dar. Mit Hilfe dieses Prüfkörpers kann die Qualität der 3D-Aufnahmen sowohl subjektiv durch den Untersucher als auch objektiv-quantitativ mit Bestimmung der Signalprofile im Fadenquerschnitt (FWHM-Wert) beurteilt werden.

3.1.2 Vergleich verschiedener Ultraschall-Geräte

Im Vergleich der zur Verfügung stehenden Ultraschallgeräte Siemens Sonoline Elegra[®], Siemens Sonoline G 50[®] (Siemens AG, Healthcare Sector, Erlangen) und SonoSite Titan[®] (SonoSite GmbH, Erlangen) fanden sich speziell in den 3D-Aufnahmen des Fadenphantoms deutliche Unterschiede, besonders in der z-Achse.

Abbildung 3.1 zeigt die Aufnahme des Fadenphantoms mit dem Ultraschallgerät Sonoline Elegra[®] und 7,5 MHz Linearscanner. Zur besseren Beurteilung der Aufnahmequalität ist jeweils nur die oberflächliche Fadenebene aus dem Datensatz dargestellt. Es wird nur die x- und die z-Achse beurteilt, da man aus den physikalischen Grundlagen ableiten kann, dass die Auflösung in der y-Achse höher als die Auflösung in der x-Achse ist. Die Auflösung in der z-Achse ist sehr gering, der nur 0,3 mm messende Faden wird im dreidimensionalen Datensatz zu einem 5 mm breiten „Band“. Diese Verzerrung findet nur in der z-Achse statt, im Standard-B-Bild wird der Faden sowohl horizontal (y-Achse) als auch vertikal (x-Achse) mit guter Auflösung dargestellt. Die Qualität der Aufnahmen konnte auch durch Modifizierung der Aufnahmeparameter am Ultraschallgerät nicht wesentlich verbessert werden.

Im Gegensatz dazu zeigen die Aufnahmen des Sonoline G50[®] (Abb. 3.2) eine gute Auflösung auch in der im 3D-Datensatz entstehenden z-Achse. Dies ist eine notwendige Voraussetzung für die Generierung hochauflösender 3D-Datensätze.

In Abbildung 3.3 wird eine Aufnahme mit dem portablen Ultraschallgerät SonoSite Titan[®] gezeigt. Die visuell beurteilte Qualität der Aufnahmen mit diesem Gerät ist nur gering

schlechter als beim Sonoline G50 und wäre für 3D-Untersuchungen durchaus einsetzbar, jedoch eignet sich das für den klinischen Routineeinsatz entwickelte Gerät nicht für Versuchszwecke zur Optimierung der Bildaufnahme, da die Einstellung der Ultraschallparameter nicht quantifizierbar und damit auch nicht reproduzierbar ist.

Als Schlussfolgerung aus dem Vergleich der drei Ultraschallgeräte wurden die folgenden Versuche zur Optimierung der 3D-Bildgebung mit dem Ultraschallgerät Siemens Sonoline G 50[®] durchgeführt.

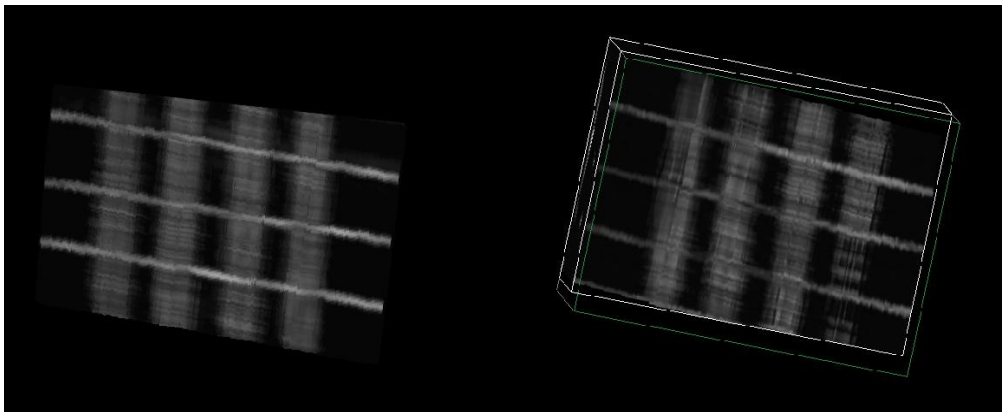


Abb. 3.1: Aufnahme mit Sonoline Elegra[®]

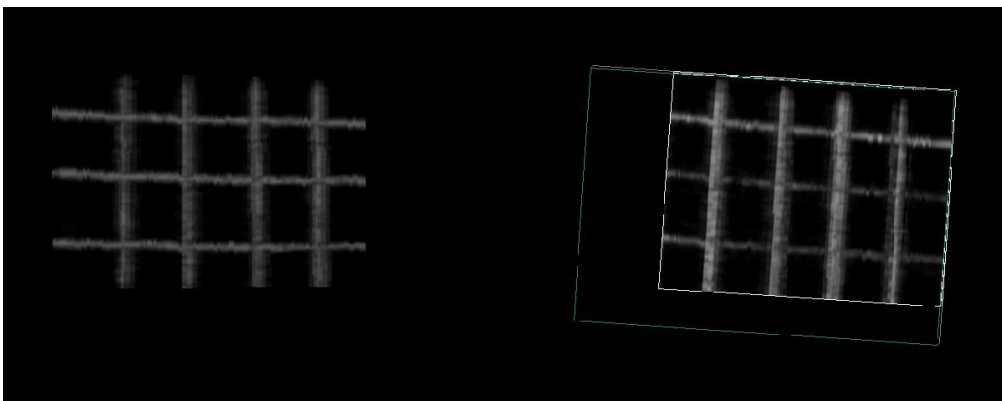


Abb. 3.2: Aufnahme mit Sonoline G50[®]

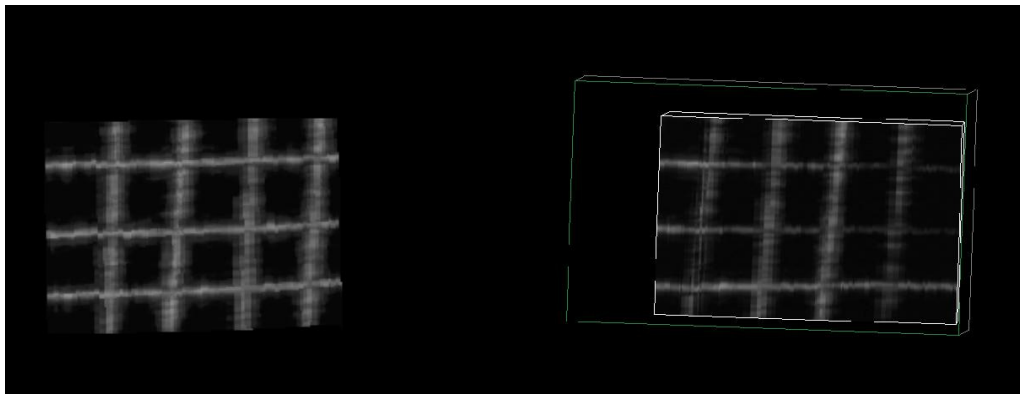


Abb.3.3: Aufnahme mit SonoSite Titan®

3.1.3 Betrachtung der verschiedenen Achsen und Schalltiefen

Tabelle 3.1 zeigt die Messwerte aus Versuch 1. Die mit Hilfe des Fadenphantoms bestimmte Halbwertsbreite (FWHM) als Maß für die Auflösung des 3D-US wurde in den drei Achsen (x- / y- / z-Richtung im Raum) und Schalltiefen, also dem Abstand zwischen Schallkopf und Faden, bestimmt.

FWHM (mm)									
Fadentiefe	14 mm			24 mm			34 mm		
Achse	x	y	z	x	y	z	x	y	z
Studie 1	1,17	0,7	1,94	1,85	0,80	2,99	2,36	0,98	4,57
Studie 2	1,60	0,69	1,77	2,05	0,73	2,44	3,09	0,83	5,79
Studie 3	1,48	0,68	1,35	1,87	0,75	2,11	2,51	0,90	3,92
Studie 4	1,40	0,65	1,94	1,78	0,72	2,67	2,97	0,89	4,64
Studie 5	1,59	0,74	1,75	1,87	0,81	2,73	3,19	0,76	5,39
Studie 6	1,40	0,72	2,44	1,74	0,76	3,01	2,50	0,83	4,56
MW ± STABW	1,44 ± 0,16	0,70 ± 0,03	1,86 ± 0,35	1,86 ± 0,11	0,76 ± 0,04	2,66 ± 0,34	2,77 ± 0,35	0,86 ± 0,07	4,81 ± 0,67

Tab. 3.1: Auflösung in x- / y- / z- Richtung bei 14 / 24 / 34 mm Fadentiefe

In Abbildung 3.4 sind die Messwerte graphisch dargestellt. Je kleiner die Halbwertsbreite (FWHM), desto höher ist die Auflösung. Die Auflösung ist in der y-Achse besser als in der x-Achse und diese ist besser als in der z-Achse. Die Ergebnisse sind für jede Schalltiefe signifikant mit $p < 0,032$. Je geringer der Abstand zwischen Schallkopf und Schallobjekt (= Fadenabstand), um so höher ist auch hier die Auflösung. Die Differenzen in den drei verschiedenen Schalltiefen sind signifikant mit $p < 0,019$. Die höchste Auflösung in diesem

Versuch wurde in der y-Achse bei der Fadentiefe von 14 mm gefunden ($\text{FWHM} = 0,70 \pm 0,03$ mm). Im Vergleich dazu war die Auflösung in der z-Achse bei 34 mm Fadentiefe am niedrigsten ($\text{FWHM} = 4,81 \pm 0,67$ mm).

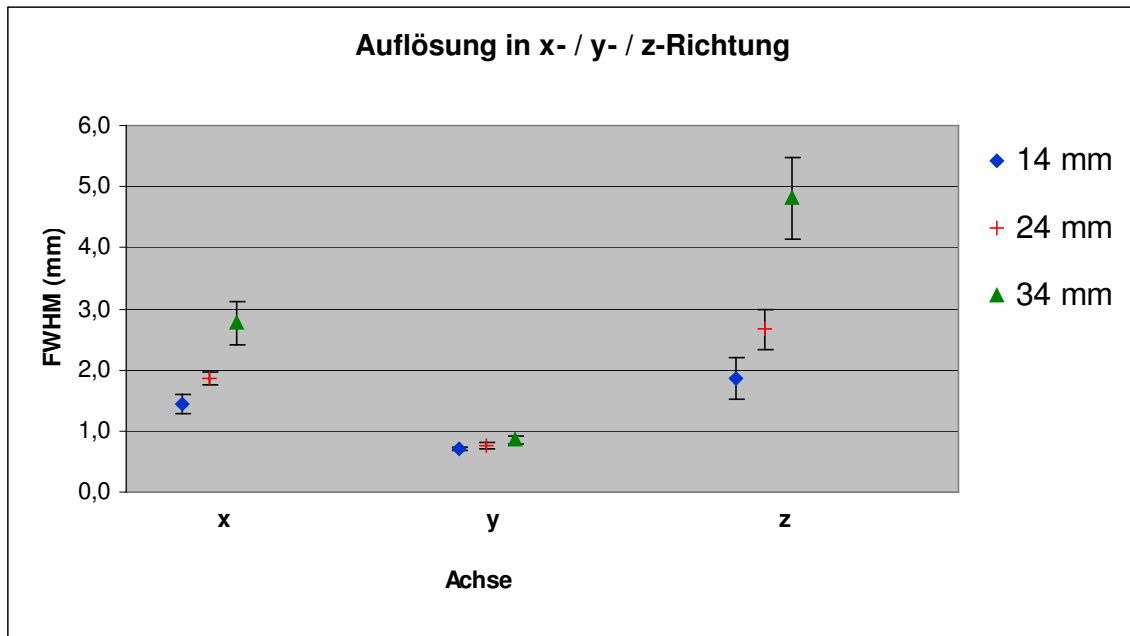


Abb. 3.4: Auflösung in Abhängigkeit von der Orientierung (Achse) im Raum

3.1.4 Validierung und Reproduzierbarkeit

Zur Validierung wurde an der ersten Aufnahme (Studie 1) aus Versuch 1 eine zweite Messung durchgeführt, welche pro Faden 18 Linienprofile festlegt. Tabelle 3.2 zeigt die Ergebnisse der verschiedenen Methoden zur Bestimmung des Mittelwerts, welche in Abb. 3.5 nochmals graphisch veranschaulicht sind. Die Nullhypothese, die von der gleichen Grundgesamtheit der Messwerte ausgeht, wird angenommen. Die Mittelwerte aus 6 bzw. 18 Linienprofilen pro Faden zeigten keinen signifikanten Unterschied, woraus man schlussfolgern kann, dass 6 Linienprofile pro Faden an verschiedenen Querschnitten eine ausreichend große Stichprobe sind, um valide Ergebnisse zu erhalten. Insgesamt waren die Standardabweichungen bei der Berechnung der Mittelwerte aus einem jeweils vorher gebildeten Mittelwert aus drei Linienprofilen je Querschnitt geringer, was durch den geringeren Einfluss von „Ausreißern“ bedingt ist.

Studie 1	FWHM (mm): MW ± STABW		
Achse	x	y	z
Fadentiefe	14 mm		
6 Linienprofile	1,17 ± 0,14	0,70 ± 0,11	1,94 ± 0,12
6*3 Linienprofile	1,14 ± 0,09	0,77 ± 0,10	2,14 ± 0,23
Fadentiefe	24 mm		
6 Linienprofile	1,85 ± 0,30	0,80 ± 0,10	2,99 ± 0,48
6*3 Linienprofile	1,77 ± 0,20	0,84 ± 0,05	2,99 ± 0,20

Tab. 3.2: Vergleich der Ergebnisse bei 6 vs. 6*3 Linienprofilen

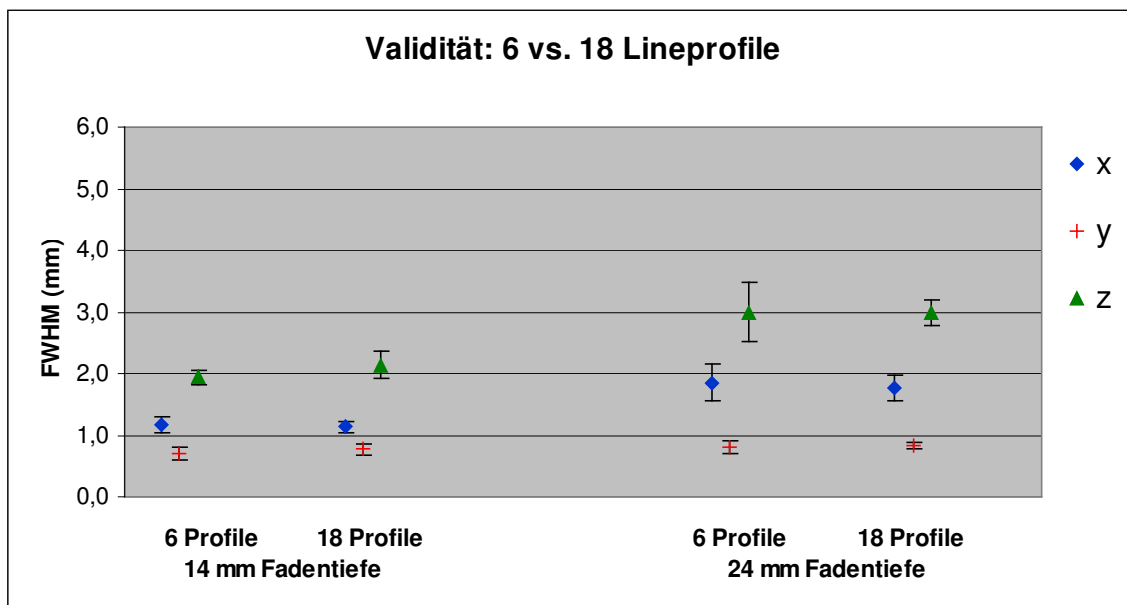


Abb. 3.5: In Studie 1 wurden 6 vs. 18 Linienprofile festgelegt und die Mittelwerte mit Standardabweichungen der gemessenen Halbwertsbreiten berechnet

Zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit wurden die Daten aus Vers. 1 erneut genutzt. Im Vergleich der 6 voneinander unabhängigen Studien mit jeweils gleichen Einstellungen zeigt sich eine deutliche Streuung der Messwerte in den unter gleichen Versuchsbedingungen wiederholten Messungen (Abb. 3.6). Besonders in der z-Achse bei größerem Abstand zum Schallkopf (34 mm Schalltiefe) ist die Streuung sehr hoch mit einer Standardabweichung (SD) von $SD = \pm 0,67$ mm. Der daraus berechnete 95% - Konfidenzintervall ($CI = 1,96 * SD$) beträgt $CI = \pm 1,31$ mm, das bedeutet, dass Messwerte in z-Achse und 34 mm Schalltiefe in den folgenden Versuchen erst ab einem Unterschied der Halbwertsbreite von mindestens 1,31 mm sichere Aussagen über eine mögliche bessere Auflösung treffen ließen. Die Reproduzierbarkeit ist für diese Bedingungen nur eingeschränkt gegeben.

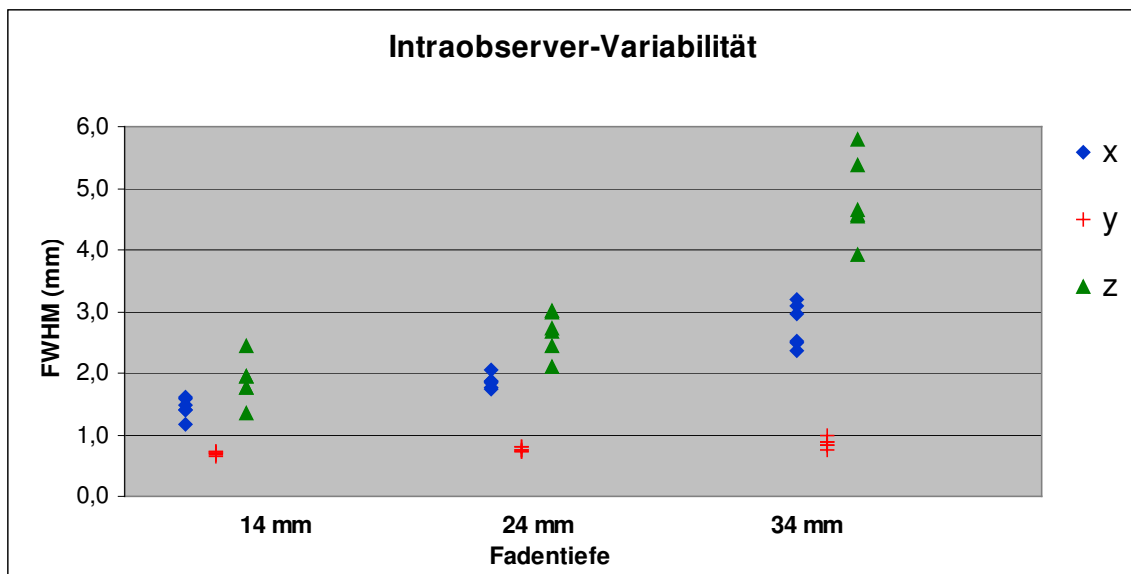


Abb. 3.6: Die Intraobserver-Variabilität zeigt die Reproduzierbarkeit der Daten bei sechs voneinander unabhängigen Aufnahmen unter gleichen Aufnahmebedingungen

3.1.5 Variation der Ultraschallparameter

In Versuch 2 wurden die Ultraschallparameter zur Optimierung der 3D-US-Bildgebung variiert. Tabelle 3.3 zeigt den Einfluss von Scangeschwindigkeit (v), Bildwiederholungsrate des Framegrabbers (FPS) und Zeilendichte (ZD) auf die Auflösung. In Abbildung 3.7 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Bei Variation dieser Ultraschallparameter ergaben sich insgesamt keine signifikanten Differenzen der Messwerte. Lediglich mit hoher Zeilendichte und 12,5 FPS kann in der z-Achse eine signifikant ($p < 0,05$) bessere Auflösung bei geringerer Schallkopfgeschwindigkeit erzielt werden.

FWHM (mm): MW \pm STABW				
Achse		x	y	z
12,5 FPS ZD std	2,2 mm/s	1,06 \pm 0,12	0,49 \pm 0,10	1,82 \pm 0,24
	4,4 mm/s	1,00 \pm 0,09	0,62 \pm 0,12	2,00 \pm 0,22
25 FPS ZD std	2,2 mm/s	1,17 \pm 0,06	0,46 \pm 0,07	2,12 \pm 0,25
	4,4 mm/s	1,00 \pm 0,08	0,48 \pm 0,10	2,19 \pm 0,28
12,5 FPS ZD high	2,2 mm/s	0,96 \pm 0,14	0,48 \pm 0,07	1,91 \pm 0,18
	4,4 mm/s	0,99 \pm 0,07	0,49 \pm 0,09	2,32 \pm 0,24

Tab. 3.3: Variation von Bildwiederholungsrate, Zeilendichte und Scangeschwindigkeit bei 14 mm Fadentiefe

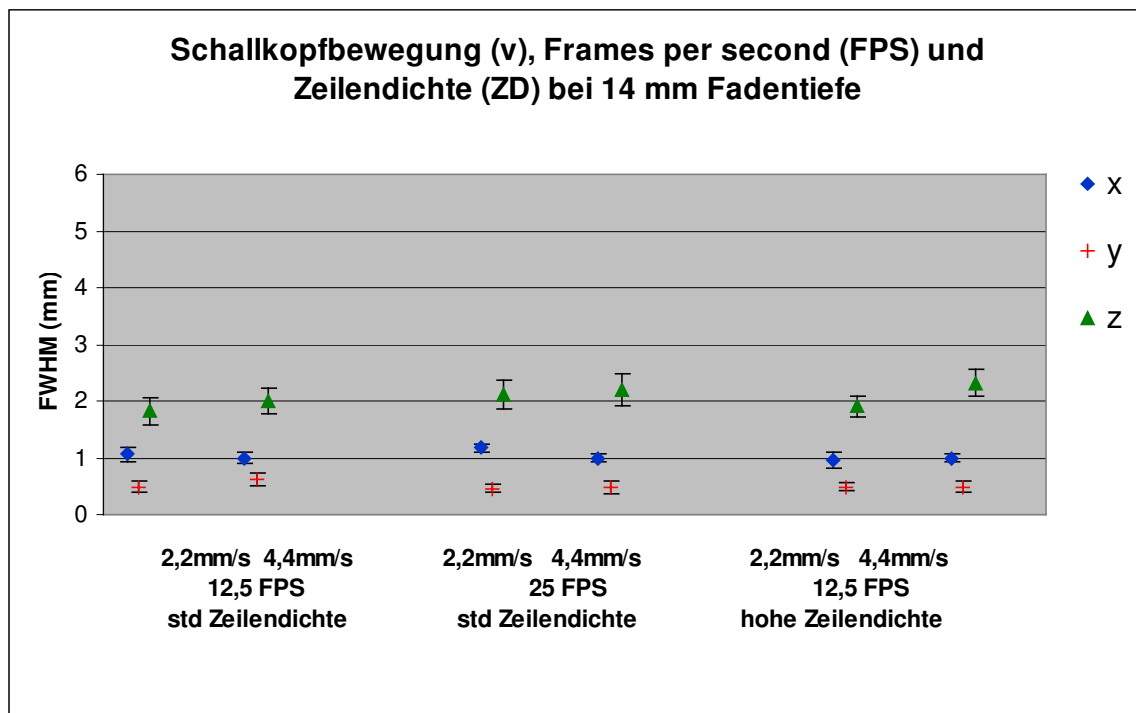


Abb. 3.7: Die Variation von Bildwiederholungsrate, Zeilendichte und Scangeschwindigkeit zeigt kaum Unterschiede

In Versuch 3 wurden Auswirkungen von Frequenz und Fokus auf die Auflösung untersucht. Es wurden Untersuchungen mit 6, 7,5 und 9 MHz durchgeführt, jeweils mit einem Fokus bei 14 mm und 25 mm. Als Folge aus den Ergebnissen von Versuch 2 wurden die Untersuchungen mit hoher Zeilendichte und 12,5 FPS durchgeführt. Es wurden nur die Schalltiefen 14 mm und 24 mm betrachtet, da nach Versuch 1 die geringe Reproduzierbarkeit für die Schalltiefe 34 mm keine Aussage erlaubt.

Die Tabellen 3.4 und 3.5 zeigen die numerischen Ergebnisse, welche in den Abbildungen 3.8 und 3.9 visualisiert sind. Bei einer Fadentiefe von 14 mm zeigt sich in der x-Achse in allen Frequenzen eine signifikant ($p < 0,05$) höhere Auflösung bei einem Fokus von 14 mm im Vergleich zu einem Fokus von 25 mm (Abb. 3.8). Analog dazu ist bei einer Fadentiefe von 24 mm die Auflösung in der x-Achse höher bei einem Fokus von 25 mm (Abb. 3.9), signifikant ($p < 0,05$) sind diese Werte aber nur für 6 und 7,5 MHz. In der anderen Achsen (y und z) ergeben sich keine aussagekräftigen Unterschiede. Die Modulation der Frequenz zeigt ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

FWHM (mm): MW \pm STABW bei 14 mm Fadentiefe				
Achse		x	y	z
Fokus 14mm	6 MHz	1,14 \pm 0,07	0,51 \pm 0,05	2,17 \pm 0,25
	7,5 MHz	1,07 \pm 0,11	0,44 \pm 0,09	1,89 \pm 0,28
	9 MHz	1,02 \pm 0,12	0,63 \pm 0,09	2,01 \pm 0,20
Fokus 25mm	6 MHz	1,44 \pm 0,10	0,55 \pm 0,07	1,99 \pm 0,24
	7,5 MHz	1,25 \pm 0,14	0,52 \pm 0,10	2,11 \pm 0,24
	9 MHz	1,48 \pm 0,19	0,63 \pm 0,09	1,79 \pm 0,14

Tab. 3.4: Variation von Fokus und Frequenz bei 14 mm Fadentiefe

FWHM (mm): MW \pm STABW bei 24 mm Fadentiefe				
Achse		x	y	z
Fokus 14mm	6 MHz	1,57 \pm 0,10	0,58 \pm 0,09	2,47 \pm 0,29
	7,5 MHz	1,69 \pm 0,12	0,49 \pm 0,10	2,69 \pm 0,25
	9 MHz	1,45 \pm 0,15	0,70 \pm 0,09	2,46 \pm 0,31
Fokus 25mm	6 MHz	1,22 \pm 0,16	0,62 \pm 0,13	2,58 \pm 0,43
	7,5 MHz	1,07 \pm 0,05	0,59 \pm 0,05	2,19 \pm 0,26
	9 MHz	1,22 \pm 0,22	0,88 \pm 0,07	2,69 \pm 0,45

Tab. 3.5: Variation von Fokus und Frequenz bei 24 mm Fadentiefe

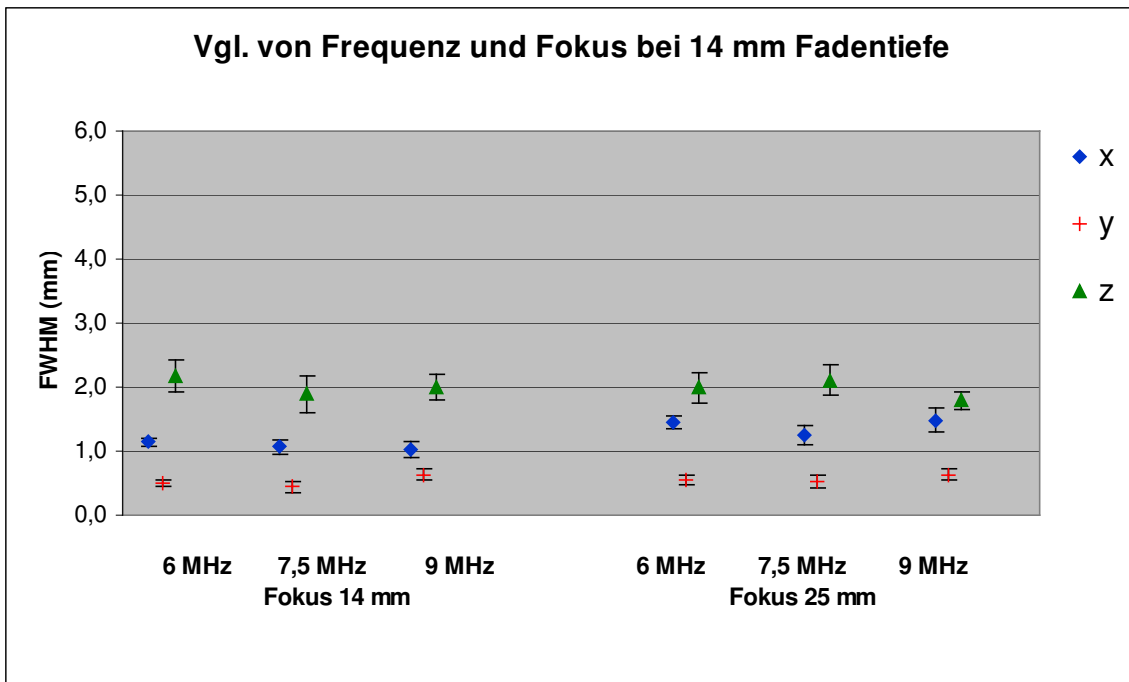


Abb. 3.8: Einfluss von Frequenz und Fokus des Ultraschallgeräts auf die Auflösung bei einem Abstand von 14 mm zum Schallkopf

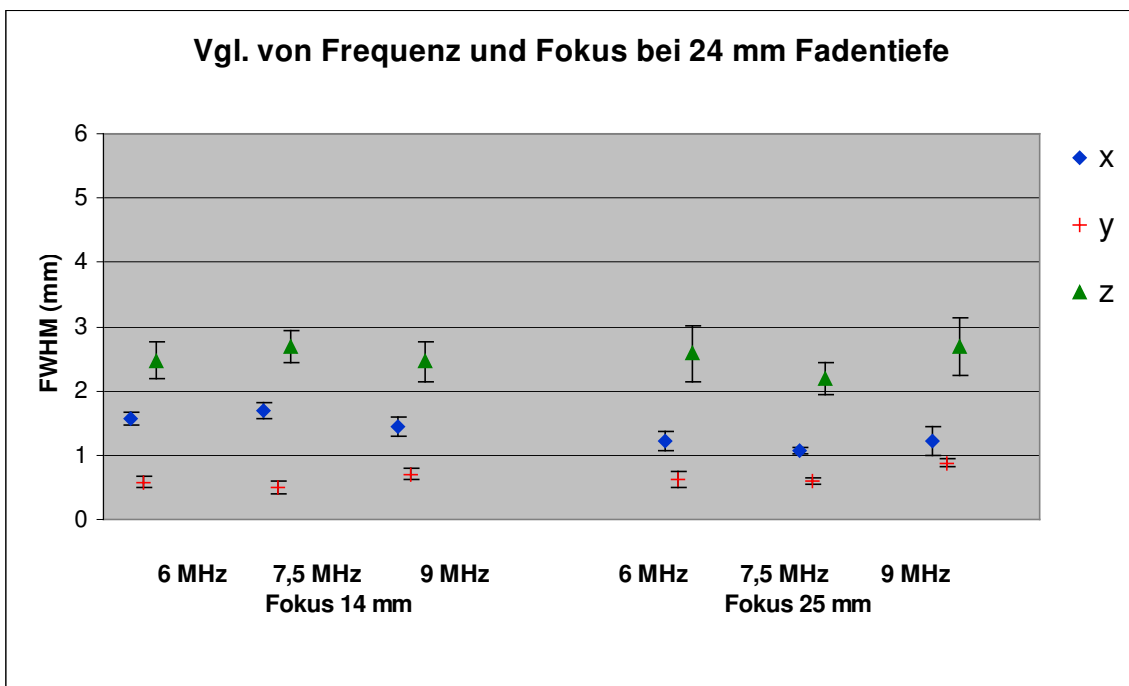


Abb.3.9: Einfluss von Frequenz und Fokus des Ultraschallgeräts auf die Auflösung bei einem Abstand von 24 mm zum Schallkopf

3.2 3D-Ultraschall an Kleintieren

3.2.1 Etabliertes Protokoll zur Ganzkörper-3D-Bildgebung

Ein weiteres Ziel der Arbeit war die Entwicklung eines standardisierten Versuchsaufbaus und Erstellung Protokolls zur Ganzkörper-3D-Bildgebung (Abb. 3.10). Hierzu wurde ein Protokollblatt (siehe Anhang) entworfen, das alle notwendigen Parameter enthält und eine saubere Dokumentation ermöglicht. Die eigentliche Ultraschalluntersuchung des Versuchstiers im Wasserbad dauert nur etwa 30 bis 60 Sekunden. Zuvor wird das Wasser mittels Heizplatte auf 36 – 37°C erwärmt, das Versuchstier wird unter der Wärmelampe auf dem Tierhalter mit Atemmaske in Inhalationsanästhesie befestigt. Die PET-Untersuchung sollte vor dem Ultraschall durchgeführt werden, da das nasse Versuchstier nach dem Ultraschall im Wasserbad vom Tierhalter genommen und getrocknet werden muss, um ein Auskühlen zu vermeiden.

Auf dem Tierhalter gelagert wird das Versuchstier ins Wasserbad gelassen. Der Tierhalter wird mit der Schallkopfführung in fixierter Position verbunden. Nun wird mit dem Schallkopf, der an die 3D-Hardware gebunden ist, eine definierte Strecke über der Maus abgefahren und als Bildfolge mit dazugehörigen Positions- und Winkeldaten gespeichert. Die Versuchsdauer für das Tier im Wasserbad beträgt ca. 30-60 Sekunden, die Nachverarbeitung benötigt einige Minuten.

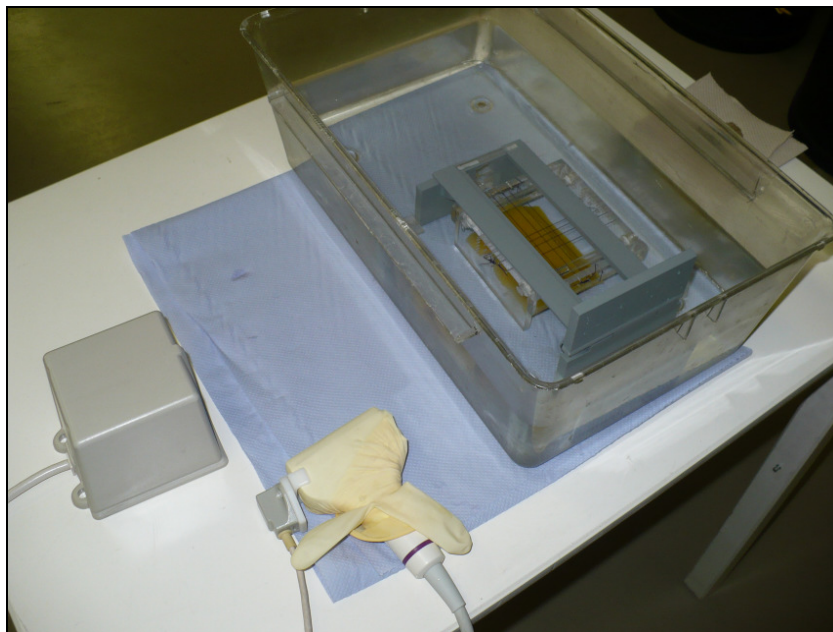


Abb. 3.10: Ultraschall-Versuchsaufbau: Der Tierhalter mit Versuchstier kann nach dem PET direkt in das Wasserbad versenkt werden, um den 3D-Ultraschall durchzuführen

Die Aufnahmen sollten in standardisierten Formaten für die weitere Verarbeitungen bzw. Koregistrierung zur Verfügung stehen. Dazu wurde der 3D-Datensatz in ein DICOM-Format konvertiert und in die Software Amide überspielt (Abb. 3.11).

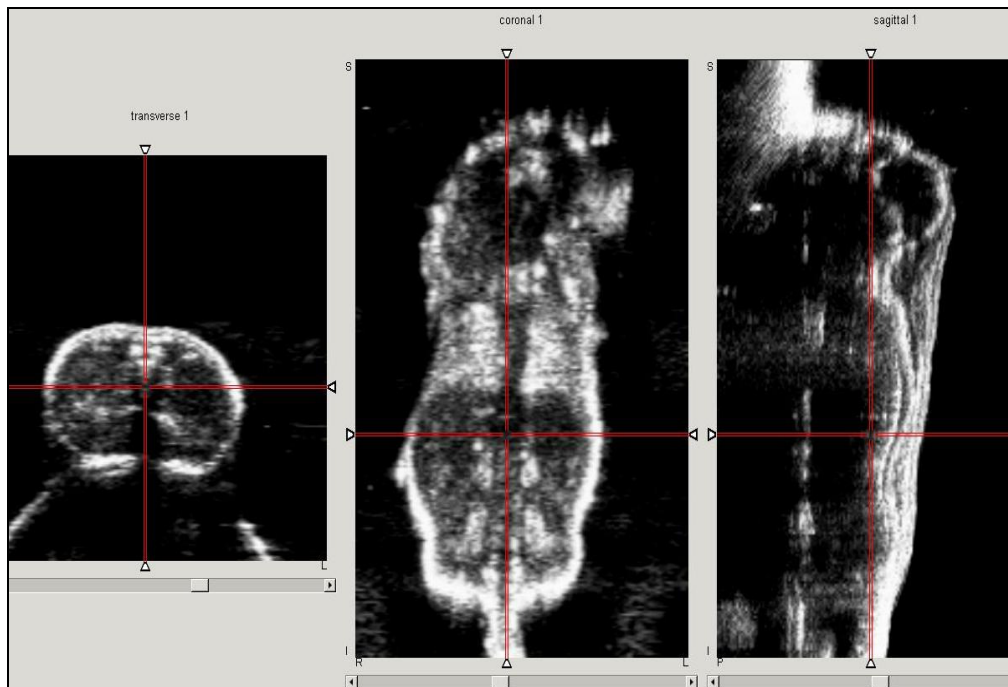


Abb. 3.11: 3D-US-Datensatz mit tomographischer Darstellung der Ebenen transversal , coronar und sagittal

3.2.2 Evaluation anhand von Volumenberechnungen

Das zuvor entwickelte standardisierte Verfahren zur 3D-Ultraschallbildgebung an Kleintieren sollte anhand von Volumenberechnungen validiert werden. Die Abbildungen (Abb. 3.12-14) zeigen durchgeführte Segmentierungen von Leber, Niere und Tumor. Für die Berechnung des Lebervolumens wurde aufgrund der komplexen Form und schweren Abgrenzbarkeit besonders in sagittalen und coronaren Schnitten die Segmentierung der einzelnen Schichten in transversalen Schnitten durchgeführt, die Niere wurde mittels MVA volumetriert und für die Tumoren kamen beide Verfahren zur Anwendung.

Abbildung 3.12 zeigt einen transversalen und sagittalen Schnitt durch die in Rückenlage auf dem Tierhalter befestigte und mit Atemmaske versorgte Maus. Das zuvor in einzelnen transversalen Schnitten manuell segmentierte Organ wird zu einem Volumen rekonstruiert und lässt sich im 3D-Programm farblich markieren.

Zur Durchführung der MVA muss eine Rotationsachse definiert werden, hieraus werden die rotierenden Organschnitte von der Software unter Angabe der erwünschten Winkelabstände dieser Schnitte rekonstruiert (Abb. 3.13).

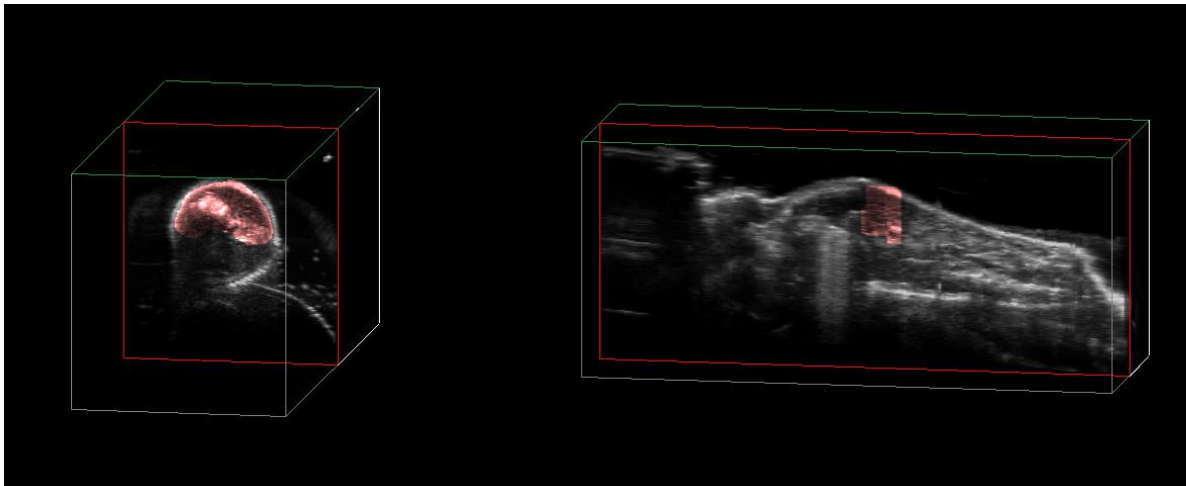


Abb. 3.12: Segmentierung und Volumetrie der Leber

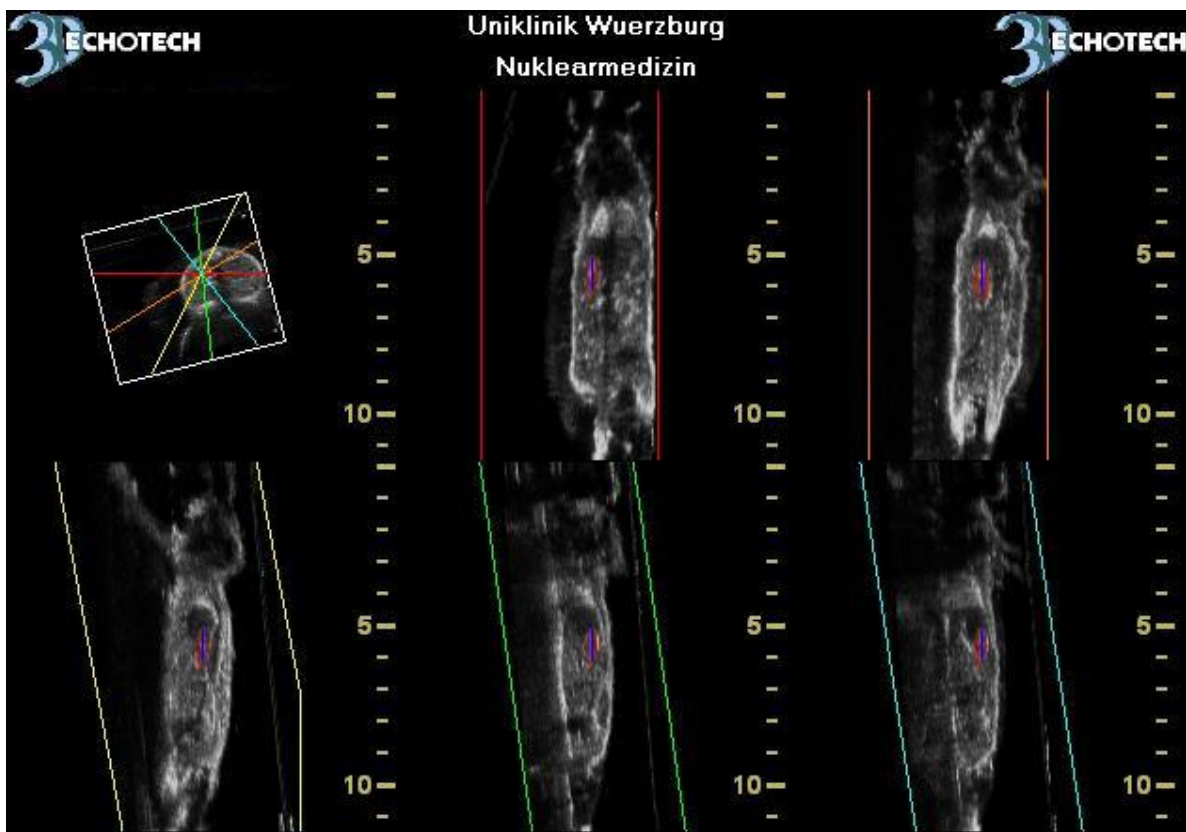


Abb. 3.13: Ebenen im gleichmäßigen Winkelabstand um eine definierte Rotationsachse zur Volumetrie der rechten Niere mittels MVA

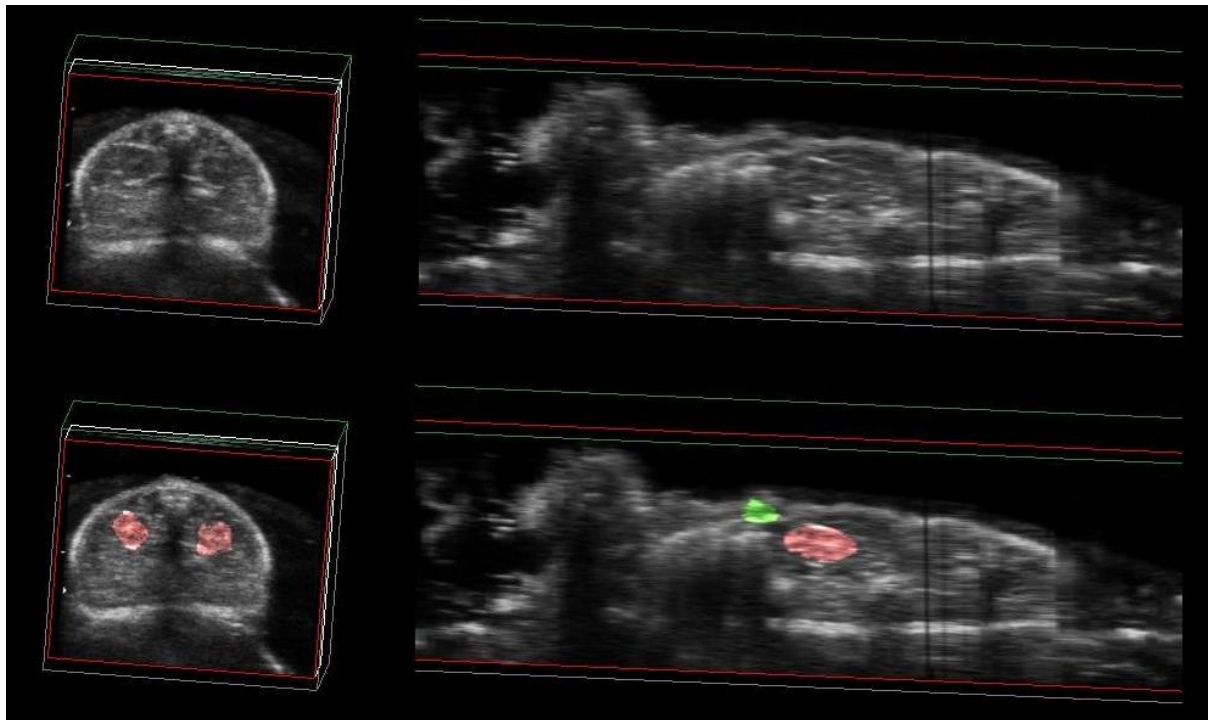


Abb. 3.14: Quer- und Längsschnitt mit Markierung der Nieren (rot) und des Tumors (grün)

In Abbildung 3.14 ist das Versuchstier in Bauchlage auf dem Tierhalter befestigt, um im Nahbereich eine optimale Darstellung der Nieren und der am Rücken implantierten Tumoren zu erhalten. Diese kleinen Strukturen lassen sich sowohl in der transversalen als auch in der rekonstruierten sagittalen Ebene gut darstellen bzw. abgrenzen.

Tabelle 3.6 zeigt die Ergebnisse der Volumetrie mittels 3D-Ultraschall, welche an drei unabhängigen Aufnahmen je Organ ($n=3$) durchgeführt wurden, und die zum Vergleich gewonnenen Messwerte mittels Goldstandard. Als Goldstandard wurde das Organ post mortem entnommen und gewogen, das Organgewicht wurde mit dem spezifischen Gewicht für Weichteilgewebe (annähernd $\rho=1,00 \text{ g/cm}^3$) multipliziert, um das Volumen zu berechnen. Außerdem werden absolute und relative Differenzen der Messwerte aus der 3D-US-Volumetrie zu den Ergebnissen des Goldstandards dargestellt.

Die relativen Differenzen stehen in Abhängigkeit zur Größe der untersuchten Volumina. Die untersuchten Volumina lassen sich grob betrachtet in drei Größenordnungen einteilen: ein Volumen um 50 mm^3 (0,05 ml), drei Volumina um 150 mm^3 (0,15 ml) und vier um 1200 mm^3 (1,2 ml). Bei den größeren Volumina beträgt die relative Differenz mit einer Ausnahme $\leq 0,15$. In dieser Gruppe zeigt nur „Leber 1“ eine deutliche Überschätzung des Volumens von 29 Prozent, was später noch diskutiert wird (Kapitel 4.2.2). In der Gruppe der mittleren

Volumina ist die relative Differenz der Messwerte zum Goldstandard mit 0,2 – 0,3 höher. Das Ergebnis zu „Tumor 3“, der mit 33 mm³ sehr klein ist, zeigt, dass bei diesem geringen Volumen die Grenze der Einsatzfähigkeit des Systems überschritten ist, das Volumen wird zu 112 Prozent überschätzt.

Die 3D-US-Volumetrie korreliert gut mit den durch Goldstandard ermittelten Werten (Korrelationskoeffizient $r = 0,98$), wodurch ein linearen Zusammenhang gezeigt wird. Der Korrelationskoeffizient ist stark abhängig von den großen Messwerten und kann den Vergleich einzelner Messpaare nicht darstellen. Daher werden die Daten mit Hilfe eines Bland-Altman-Plots verglichen (Abb. 3.15).

Bei zunehmenden Organvolumina zeigt sich ein Trend zu abnehmenden relativen Differenzen. Der positive Mittelwert (MW) drückt eine mittlere Überschätzung des Volumens von 13 Prozent bei der 3D-Berechnung aus. Innerhalb des Bereiches von $\pm 1,96 \cdot SD$ um den Mittelwert sind 95 Prozent der Messwerte unter Annahme einer Normalverteilung zu finden, dieser Intervall wird als Konfidenzintervall ($CI = MW \pm 1,96 \cdot SD$) bezeichnet. Unter Berücksichtigung aller Organvolumina ist der Konfidenzintervall sehr groß ($CI = 0,13 \pm 0,82$), bei ausschließlicher Betrachtung von Volumina über 500 mm³ deutlich kleiner ($CI = 0,06 \pm 0,31$).

Volumetrie 3D – Ultraschall					
Organ	Modalität	Ultraschall (mm ³) MW \pm STABW (n=3)	Goldstandard (mm ³)	absolute Differenz	relative Differenz
Leber 1	Segmentierung	1462 \pm 57	1130	332	0,29
Leber 2	Segmentierung	968 \pm 201	1020	-52	-0,05
Leber 3	Segmentierung	1053 \pm 95	1050	3	0,00
Leber 4	Segmentierung	1007 \pm 168	1100	-93	-0,08
Tumor 1	Segmentierung	158 \pm 32	130	28	0,22
Tumor 2	Segmentierung	1754 \pm 58	1530	224	0,15
Tumor 3	MVA	49 \pm 8	23	26	1,12
Niere 1	MVA	133 \pm 5	182	-49	-0,27
Niere 2	MVA	165 \pm 24	214	-49	-0,23

Tab. 3.6: Volumetrie verschiedener Strukturen mittels Segmentierung und MVA

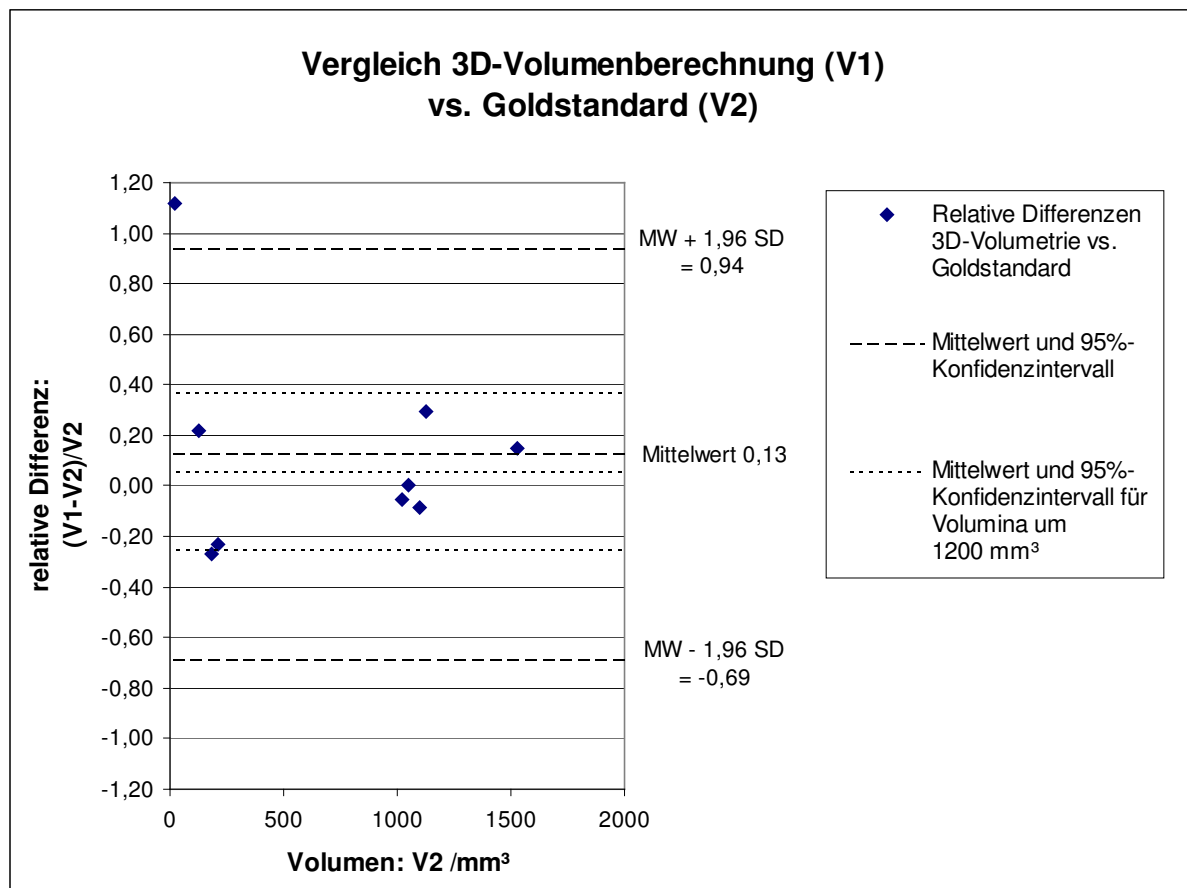


Abb. 3.15: Relative Differenzen der Messmethoden bei unterschiedlichen Volumina

Die relative Standardabweichung (=Variationskoeffizient VarK) der Volumenberechnung der Leber aus je drei Aufnahmen variiert erheblich zwischen den verschiedenen Versuchstieren mit VarK = 3 % bei „Leber 1“ bis VarK = 21 % bei „Leber 2“. Im Vergleich dazu ist die relative Standardabweichung bei einem Tumor vergleichbaren Volumens („Tumor 2“) mit VarK = 3% deutlich geringer (Tab. 3.6). Auf diese Ergebnisse wird in der Diskussion weiter eingegangen.

3.3 Koregistrierung und Bildfusion von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen

3.3.1 Tierhalter

Als Oberfläche für den Tierhalter wurde eine konkave und eine konvexe Form untersucht. Wie zuvor schon theoretisch überlegt zeigte sich ein Vorteil für die konvexe Form, da die am Tierhalter reflektierten Schallwellen nach lateral gelenkt werden und so kaum Reflexionsartefakte entstehen können (Abb. 3.16-17).

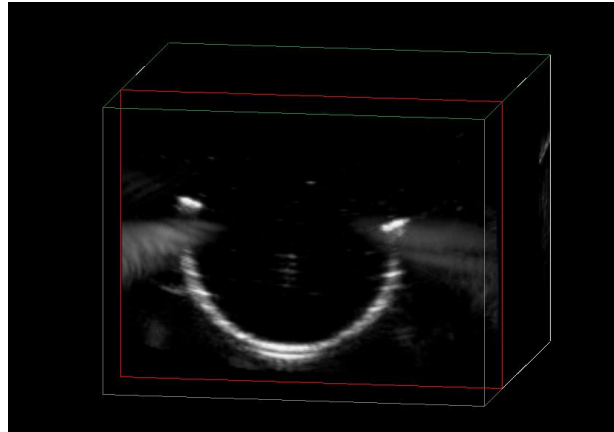


Abb. 3.16: Artefakte im Ultraschall, besonders in der ROI (region of interest) bei Verwendung eines konkaven Tierhalters

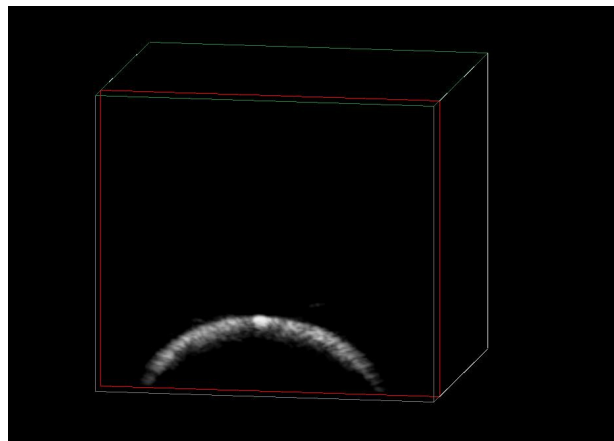


Abb. 3.17: Konvexer Tierhalter ohne Ausbildung von Artefakten

Nachdem die Ergebnisse für den konvexen Tierhalter im Ultraschall zufriedenstellend waren, sollte das Material auf seine Versuchstauglichkeit im PET geprüft werden. Als Material wurde Polyethylen (PE), ein durch Polymerisation von Ethen hergestellter Kunststoff, untersucht. Hierzu wurde eine für PET übliche Radionuklidprobe sowohl mit als auch ohne Tierhalter gemessen und die Dichte der registrierten Koinzidenzen verglichen. Durch den Tierhalter wurde für übliche Untersuchungsmodalitäten keine wesentliche Schwächung des Signals festgestellt (Abb. 3.18). Abbildung 3.19 zeigt den entwickelten Tierhalter mit Maus unter der Infrarot-Wärmelampe kurz vor Beginn einer PET-Messung.

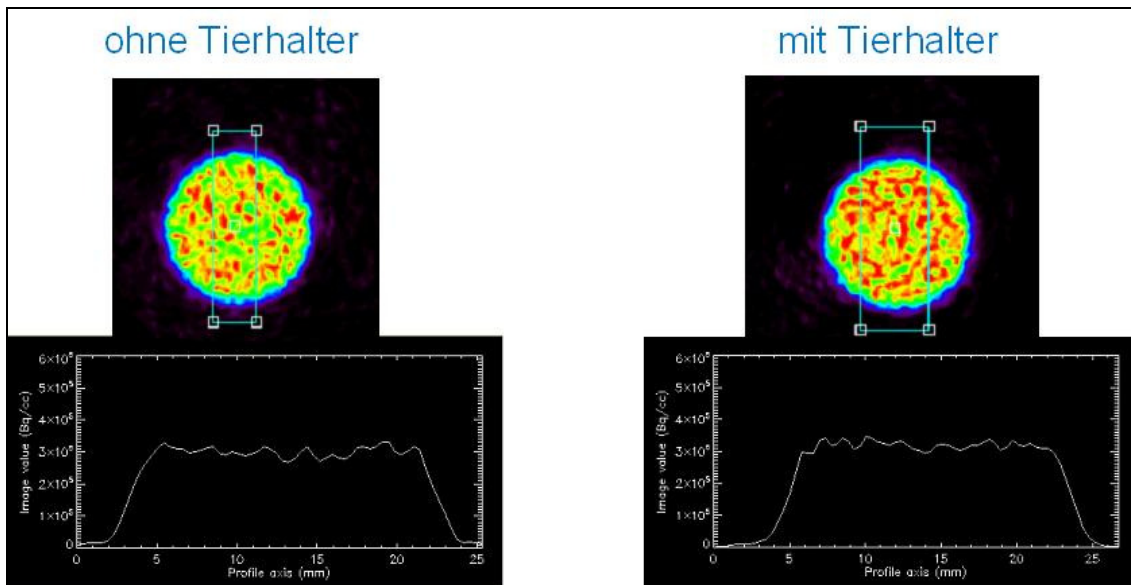


Abb. 3.18: PET-Aufnahme eine Radionuklidprobe mit und ohne Tierhalter: Die Schwächung des verwendeten konvexen Tierhalters aus PE ist sehr gering.

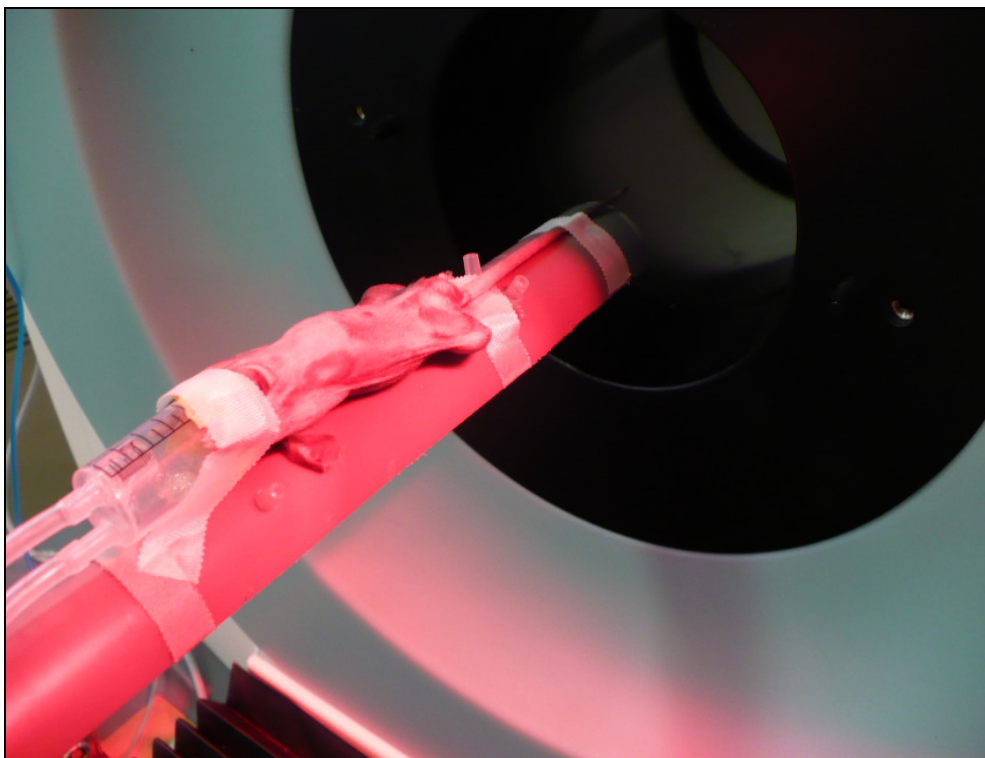


Abb.3.19: Maus unter der Wärmelampe auf dem Tierhalter am PET

3.3.2 Koregistrierung

Bei der halbautomatischen Koregistrierung der Datensätze aus 3D-US und PET kamen kleine Plastikspitzen als „fiducial markers“ zum Einsatz, die auf dem Tierhalter fest angebracht wurden (Abb. 3.20). Insgesamt wurden drei Plastikspitzen auf dem Tierhalter angebracht, eine neben der Atemmaske, zwei in dem Bereich, an dem die Hinterläufe des Tieres zum liegen kommen. Die „fiducial markers“ liegen nicht auf einer gemeinsamen Geraden und so definieren ihre Koordinaten die Position des Tierhalters im Raum. Die halbautomatische Koregistrierung ermöglicht die Bildfusion durch vom Untersuchungsobjekt unabhängigen Markern, diese müssen allerdings noch visuell durch den Untersucher detektiert werden, da bisher kein Algorithmus für die vollautomatische Erkennung dieser Marker existiert.

Da der starr mit dem PET-Gerät verbundene Tierhalter immer in die exakt gleiche Position gefahren werden kann, wurde die Lage des Tierhalters bzw. der darauf angebrachten Plastikspitzen im PET einmalig mittels einer 40-minütigen Transmissionsmessung bestimmt. Die Schwächung des eingesetzten Tierhalters im PET ist zwar für die Countstatistik und damit die Qualität der Aufnahme ohne Bedeutung, doch bei entsprechend langer Transmissionsmessung ist der Tierhalter mit den drei als „fiducial markers“ eingesetzten Plastikspitzen und der Atemmaske gut zu erkennen (Abb. 3.21). Die Transmissionsmessung wurde mit einer Nuklidquelle (Cs-137) durchgeführt und erzeugt Schnittbildinformationen, ähnlich dem Prinzip der CT. Sie dient eigentlich nur der Schwächungskorrektur, kann aber auch Form und Lage des die Emission „schwächenden“ Materials darstellen. Die Darstellbarkeit der „fiducial markers“ im 3D-Ultraschall wird in Abbildung 3.22 gezeigt.

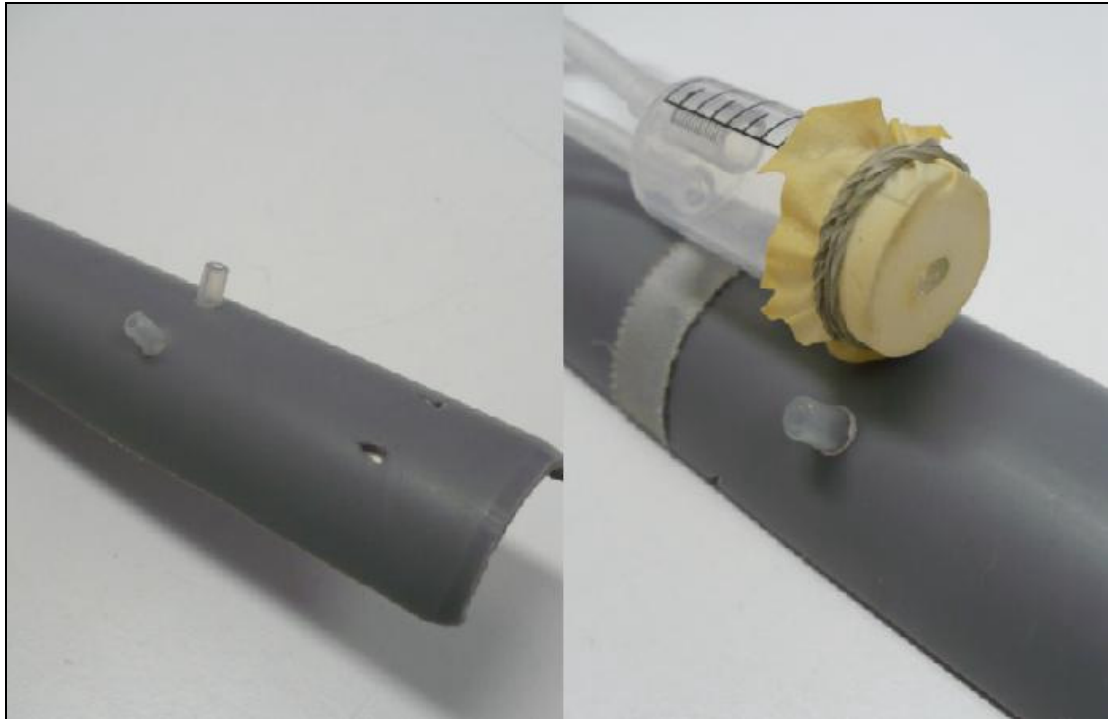


Abb. 3.20: Drei „fiducial markers“ auf dem Ultraschallbett ermöglichen die Erfassung der Bettposition im 3D-US-Datensatz

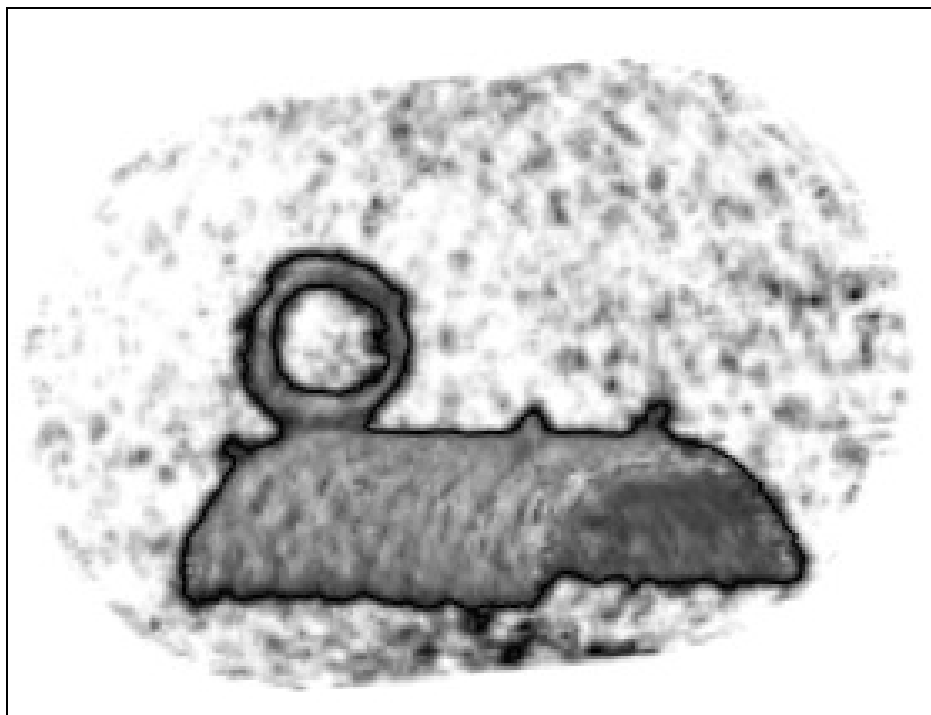
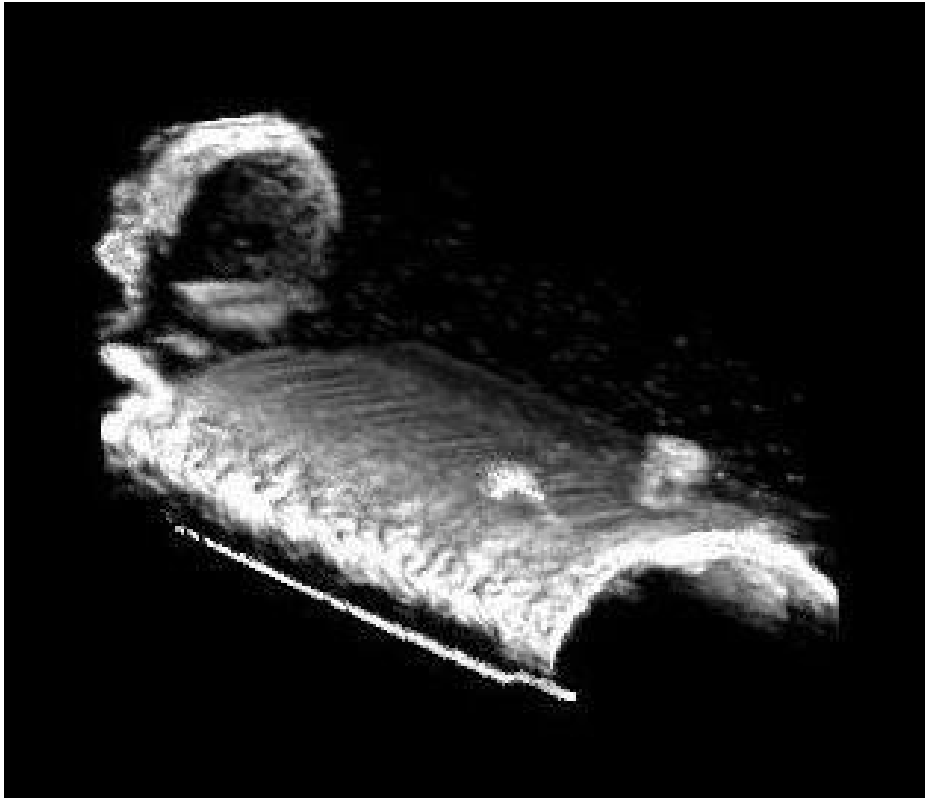


Abb. 3.21: Rekonstruktion des Tierhalters aus den Daten der Transmissionsmessung im PET



*Abb. 3.22: Aufnahme des Tierhalters
mittels 3D-Ultraschall*

3.3.3 Bildfusion

Neben der Übertragung der 3D-US- und PET-Datensätze in die Software Amide wurde gleichzeitig der Datensatz der Transmissionsmessung in die Software übertragen. Da die Datensätze aus der PET-Funktionsbildgebung und der PET-Transmissionsmessung gleiche Position und Lage besitzen, können durch manuelle Fusion der „fiducial markers“ aus Transmissionsmessung und 3D-US gleichzeitig auch PET- und 3D-US-Daten fusioniert werden. Abbildung 3.23 zeigt die praktische Durchführung der Bildfusion. Position und Lage nur des Ultraschall-Datensatzes werden so justiert, dass die „fiducial markers“ in allen Ebenen mit den „fiducial markers“ der Transmissionsmessung fusionieren.

Am Beispiel des PET – 3D-US eines Studienendpunkttieres mit zwei Hauttumoren am Rücken wird die Bildfusion gezeigt. Die durchgeführte PET zeigt einen erhöhten Glukosemetabolismus in verschiedenen Regionen des Körpers (Abb. 3.24). Der im Anschluss ohne Veränderung der Lagerung durchgeführte 3D-US ermöglicht Aussagen zur Morphologie (Abb. 3.25). Durch die Darstellung der „fiducial markers“ können die Datensätze in einer „Triple-Fusion“ von 3D-US, PET-Transmissionsmessung und FDG-PET korrekt

fusioniert werden (Abb. 3.26). Durch Ausblendung des Transmissionsdatensatzes erhält man nun den erwünschten fusionierten Datensatz aus PET und 3D-US (Abb. 3.27). Die im coronaren Schnitt sichtbaren Regionen mit erhöhtem Glukosemetabolismus lassen sich zu den beiden Hauttumoren, dem Herz und den beiden Nieren zuordnen. Die beiden Tumoren entsprechen den Tumoren 1 und 2 aus dem vorangegangenen Kapitel 3.2.2 (Evaluation anhand von Volumenberechnungen).

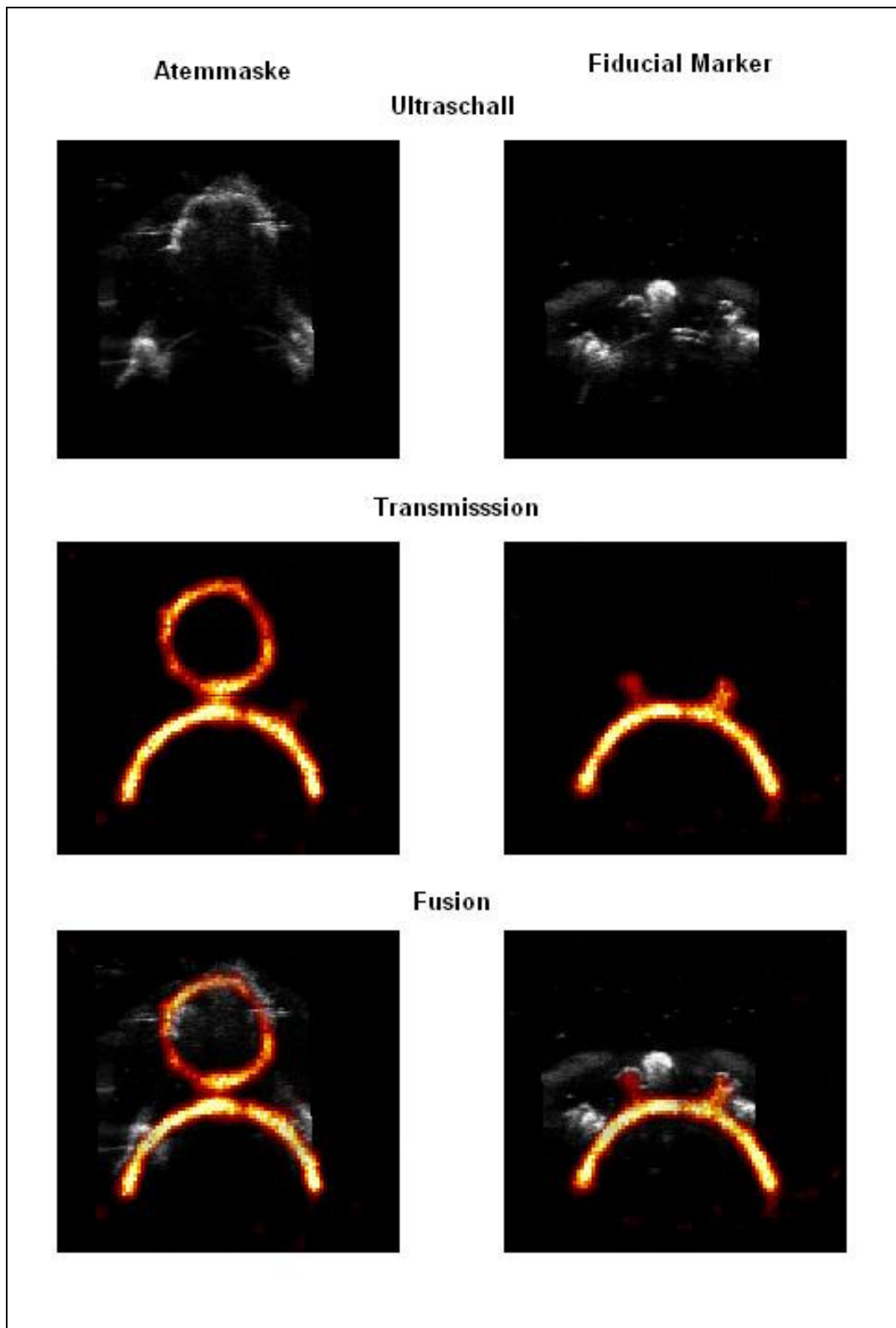


Abb. 3.23: Bildfusion mit Hilfe der „fiducial markers“ aus Datensätzen von 3D-US und PET-Transmissionsmessung

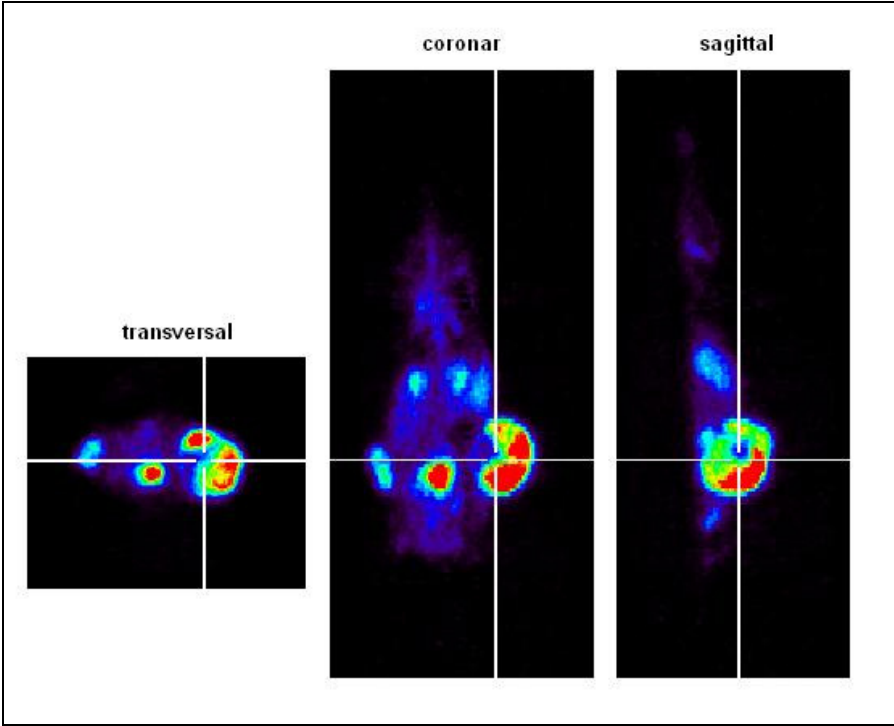


Abb. 3.24: Molekulare Bildgebung (Glukosemetabolismus) mittels FDG-PET

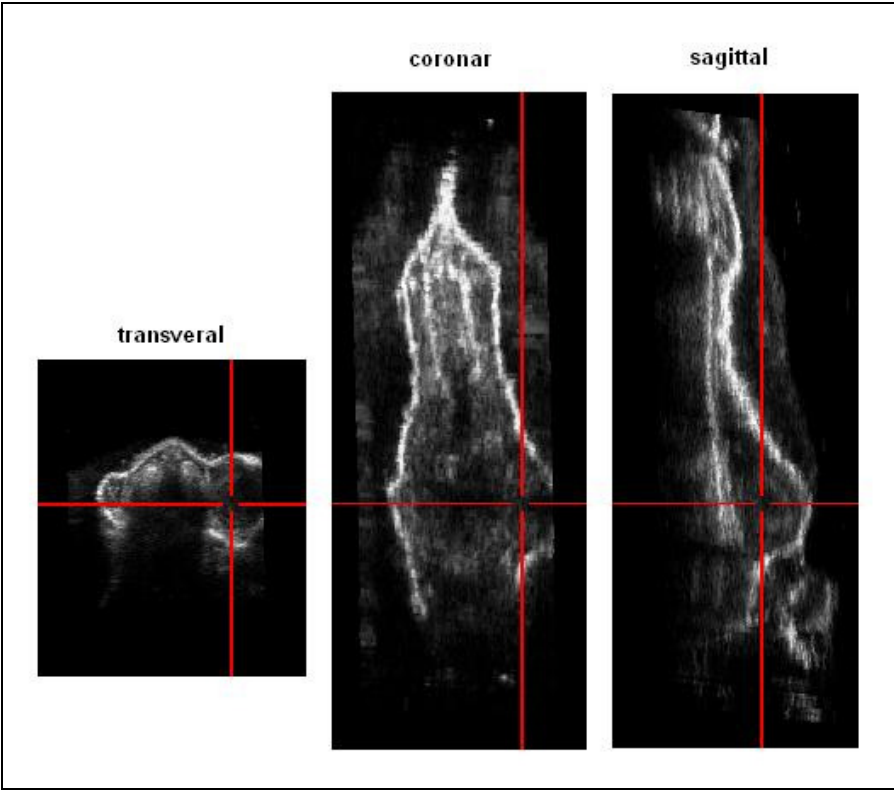


Abb. 3.25: Darstellung der Morphologie mittels 3D-US

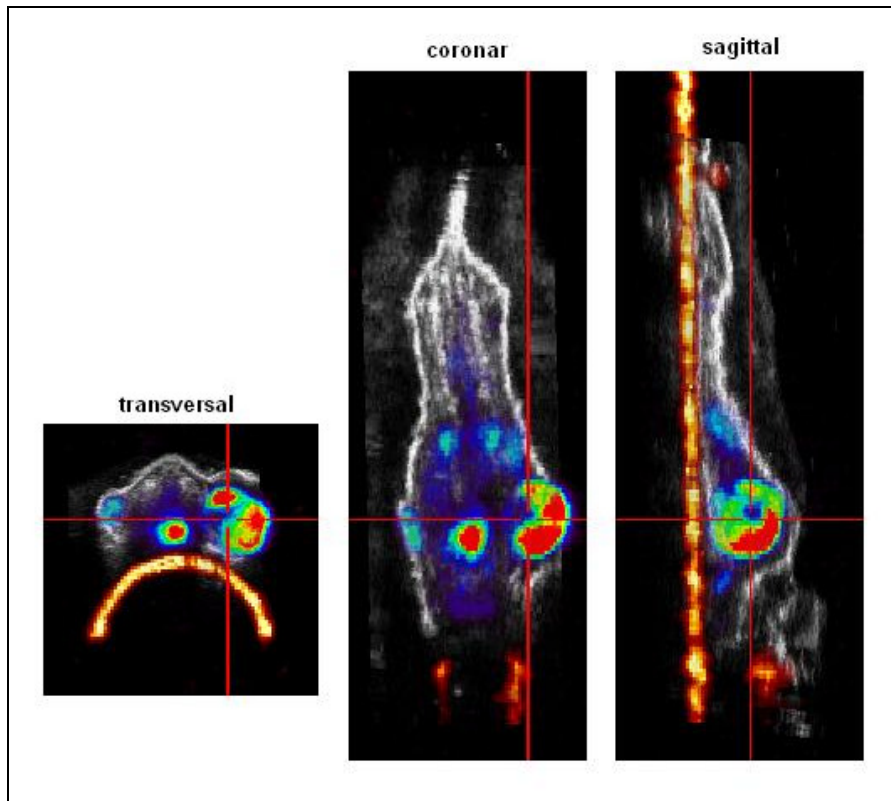


Abb. 3.26: „Triple-Fusion“ von 3D-US, PET-Transmissionsmessung und FDG-PET

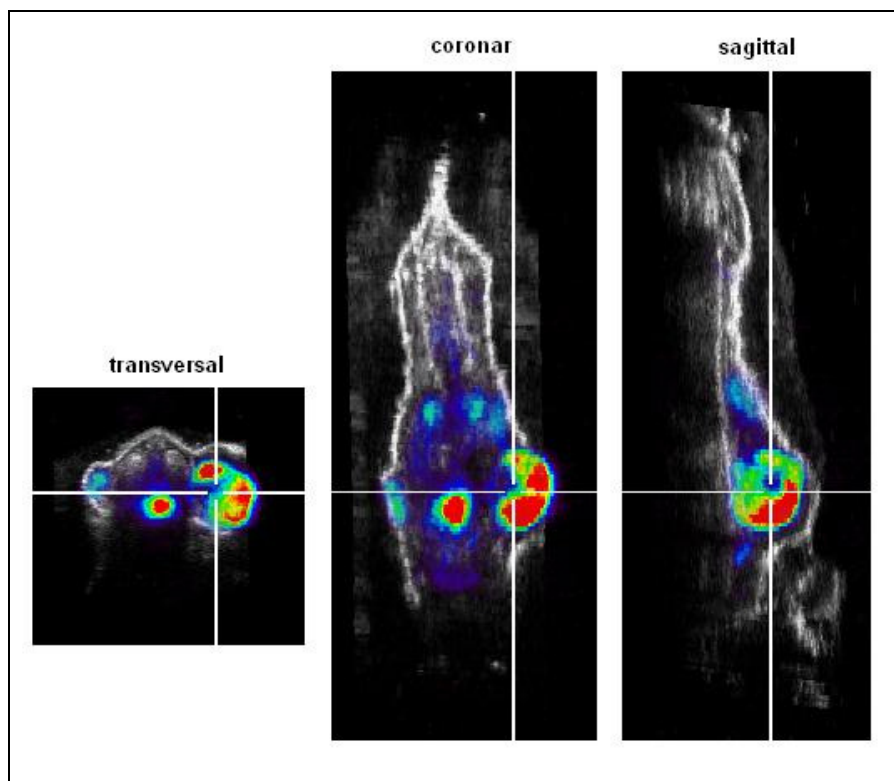


Abb. 3.27: Ausblendung der PET-Transmissionsmessung

4 Diskussion

4.1 Bildoptimierung am Modell

Erstes Ziel der vorliegenden Arbeit war die Optimierung der 3D-Ultraschall-Bildgebung mit Hilfe eines Modells und quantifizierbarer Qualitätskriterien. Dafür war es notwendig, einen geeigneten Prüfkörper zu entwickeln, um die Auflösung sowohl qualitativ als auch quantitativ besser beurteilen zu können.

Der Prüfkörper sollte möglichst feine Strukturen haben, um die Darstellbarkeit kleinster Strukturen zu zeigen, außerdem sollten diese feinen Strukturen in verschiedenen Achsen beurteilbar sein, weil aus vorherigen Versuchen eine solche Differenzierung notwendig erschien.

Um die Auflösung nun quantifizieren zu können, war neben der feinen Struktur des Prüfkörpers noch die Auswahl eines geeigneten Messverfahrens notwendig. Parallel zur Bestimmung der Systemauflösung bei PET und SPECT mittels Halbwertsbreite (FWHM) anhand von Linienquellen wurde die Halbwertsbreite der Fadensignale bestimmt (Krause, Buck et al. 2007). Auch im 3D-US wurde die Halbwertsbreite eines Fadensignals schon als Maß für die Ortsauflösung eingesetzt (Tong, Downey et al. 1996). In der vorliegenden Arbeit erwies sich FWHM als ein gut objektivierbarer Parameter und damit geeignetes Maß für die Bestimmung der Auflösung.

4.1.1 Fadenphantom

Der Einsatz von Fadenphantomen für die Überprüfung von Distanzmessungen und zur Bestimmung der Auflösung im 3D-Datensatz ist anerkannt (Tong, Downey et al. 1996; Berg, Torp et al. 2000; Schlögl, Werner et al. 2001). Das nun entwickelte Fadenphantom erlaubt mittels Bestimmung von Linienprofilen im Querschnitt der Fäden eine schnelle und einfache Quantifizierung der Auflösung in den drei Achsen des Raumes und in verschiedenen Schalltiefen. Auch die subjektive Betrachtung in der 3D-Rekonstruktion erlaubt einen schnellen Überblick über die Qualität der Auflösung (Abb. 4.1). Dies bietet eine hervorragende Möglichkeit, die Tauglichkeit von Ultraschallgeräten für den Einsatz im 3D-Bereich zu beurteilen.

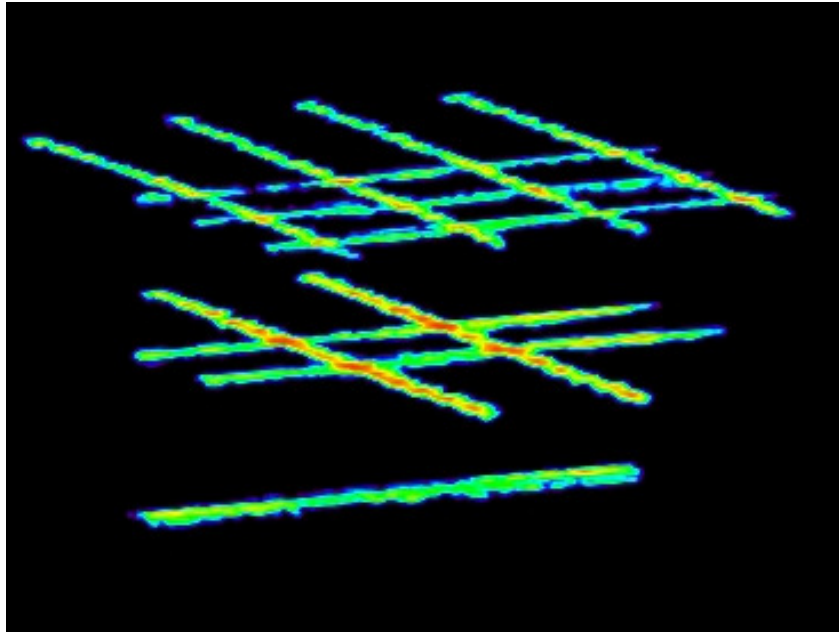


Abb. 4.1: Entwickeltes Fadenphantom in der 3D-Rekonstruktion, Aufnahme mit dem Ultraschallgerät Sonoline G50®

Mögliche Schwächen, die bei der B-Bildgebung nicht relevant sind, können durch jeweils voneinander unabhängige Betrachtung der Achsen aufgedeckt werden. Gerade die senkrecht zum B-Bild eines üblichen Ultraschallschnittes stehende z-Achse ist bei der 3D-Bildgebung von besonderem Interesse und kann unabhängig von den beiden anderen Achsen untersucht werden.

Hier zeigt sich auch die Überlegenheit des Fadenphantoms gegenüber den oft verwendeten Volumenmodellen. Diese sind zwar durch die Volumenberechnung und den Vergleich zwischen 3D-Berechnung und Volumetrie z. B. nach dem Archimedes-Prinzip praxisnäher, jedoch erlauben die meist einfacheren Konturen, gleichmäßigeren Echotexturen und höheren Impedanzsprüngen von Modellen im Vergleich zu organischem Gewebe eine leichtere Abgrenzung und erzielen damit eher gute Ergebnisse. Unterschiede zwischen einzelnen Ultraschallgeräten und -Einstellungen ließen sich damit jedoch nicht quantifizieren. Diese Unterschiede zu kennen und die Einstellungen danach zu optimieren ist gerade dann von besonderem Interesse, wenn die Größe der zu untersuchenden Organe an der Grenze der mit der zur Verfügung stehenden Hardware erreichbaren Auflösung liegen.

Mit Hilfe des entwickelten Fadenphantoms lassen sich außerdem auch präzise Aussagen über Auflösung im Nah- und Fernbereich des eingesetzten Ultraschallgeräts bzw.

Schallkopfs treffen, wodurch die Einsatzmöglichkeit für die Tiefendarstellung beurteilt werden kann.

Somit eignet sich das Fadenphantom auch zur Qualitätskontrolle von US-Gerät und Schallkopf. Im Zeitraum der Versuche konnten wir nach Defekt und Austausch eines Schallkopfs eine deutliche Verbesserung der Auflösung bei vermeintlich gleicher Hardware feststellen.

4.1.2 Vergleich verschiedener Ultraschall-Geräte

Als Vorversuch zur Bildoptimierung wurden drei verschiedene US-Geräte auf ihre Einsatzfähigkeit für den 3D-Ultraschall untersucht. Hier konnte ohne Quantifizierung der Auflösung mittels FWHM durch visuelle Beurteilung ein deutlicher Unterschied festgestellt werden. Diese deutlichen Unterschiede zeigen, wie wichtig die Auswahl der geeigneten Hardware für den Einsatz in der 3D-Bildgebung ist. Die drei untersuchten US-Geräte sind im klinischen Routineeinsatz der Schilddrüsenmorphologie und 2D-Volumetrie nahezu gleichwertig. Es zeigt sich, dass eine hochwertige 2D-Bildgebung nicht auch eine gute 3D-Bildgebung mit derselben Hardware impliziert. Schallköpfe und Geräte sind bei der Entwicklung nicht unbedingt für die 3D-Bildgebung optimiert worden.

4.1.3 Betrachtung der verschiedenen Achsen und Schalltiefen

Durch die Betrachtung der verschiedenen Achsen wurde deutlich, wie unterschiedlich die Auflösung in den drei Achsen des 3D-Datensatzes ist. Diese Problematik wurde so bisher noch nicht in der zum angewandten 3D-Ultraschall verfügbaren Literatur beschrieben und war insofern zuvor in dieser Form nicht vermutet worden. Auch Tong et al. beschreiben bei ihren Untersuchungen am Fadenphantom mittels Halbwertsbreite (FWHM) nicht die Auflösung in der durch die 3D-Rekonstruktion entstehende z-Achse. Es wird lediglich die axiale (y) und laterale (x) Auflösung des 3D-Datensatzes mit dem B-Bild verglichen (Tong, Downey et al. 1996).

Für die Unterschiede in der Achsen-Auflösung kann folgende Erklärung herangezogen werden: Die höchste Auflösung wird in der y-Achse erreicht, dies ergibt sich aus den physikalischen Grundlagen der Wellentheorie. Die Auflösung in der x-Achse ist physikalisch bedingt geringer und wird neben der Wellenlänge auch von der Form der Schallkeule (durch Zeilendichte und der Fokussierung beeinflusst) bestimmt. Auf diese beiden Achsen sind die Ultraschallgeräte optimiert, da die zum B-Bild orthogonal stehende z-Achse im 2D-Bild keine

Relevanz hat. Beurteilungen von Organ- und Strukturänderungen werden im 2D-Ultraschall immer durch die Wahl eines geeigneten Schnitts innerhalb des 2D-Bildes getroffen.

Im Gegensatz dazu ist eine geringere Auflösung in der z-Achse für den 3D-Ultraschall von großer Bedeutung. Rekonstruierte Schnittebenen außerhalb der B-Bild-Darstellung werden deutlich unschärfer, Organ- oder Strukturgrenzen daher schwerer zu definieren. Durch die geringere Auflösung geben Nachbarstrukturen mit anderem Echomuster ebenfalls ein Echosignal an den Schallkopf zurück, wodurch die eigentliche Amplitudenhöhe, die sich im rekonstruierten Bild als Grauwert darstellt, verfälscht wird. Dies wird am Fadenphantom bei den hohen Impedanzsprüngen zwischen Wasser und Faden deutlich, indem sich der Fadenquerschnitt entlang der z-Achse gestreckt darstellt.

Ein weiterer Erklärungsversuch für die schlechtere Auflösung in der z-Achse könnte die 3D-Aquisition sein. Dies könnte bedingt sein durch die Abweichung bei der Positionsbestimmung des magnetischen Sensor-Transmitter-Systems oder durch verlängerte Bildpersistenz des VHS-Signals, wodurch ein schon in der vorherigen Bildposition empfangenes analoges Bildsignal auf dem Bildschirm verzögert in den Grauwert eingerechnet wird. So würde eine verzögerte und damit fehlerhafte Zuordnung in die digitale Voxelmatrix erfolgen. Dieser Ansatzpunkt spielt jedoch wahrscheinlich eine untergeordnete Rolle, da beim Vergleich verschiedener Ultraschallgeräte ein deutlicher Unterschied in der Auflösung der z-Achse ermittelt werden konnte. Der Einfluss der Modifikation der „Frames per second“ (FPS), also der pro Sekunde digitalisierten Bilder, auf die Auflösung wird an späterer Stelle diskutiert.

Auch bei der Betrachtung der verschiedenen Schalltiefen konnte ein deutlich signifikantes Ergebnis ermittelt werden. Je geringer der Abstand zwischen Schallkopf und Schallobjekt, desto höher die Auflösung. Die untersuchten Schalltiefen (14, 24 und 34 mm) zeigten signifikant unterschiedliche Auflösungen mit $p < 0,019$. Dieses Ergebnis war zu erwarten, denn es ist bekannt, dass mit zunehmender Schalltiefe die Amplitudenhöhe der Reflexionen abnimmt, da die Schallwellen vom Gewebe gestreut und absorbiert werden. Je geringer die Amplitudenhöhe, desto schlechter wird die Auflösung, weil die Grauwertzuordnung zur Amplitudenhöhe unschärfer wird. Dieser Effekt betrifft alle Achsen. Hier ist außerdem zu beachten, dass niedrigere Schallfrequenzen durch geringere Interaktion mit dem Gewebe eine höhere Eindringtiefe haben, worauf später noch einmal eingegangen wird.

Bei der Betrachtung des B-Bildes nimmt die Auflösung in der x-Achse mit zunehmender Tiefe weit stärker ab als in der y-Achse. Dies ist wieder bedingt durch den zusätzlichen

Einfluss der Schallkeule auf die x-Achse. Mit zunehmender Schalltiefe laufen die Wellen auseinander und das Signal wird unschärfer, da Nachbarstrukturen miterfasst werden. Durch den Fokus kann diese Schallkeule für eine bestimmte Tiefe optimiert werden.

Auch die in diesem Kapitel zuvor beschriebenen fehlenden Optimierungen des Schallkopfes auf die z-Achsen-Auflösung wirken sich mit zunehmender Tiefe deutlicher aus, die Schallwellen divergieren mit zunehmendem Abstand vom Schallkopf. Die Schallkeule wird breiter und die Auflösung daher schlechter.

4.1.4 Validierung und Reproduzierbarkeit

Die Validierung der Datenermittlung mittels Berechnung des FWHM-Wertes am Fadenquerschnitt war notwendig, da die Festlegung des Linienprofils nicht vollständig anhand objektiver Parameter durchgeführt werden konnte. Der Vergleich der Ergebnisse zwischen 6 Linienprofilen an jeweils zufällig gewählten Fadenquerschnitten und der erneuten Messung mit 3 Linienprofilen je Querschnitt zeigte, dass die Ergebnisse im Rahmen der Messungenauigkeit aus der gleichen Grundgesamtheit stammen. Durch die dreifache Menge an Linienprofilen (median und zweimal paramedian) sollte eine objektivere Lage des Profils ermittelt werden. Die Ergebnisse lassen aufgrund großer Übereinstimmung eine ausreichende Objektivierung anhand von nur 6 Linienprofilen zu.

Im Weiteren wurde die Reproduzierbarkeit der Aufnahmen untersucht. Hier zeigten sich deutlich unterschiedliche Messergebnisse bei jeweils identischem Versuchsaufbau. Gerade in der z-Achse bei größerem Abstand zum Schallkopf (34 mm Fadentiefe) ist die Streuung der Werte so hoch ($CI = \pm 1,31$ mm), dass die in den folgenden Versuchen ermittelten Daten für diesen Bereich (z-Achse + 34 mm Schalltiefe) keine Aussagekraft haben.

Als Ursache dieser weiten Streuung können verschiedene Möglichkeiten in Betracht gezogen werden:

- a) Ein Grund dafür kann der Rekonstruktionsalgorithmus sein. Entlang der z-Achse wird einer bestimmten Schichtdicke ein aus dem B-Bild übertragener Grauwert zugeordnet. Dies erfolgt bei 12,5 FPS und einer ungefähren Schallkopfbewegung von 3 mm/s in einer Schichtdicke von 0,25 mm. Dies wäre die rein theoretisch maximale Auflösung in der z-Achse bei mechanischer Schallkopfführung. Durch die Freihand-Führung kann dieser Wert trotz Schallkopfführung nicht erreicht werden. So kann bei jeder neuen Aufnahme eine dem Fadenrand entsprechende Schicht noch einen Grauwert annehmen, der der

Fadenechogenität entspricht oder eben gerade nicht mehr diesen Wert annehmen und einen echoarmen Grauwert annehmen.

- b) Durch die bei jeder Aufnahme neue Festlegung der Ebene, die zur Ermittlung der Linienprofile genutzt wird, ist es außerdem möglich, bei Verlassen der exakten Horizontalebene in einem anderen Voxel der Matrix ein artifizielles Echosignal zu bekommen. Dies wirkt sich deutlich auf das Linienprofil und die Halbwertsbreite (FWHM) aus.

4.1.5 Variation der Ultraschallparameter

Hintergrund der Variation der Ultraschallparameter war die Optimierung der Bildgebung anhand der verfügbaren Einstellungen am Ultraschallgerät. Die geringen Unterschiede waren zum größten Teil nicht signifikant. Es zeigen sich lediglich Trends, die interpretiert werden können, jedoch aufgrund der geringen Reproduzierbarkeit (Kapitel 4.1.4) nicht aussagekräftig sind.

Die in Versuch 2 untersuchten Parameter ergaben bei Betrachtung hoher Zeilendichte und 12,5 FPS eine signifikant bessere Auflösung bei geringerer Schallkopfgeschwindigkeit, weitere Ergebnisse waren nicht signifikant. Der Trend einer besseren Auflösung in der z-Achse bei langsamerer Schallkopfführung lässt sich durch die sich ergebende geringere Schichtdicke (in z-Achse) erklären.

Als Schlussfolgerung aus dem zweiten Versuch wurde für weitere Aufnahmen eine mittlere Schallkopfgeschwindigkeit von ca. 3 mm/s und 12,5 FPS festgelegt. Die Schallkopfgeschwindigkeit sollte langsam genug sein, um Artefakte zu minimieren und die Schichtdicke in der z-Achse gering zu halten. Ein Vorteil der höheren Schallkopfgeschwindigkeit und der geringeren Anzahl an „Frames pro Sekunde“ (FPS) ist das kleinere Datenvolumen pro Aufnahme, wodurch eine schnellere Nachverarbeitung und Rekonstruktion möglich ist.

Aus theoretischen Überlegungen einer höheren Auflösung in der x-Achse bei höherer Zeilendichte wurde trotz nicht signifikantem Unterschied für die weiteren Untersuchungen eine hohe Zeilendichte gewählt.

In Versuch 3 wurden Frequenz und Fokus variiert und bei unterschiedlicher Fadentiefe untersucht. Die Modifikation der Frequenz konnte keine signifikanten Unterschiede zeigen.

Ursache hierfür kann der im Vergleich zu anderen Faktoren geringere Einfluss der Frequenz auf die Auflösung am Fadenphantom sein. Nach der Wellentheorie hängt die Auflösung in der y-Achse vor allem von der Frequenz ab. Gerade in dieser Achse zeigt sich experimentell ein dazu konträrer Trend. Die Halbwertsbreite ist bei höherer Frequenz eher höher, man müsste dann von einer geringeren Auflösung ausgehen. Ursächlich hierfür können spezielle Eigenschaften des Fadenphantoms sein mit hohem Impedanzsprung zwischen Schalleitungsmedium und Faden und möglicherweise auch eine frequenzabhängige Schwingungsinduktion des Fadens, welche das Signal verbreitert.

Die Variation des Fokus zeigte erwartungsgemäße Ergebnisse: die höchste Auflösung wird im Bereich des Fokus erreicht. Wie in Kapitel 4.1.3 beschrieben nimmt die Auflösung aber mit zunehmendem Abstand vom Schallkopf deutlich ab. Dies kann in einem begrenzten Nahbereich durch Wahl des geeigneten Fokus kompensiert werden.

Als Schlussfolgerung aus Versuch 3 wurde die zentrale Frequenz des Schallkopfes mit 7,5 MHz für die folgenden Aufnahmen an Kleintieren gewählt, da sich hier tendenziell die besten Bilder zeigten und der Schallkopf für diese Frequenz optimiert erscheint. Tierhalter und Schallkopfführung sollten so konstruiert sein, dass die maximale Schalltiefe unter 30 mm liegt und der Fokus am Übergang zum unteren Drittel der Region of interest (ROI) liegt, um im gesamten Zielbereich eine annähernd gleiche Auflösung zu erhalten.

Insgesamt zeigte die Modifikation einzelner Parameter keine wesentlichen Unterschiede in der Bildqualität, was mit den Eigenschaften des Phantoms erklärt werden kann. Dieses besteht nur aus zwei völlig homogenen Medien deutlich divergierender Echogenität, nämlich Wasser und Faden. In Geweben mit vielschichtigen Echogenitäten allerdings könnten die Modifikationen der Ultraschallparameter die Bildqualität eher beeinflussen.

4.2 3D-Ultraschall an Kleintieren

4.2.1 Etabliertes Protokoll zur Ganzkörper-3D-Bildgebung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein standardisierter Versuchsaufbau zur Ganzkörper-3D-Bildgebung etabliert mit dem Ziel einer sich anschließenden Bildfusion des 3D-US mit nuklearmedizinischen Datensätzen. Hintergrund ist die Möglichkeit zur Kombination von morphologisch und funktionell bildgebenden Verfahren, da die komplementären

Informationen – Anatomie und Metabolismus – sich gut ergänzen und damit eine aussagekräftigere Beurteilung ermöglichen (Beyer, Townsend et al. 2000).

Im Verlauf zeigte die 3D-Ganzkörper-Bildung mittels Ultraschall viele Vorzüge. Im Vergleich zu bisher nur organumschriebenen Datensätzen des 3D-US ist bei diesem Verfahren der ganze Körper des Versuchstiers abgebildet. Auch bei kleinen Mäusen sind Strukturen wie Leber, Nieren, Tumoren, Herz, Blase und Wirbelsäule gut darstellbar. Dies ermöglicht später die vollständige Bildfusion aller Organe, was den Einsatz anstelle einer CT ermöglichen könnte. Außerdem ist der Untersucher-Bias beim 3D-US deutlich geringer als beim konventionellen Ultraschall. Dies ist bei Verlaufsstudien von Interesse, da anhand des Vorbefundes z. B. eine Volumenänderung, im Sinne einer Progression oder Remission, möglichst untersucher-unabhängig beurteilt werden soll.

Im Vergleich zur CT werden die Versuchstiere beim Ultraschall keiner ionisierenden Strahlung ausgesetzt, wodurch gerade beim Einsatz in Verlaufsstudien potenzielle Einflüsse auf Zellteilung und Wachstum, speziell Tumorstadium, vermieden werden können. Die Strahlenbelastung bei der CT ist mit ca. 75 mGy je Untersuchung hoch (Figuroa, Winkelmann et al. 2008). Die fehlende Strahlenexposition ist der wesentliche Vorteil dieses neuen Verfahrens der morphologischen Ganzkörper-3D-Bildgebung mittels Ultraschall. Weitere praktische Vorteile wie reduzierte Untersuchungskosten und leichte Verfügbarkeit wurden schon in Kapitel 1 (Einleitung) beschrieben.

Allerdings bereitete die praktische Umsetzung einige Schwierigkeiten, die im Verlauf aber gelöst werden konnten. Die Schallkopplung stellte hier das wohl größte Problem dar. Zum einen sind die Tiere behaart, durch Lufteinschlüsse im Fell ist die Reflexion auch beim Einsatz von US-Gel so hoch, dass die Schalleindringung in innere Organe nicht möglich ist. Somit mussten die Tiere enthaart werden, was einen erheblichen Zeitaufwand bedeutet, welcher aber beim Einsatz von haarlosen Mäusen entfallen würde.

Aufgrund der im Vergleich zum Schallkopf zierlichen Körperoberflächenkonturen der Versuchstiere wurde die optimale Schallkopplung durch ein Wasserbad, in welchem das mit Atemmaske versorgte Versuchstier auf dem Tierhalter gelagert wurde, ermöglicht. Wasser verfügt über eine gute Schallleitung, und ist im Vergleich zu US-Gel leicht wieder von der Körperoberfläche zu entfernen.

Durch die Inhalationsanästhesie und die damit verbundene verminderte Autothermoregulation besteht für die nur ca. 20 g schweren Versuchstiere, bei einem ungünstigen Verhältnis zwischen Körperoberfläche und Körpermasse, sehr schnell die Gefahr der Auskühlung mit möglicher Folge eines Kreislaufversagens. Dieses Problem konnte durch konstante Temperaturregulation des Wasserbades mit Hilfe einer laborüblichen Heizplatte gelöst werden.

Problematisch bleibt die Beatmung des Versuchstiers im Wasserbad. Es konnte eine relativ wasserdichte Atemmaske mit leichtem Überdruck zur Verhinderung von Wassereinstrom angepasst werden und die nur kurze Zeit im Wasserbad wurde von den Mäusen gut toleriert, doch muss über mögliche Ateminsuffizienz durch erhöhten extrathorakalen Druck und eine mögliche Schädigung der Lunge diskutiert werden. Dies hat bei longitudinalen Studien möglicherweise Einfluss auf den Studienverlauf und -endpunkt.

Die grundsätzlichen physikalischen Schwächen des Ultraschalls, Artefakte und verminderte Schallleitung durch Knochen und Luft, bleiben auch beim 3D-US bestehen. Außerdem ist im Vergleich zur CT die Berechnung der Schwächungskorrektur als Ergänzung zur PET nicht möglich. Beim 3D-US bleibt eine gewisse Subjektivität und Untersucher-Bias erhalten, die zwar höher als bei der CT, aber deutlich geringer als beim klassischen 2D-Ultraschall ist.

4.2.2 Evaluation anhand von Volumenberechnungen

Das entwickelte Aufnahmeverfahren wurde mittels US-Volumetrie evaluiert. Bei Betrachtung der Ergebnisse zeigt sich eine gute Korrelation der 3D-Volumenberechnungen mit den wahren Volumina. Der hohe Korrelationskoeffizient zeigt den linearen Zusammenhang der 3D-US-Volumetrie mit dem Goldstandard und zeigt die prinzipielle Möglichkeit der Volumenberechnung aus dem 3D-Datensatz, lässt aber noch keine Aussagen über mögliche Abweichungen der Messwerte zu den wahren Werten (Goldstandard) zu.

Die Darstellung der relativen Volumen-Differenzen zwischen 3D-US und Goldstandard zeigt einen klaren Trend der Abhängigkeit vom Organvolumen. Die relativen Differenzen nehmen mit zunehmendem Organ- oder Tumolvolumen ab und werden bei kleinen Volumina größer. Ein Grund dafür sind die mit der zu Verfügung stehenden Hardware erreichten physikalischen Grenzen der Auflösung für solche kleinen Volumina.

Die 3D-Volumetrie von „Leber 1“ weicht deutlich vom Goldstandard ab. Eine Ursache für diesen Messfehler kann die Atemverschieblichkeit der Leber sein, wodurch deren Abgrenzung nach kranial unscharf und damit schwierig wird. Da die Leber bei Mäusen auf Zwerchfellhöhe nahezu den gesamten Rumpfdurchmesser ausfüllt, haben schon kleine Unterschiede in der kranialen Begrenzung großen Einfluss auf das Gesamtvolumen des Organs.

Hier liegt auch der Erklärungsansatz für die hohe relative Standardabweichung der drei Aufnahmen von „Leber 2“ mit 21 Prozent ($\text{VarK} = 21\%$). Zwischen jedem einzelnen B-Bild während der 3D-Akquisition ändert sich die Atemlage des Zwerchfells, wodurch bei jeder Aufnahme deutlich unterschiedliche Lebervolumina gemessen werden können. Hier könnte in Anlehnung an die Bildgebung mittels micro-CT die Methode einer atemgetriggerten Messung auf den Ultraschall übertragen werden und somit bessere Ergebnisse liefern, da Verwischungsartefakte minimiert würden (Ertel, Kyriakou et al. 2009).

Bei der Betrachtung von Volumina um 1200 mm^3 können diese mit einem Konfidenzintervall von $\text{CI} = 0,06 \pm 0,31$ berechnet werden. Das bedeutet, dass bei der Beurteilung eines Tumorwachstums bzw. einer Remission ab einer Volumenänderung von $+37\%$ bzw. -25% von einer signifikanten Änderung gesprochen werden kann.

Um diesen Daten bewerten zu können, kann man diese mit den im klinischen Gebrauch eingesetzten RECIST-Kriterien (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors) vergleichen. Diese Kriterien dienen zur Beurteilung des Verlaufs einer Tumorerkrankung und des Ansprechens der Therapie, hierbei wird in Remission, Krankheitsstillstand und Progression unterschieden. Für eine Progression wird nach RECIST-Kriterien eine Zunahme des längsten Durchmessers der Läsion um 20% gefordert, für eine partielle Remission eine Abnahme um 30% (Therasse, Eisenhauer et al. 2006; Eisenhauer, Therasse et al. 2009).

Da unter Annahme eines konzentrischen Wachstums eine Durchmesserzunahme um 20% einer Volumenzunahme um ca. 70% und eine Durchmesserabnahme um 30% einer Volumenabnahme um über 50% entspricht, ist der mit der 3D-US-Volumetrie erreichte Konfidenzintervall für Verlaufsbeobachtungen von Tumorerkrankungen akzeptabel. Mit den Vergleichen zum Goldstandard konnte insgesamt gezeigt werden, dass eine gute Berechnung des Volumens möglich ist, auch im Hinblick auf die praktische Anwendbarkeit in der Beurteilung von Progression oder Remission.

4.3 Koregistrierung und Bildfusion von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen

4.3.1 Tierhalter

Ein wesentlicher Baustein für die Realisierung der Bildfusion war die Entwicklung eines zu beiden Untersuchungsmodalitäten kompatiblen Tierhalters, damit das Versuchstier in unveränderter Position während beiden Untersuchungen fixiert werden kann. Nur ohne Notwendigkeit einer Umlagerung kann später eine korrekte Bildfusion aller Organe erfolgen. Für den konvexen Tierhalter aus Polyethylen konnte im 3D-US eine minimale Bildung von Artefakten gezeigt werden, auch im PET entstand keine wesentliche Schwächung des Signals.

Die konvexe Form des Tierhalter bedingt eine gute Fixierung des Versuchstiers. Beim Transfer des Tierhalters vom PET in das US-Wasserbecken muss ein Kippen des Tierhalters vermieden werden, um die unveränderte Position des Tieres zu gewährleisten. Eine zusätzliche seitliche Fixierung des Tieres würde Artefakte ausbilden.

In nachfolgenden Untersuchungen könnte eine verbesserte Fixierung oder die Modifikation des Tierhalters eine weitere Standardisierung in der Durchführung der Koregistrierung von PET und 3D-US erbringen.

4.3.2 Koregistrierung

Letztes Ziel der vorliegenden Arbeit sollte die Realisierung der Koregistrierung und Bildfusion von 3D-US und PET in Anlehnung an die multimodale microPET-CT-Bildgebung sein (Jan, Chuang et al. 2005). Erste Versuche zur Koregistrierung von 3D-US und PET waren schon in einigen wenigen Arbeiten gezeigt worden (Lang, Hermann et al. 2007; Liao, Chen et al. 2007), nun sollte aber erstmals ein Ganzkörper-3D-Datensatz zur Koregistrierung verwendet werden.

Die Voraussetzungen hierfür wurden durch die Etablierung des Ganzkörper-3D-Ultraschalls geschaffen. Insgesamt liefert der 3D-Ultraschall aber keinen standardisierten Volumendatensatz wie eine CT, somit ist eine vollautomatische Koregistrierung nicht möglich und es bleibt die Notwendigkeit des Einsatzes von „fiducial markers“, um jeden Ultraschall-Datensatz bei Fusion erneut in die im PET standardisierte Position zu bringen. Durch diese halbautomatische Koregistrierung ist die Bildfusion allein anhand der Marker möglich und

bietet dadurch eine bessere Standardisierung als die manuelle Bildfusion anhand anatomischer Referenzpunkte.

Mit Hilfe von „fiducial markers“, welche in beiden Untersuchungsmodalitäten darstellbar sind, können die Datensätze fusioniert werden. Nur durch den Einsatz einer verlängerten Transmissionsmessung des PET-Gerätes analog zur Schnittbildgebung der CT konnte bei den „fiducial markers“ auf einen Radiotracer verzichtet werden, da der Tierhalter nach einmaliger Transmissionsmessung immer wieder in die selbe Bettposition gefahren werden kann. Drei einfache Plastikspitzen liefern die notwendigen Punkte, um die Lage und Orientierung eines Körpers im Raum fest zu definieren.

Nachteil dieser „fiducial markers“ ist das etwas mühsame Erkennen im 3D-US-Datensatz und der mit ca. 3 mm relativ große Durchmesser, jedoch liegt bei korrektem Auffinden der Marker eine mögliche geringe Abweichung bei der Bildfusion im Submillimeterbereich und ist damit zu vernachlässigen.

Zur Realisierung einer vollautomatischen Bildfusion wäre der Einsatz eines Schrittmotors, der den Schallkopf in immer identischem Winkel und identischem Start- und Zielpunkt über das zu schallende Objekt bewegt, sinnvoll.

4.3.3 Bildfusion

Der Einsatz der multimodalen Bildgebung hält seit wenigen Jahren auch in der klinischen Routine Einzug. Gerade in der Onkologie erlaubt die Kombination bildgebender Verfahren, typischerweise PET und CT eine höhere diagnostische Aussagekraft im Sinne einer höheren Sensitivität und Spezifität für die Diagnose oder den Ausschluss eines malignen Primärprozesses bzw. einer Metastase (Beyer, Townsend et al. 2000; Keidar, Haim et al. 2004).

Auch in präklinischen Mausmodellen wird die multimodale Bildfusion aus Gründen der erhöhten Sensitivität und Spezifität für das Auffinden und Beurteilen der Dignität von Läsionen mittlerweile mehr und mehr eingesetzt (Liang, Yang et al. 2007; von Falck, Rodt et al. 2009).

So war es naheliegend, eine analog zur schon etablierten multimodalen microPET-CT durchführbare Bildfusion von 3D-Ultraschall- und PET-Datensätzen zu entwickeln. Die

vorliegende Arbeit konnte die praktische Durchführbarkeit dieser Bildfusion aus Ganzkörper-3D-US und PET mit Hilfe einer halbautomatischen Koregistrierung zeigen. Die Ergebnisse zeigen, wie sinnvoll eine solche Kombination von morphologischer und funktioneller Bildgebung ist.

Regionen mit erhöhtem Metabolismus (SUV) im PET können durch die Kombination mit dem 3D-US einem morphologischen Korrelat zugeordnet werden. Außerdem kann das Volumen dieser dem erhöhten Uptake entsprechenden Region mittels 3D-US bestimmt werden, wie es am Beispiel von „Tumor 1“ und „Tumor 2“ gezeigt wurde.

So eignet sich das entwickelte Verfahren (PET-3D-US) gut für Verlaufsstudien, da es die nicht-invasive Beurteilung des Tumorwachstums und -Metabolismus erlaubt. Außerdem kann die Entwicklung des Tumorverlaufs auch qualitativ beurteilt werden. So können minderperfundierte und nekrotische Anteile im PET durch einen im Vergleich zum übrigen Tumorgewebe geringeren Uptake (SUV) entdeckt werden. Die Berechnung des Tumolvolumens ist im Ultraschall deutlich genauer als im PET, da zu Beginn des Wachstums das Tumolvolumen aufgrund der geringen räumlichen Auflösung des PET überschätzt wird, und im Verlauf aufgrund von geringerem Uptake bei Minderperfusion und Nekrose unterschätzt wird (Liao, Hwang et al. 2007)

Ein Einsatzbereich des entwickelten Verfahrens in der Forschung könnte bei der Entwicklung und Erprobung neuer Tumorthérapien liegen, indem man mit dem PET-3D-US das Ansprechen eines Tumors auf die Therapie beobachtet und damit schneller die potenziellen Einsatzbereiche definieren kann. Erste Versuche eines solchen „Therapie-Monitorings“ mit Hilfe der multimodalen Bildgebung gibt es sowohl im klinischen als auch im präklinischen Einsatz, bisher meist in der Kombination aus PET und CT (Nahmias, Hanna et al. 2007; Kumar, Kumar et al. 2009; McLarty, Fasih et al. 2009). Im Vergleich zur CT bleiben für den 3D-US die Vorteile der Verfügbarkeit und der fehlenden Strahlenexposition, was gerade bei der hohen kumulativen Strahlendosis durch häufige Untersuchungen im Rahmen des Studienverlaufs von Interesse ist.

Durch die multimodale Bildgebung könnten Wachstumskurven und metabolische Aktivitätskurven für den Tumor erstellt werden, welche als objektive Parameter den Tumorverlauf besser beurteilen lassen. Solche Verlaufskurven mittels PET und Ultraschall wurden ebenfalls schon in präklinischen Modellen gezeigt (Liao, Li et al. 2005).

4.4 Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde der 3D-Ultraschall für die Kleintierbildgebung optimiert, eine standardisierte Versuchsdurchführung etabliert und die Bildfusion mit der PET realisiert. Nach Untersuchung der vorhandenen Schwachstellen gibt es jedoch noch deutliches Potenzial, um die multimodale Bildgebung in Zukunft weiter zu verbessern und zu standardisieren.

Zur Verbesserung der Auflösung im Ultraschall wären für die 3D-Bildgebung optimierte Schallköpfe und höhere Schallfrequenzen, aber mit noch ausreichender Eindringtiefe von 30 mm, notwendig. Außerdem sollte die Möglichkeit zum Tissue Harmonic Imaging (THI) bestehen, um den Gewebekontrast zu verbessern. THI macht sich die Reflexion von Oberwellen zunutze, die mit Hilfe eines Frequenzfilters von den anderen Schallwellen getrennt dargestellt werden können.

Zur Minimierung von Bewegungsartefakten könnten atemgetriggerte Aufnahmen einen Vorteil bringen, Praktikabilität für den 3D-US und mögliche Verbesserung der Auflösung vor allem im Bereich von Herz und Leber müssen allerdings noch untersucht werden.

Von Seiten des Ultraschalls soll noch der Einsatz der Dopplerfunktion untersucht werden, womit die Gewebepfusion respektive die Tumolvaskularisation beurteilt werden kann. Neueste Ultraschallgeräte zur 3D-Bildgebung verfügen bereits über eine solche 3D-Powerdoppler-Funktion. Unter Einbeziehung der Informationen über die Vaskularisation lässt sich die Dignität mit höherer Sensitivität und Spezifität bestimmen.

Zur weiteren Standardisierung der Bildfusion wäre noch die Realisierung der vollautomatischen Koregistrierung erforderlich. Als Grundlage dafür muss ein standardisierter 3D-Datensatz gewonnen werden, was nur durch Einsatz einer starren Schallkopfführung mit Schrittmotor möglich ist.

Zur Optimierung der Weiterverarbeitung der gewonnenen Primärdatensätze wären höhere Rechnerleistungen zur schnelleren Bearbeitung und ein Programm, welches sowohl die Bildfusion unterschiedlicher Datensätze ermöglicht, als auch verschiedene Segmentierungsalgorithmen zur Volumetrie anbietet, wünschenswert.

5 Zusammenfassung

Ultraschall wird seit mehr als 50 Jahren in der Medizin eingesetzt und ist mittlerweile ein unverzichtbares diagnostisches Verfahren. Die Sonografie erlaubt eine nicht-invasive Darstellung der Morphologie und Funktion von Organen in Echtzeit. Eine Erweiterung des klassischen planaren Ultraschalls ist die 3D-Sonografie, die bisher meist nur an Patienten eingesetzt wurde.

In der Kleintierbildgebung dominieren momentan zur morphologischen Bildgebung CT und MR. Die Durchführung einer CT hat eine hohe Strahlenexposition für die Tiere zur Folge; MRT- sowie CT-Bildgebung sind darüber hinaus sehr kostenintensive Verfahren. Daher wurde für die vorliegende Arbeit die Idee entwickelt, die morphologischen Informationen des 3D-Ultraschalls für Untersuchungen an Kleintieren zu verwenden. Darüber hinaus verbessert ein multimodales Konzept mit Fusion von morphologischer und funktioneller Bildgebung die diagnostische Aussagekraft einer Untersuchung, insbesondere auch bei Kleintieren. Deshalb wurden Methoden zur Fusion morphologischer Ultraschallschnittbilder mit funktionaler Bildgebung mittels Kleintier-PET zur multimodalen Bildgebung entwickelt.

Ziel dieser Arbeit war es, den 3D-Ultraschall, durchgeführt mit einem kostengünstigen und leicht verfügbaren klinischen Ultraschallgerät, für die Kleintierbildgebung zu optimieren und eine standardisierte Versuchsdurchführung des 3D-Ganzkörper-Ultraschalls (3D-US) an Mäusen zu entwickeln, um die gewonnenen Datensätze mit im gleichen Versuchsaufbau gewonnenen PET-Datensätzen fusionieren zu können. Der Vorteil des Ultraschalls gegenüber der Kleintier-CT liegt in der fehlenden Strahlenbelastung und der guten Verfügbarkeit, was besonders für Verlaufsstudien von Interesse ist.

Zur Bildoptimierung wurde ein Fadenphantom entwickelt, welches aufgrund der feinen Strukturen die qualitative als auch quantitative Bestimmung der Auflösung ermöglicht. Mit Hilfe von Linienprofilen wurde die Halbwertsbreite des Fadensignals als Maß für die Auflösung bestimmt. Wesentliche Erkenntnis aus dieser Untersuchung war die achsenabhängige stark unterschiedliche Auflösung des 3D-US, außerdem eine deutliche Abnahme der Auflösung bei zunehmendem Abstand zum Schallkopf. Entscheidend war auch die Wahl eines geeigneten Ultraschallgeräts, da nicht jedes Gerät aufgrund seiner gerätetechnischen Eigenschaften für den 3D-Einsatz geeignet ist. Auch die Einstellung des Fokus ist von großer Bedeutung für die Auflösung innerhalb einer Bildregion. Die

Modifikation der übrigen Bildparameter zeigte keine wesentlichen Unterschiede in der Bildqualität, was mit den hohen Impedanzunterschieden zwischen Faden und Wasser erklärt werden kann.

Die Vorarbeiten am Fadenphantom konnten exzellent die Probleme des 3D-Ultraschalls mit der achsenabhängigen Auflösung zeigen und ermöglichten eine schnelle Beurteilung der Bildqualität. Hier bestehen Einsatzmöglichkeiten zur Bewertung verschiedener Ultraschallgeräte bezüglich der Tauglichkeit für 3D-Datenaquisition. Aufgrund der Ergebnisse der Testmessungen verschiedener in der Nuklearmedizin verfügbarer Geräte wurde für die 3D-US-Datenaquirierung an Kleintieren das Gerät Sonoline G50® mit Linearschallkopf (7,5 MHz), ein elektromagnetisches Sensor-Transmitter-System und die 3D-Verarbeitungssoftware FreeScan® ausgewählt.

Zur reproduzierbaren Lagerung von Mäusen wurde ein sowohl für 3D-US als auch für Kleintier-PET geeigneter und kompatibler Tierhalter entwickelt. Es wurden verschiedene Formen und Materialien getestet, die Bilder mit den nach visueller Beurteilung geringsten Artefakten im 3D-US lieferte eine konvexe Auflagefläche aus Polyethylen. Außerdem wurde für die standardisierte Bildgebung eine Schallkopfführung entwickelt, welche die Position des Tierhalters zum Schallkopf eindeutig definiert. Die Maus lag zur Untersuchung auf dem Tierhalter fixiert, mit Inhalationsanästhesie und Sauerstoff über eine Atemmaske versorgt, im angewärmten Wasserbad. Der Zeitaufwand für eine 3D-US-Untersuchung betrug für die Akquisition etwa eine Minute, für die Nachbearbeitung der Daten circa drei Minuten. Die Untersuchung wurde von den Tieren gut toleriert.

Die generierten Ultraschall Datensätze waren von guter Qualität, Strukturen wie Leber, Nieren, Blase, Wirbelsäule und Lunge konnten selbst bei kleinen Mäusen von unter 20 Gramm Körpergewicht gut dargestellt werden. Zur Validierung des 3D-Ultraschalls wurde das Volumen verschiedener Organe und Tumore bestimmt und mit dem Goldstandard verglichen.

Um die halbautomatische Koregistrierung mit dem Kleintier-PET zu ermöglichen, wurden auf dem Tierhalter drei „fiducial markers“ angebracht, die die Position und die Orientierung des Tierhalters eindeutig definieren. Die Kleintier-PET-Untersuchungen wurden nach standardisierten Protokollen durchgeführt. Die anschließende Bildfusion der sonografischen Bilder mit den funktionalen PET-Bildern erfolgte mittels der frei verfügbaren Software "Amide".

Mit der in dieser Arbeit beschriebenen Methodik ist eine standardisierte Gewinnung von 3D-US-Datensätzen an Kleintieren möglich; zusätzlich konnte die Machbarkeit der Bildfusion mit PET-Datensätzen gezeigt werden. Der Einsatz des 3D-Ultraschalls in longitudinalen Studien, zum Beispiel zur Beurteilung der Tumorprogression, ist vorstellbar. Die Zuverlässigkeit der volumetrischen Berechnungen ist für größere Organvolumina gut, bei kleineren Volumina besteht noch Optimierungsbedarf. Weitere Verbesserungen könnten durch den Einsatz von speziellen Schallköpfen und höheren Schallfrequenzen erzielt werden.

6 Literaturverzeichnis

- Acar, P., Y. Dulac, et al. (2005). "Real-time three-dimensional fetal echocardiography using matrix probe." Prenat Diagn **25**(5): 370-5.
- Alcazar, J. L., G. Castillo, et al. (2003). "Intratumoral blood flow in cervical cancer as assessed by transvaginal color doppler ultrasonography: Correlation with tumor characteristics." Int J Gynecol Cancer **13**(4): 510-4.
- Andermann, P., S. Schlögl, et al. (2007). "Intra- and interobserver variability of thyroid volume measurements in healthy adults by 2D versus 3D ultrasound." Nuklearmedizin **46**(1): 1-7.
- Berg, S., H. Torp, et al. (2000). "Accuracy of in-vitro volume estimation of small structures using three-dimensional ultrasound." Ultrasound Med Biol **26**(3): 425-32.
- Beyer, T., D. W. Townsend, et al. (2000). "A combined PET/CT scanner for clinical oncology." J Nucl Med **41**(8): 1369-79.
- Bland, J. M. and D. G. Altman (1986). "Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement." Lancet **1**(8476): 307-10.
- Boone, J. M., O. Velazquez, et al. (2004). "Small-animal X-ray dose from micro-CT." Mol Imaging **3**(3): 149-58.
- Brinkley, J. F., W. D. McCallum, et al. (1982). "Fetal weight estimation from ultrasonic three-dimensional head and trunk reconstructions: evaluation in vitro." Am J Obstet Gynecol **144**(6): 715-21.
- Brinkley, J. F., S. K. Muramatsu, et al. (1982). "In vitro evaluation of an ultrasonic three-dimensional imaging and volume system." Ultrason Imaging **4**(2): 126-39.
- Brunn, J., U. Block, et al. (1981). "Volumetrie der Schilddrüsenlappen mittels Real-time-Sonographie." Dtsch Med Wochenschr **106**(41): 1338-40.
- Chow, P. L., F. R. Rannou, et al. (2005). "Attenuation correction for small animal PET tomographs." Phys Med Biol **50**(8): 1837-50.
- Crivianu-Gaita, D., F. Miclea, et al. (1997). "3D reconstruction of prostate from ultrasound images." Int J Med Inform **45**(1-2): 43-51.
- Curley, M. G. (1993). "Soft tissue temperature rise caused by scanned, diagnostic ultrasound." IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control **40**(1): 59-66.
- Daftari, I., D. Barash, et al. (2001). "Use of high-frequency ultrasound imaging to improve delineation of anterior uveal melanoma for proton irradiation." Phys Med Biol **46**(2): 579-90.
- Detmer, P. R., G. Bashein, et al. (1994). "3D ultrasonic image feature localization based on magnetic scanhead tracking: in vitro calibration and validation." Ultrasound Med Biol **20**(9): 923-36.
- Donnelly, E. F., L. Geng, et al. (2001). "Quantified power Doppler US of tumor blood flow correlates with microscopic quantification of tumor blood vessels." Radiology **219**(1): 166-70.
- Doss, D. and F. K. Ohnesorge (1966). "Motilität und Körpertemperatur von Mäusen in verschiedenen Umgebungstemperaturen." Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere **289**(2): 91-7.
- Eisenhauer, E. A., P. Therasse, et al. (2009). "New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)." Eur J Cancer **45**(2): 228-47.
- Ertel, D., Y. Kyriakou, et al. (2009). "Respiratory phase-correlated micro-CT imaging of free-breathing rodents." Phys Med Biol **54**(12): 3837-46.
- Facey, K., I. Bradbury, et al. (2007). "Overview of the clinical effectiveness of positron emission tomography imaging in selected cancers." Health Technol Assess **11**(44): iii-iv, xi-267.

- Fenster, A., C. Blake, et al. (2006). "3D ultrasound analysis of carotid plaque volume and surface morphology." Ultrasonics **44 Suppl 1**: e153-7.
- Fenster, A. and D. B. Downey (2000). "Three-dimensional ultrasound imaging." Annu Rev Biomed Eng **2**: 457-75.
- Fenster, A., D. B. Downey, et al. (2001). "Three-dimensional ultrasound imaging." Phys Med Biol **46**(5): R67-99.
- Fenster, A., A. Landry, et al. (2004). "3D ultrasound imaging of the carotid arteries." Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord **4**(2): 161-75.
- Figueroa, S. D., C. T. Winkelmann, et al. (2008). "TLD assessment of mouse dosimetry during microCT imaging." Med Phys **35**(9): 3866-74.
- Gerdes, H., W. Spuck, et al. (1987). "[Modern diagnosis of thyroid cancer. Experience of the value of scintigraphy, sonography, determination of tumor markers and ultrasound-controlled fine-needle biopsy]." Med Klin (Munich) **82**(1): 9-13.
- Graham, K. C., L. A. Wirtzfeld, et al. (2005). "Three-dimensional high-frequency ultrasound imaging for longitudinal evaluation of liver metastases in preclinical models." Cancer Res **65**(12): 5231-7.
- Hara, T., N. Kosaka, et al. (2002). "Development of (18)F-fluoroethylcholine for cancer imaging with PET: synthesis, biochemistry, and prostate cancer imaging." J Nucl Med **43**(2): 187-99.
- Hata, T., K. Kanenishi, et al. (2005). "Real-time 3-D sonographic observation of fetal facial expression." J Obstet Gynaecol Res **31**(4): 337-40.
- Hata, T., K. Kanenishi, et al. (2006). "Real-time 3-D echocardiographic evaluation of the fetal heart using instantaneous volume-rendered display." J Obstet Gynaecol Res **32**(1): 42-6.
- Hill, C. (1986). Physical Principles of Medical Ultrasonic. Chichester, Ellis Horwood.
- Hull, A. D. and D. H. Pretorius (1998). "Fetal face: what we can see using two-dimensional and three-dimensional ultrasound imaging." Semin Roentgenol **33**(4): 369-74.
- Jan, M. L., K. S. Chuang, et al. (2005). "A three-dimensional registration method for automated fusion of micro PET-CT-SPECT whole-body images." IEEE Trans Med Imaging **24**(7): 886-93.
- Keidar, Z., N. Haim, et al. (2004). "PET/CT using 18F-FDG in suspected lung cancer recurrence: diagnostic value and impact on patient management." J Nucl Med **45**(10): 1640-6.
- Knudsen, N., I. Bulow, et al. (2000). "Goitre prevalence and thyroid abnormalities at ultrasonography: a comparative epidemiological study in two regions with slightly different iodine status." Clin Endocrinol (Oxf) **53**(4): 479-85.
- Krause, B., A. Buck, et al. (2007). Nuklearmedizinische Onkologie. Landsberg, Ecomed.
- Kumar, A., R. Kumar, et al. (2009). "The role of 18F-FDG PET/CT in evaluation of early response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer." Eur Radiol **19**(6): 1347-57.
- Lang, N., S. Hermann, et al. (2007). "Hybrid 3D Sono/PET in a mouse." Eur J Nucl Med Mol Imaging **34**(10): 1706-7.
- Liang, H., Y. Yang, et al. (2007). "A microPET/CT system for in vivo small animal imaging." Phys Med Biol **52**(13): 3881-94.
- Liao, A. H., L. Y. Chen, et al. (2007). "A three-dimensional registration method for microUS/microPET multimodality small-animal imaging." Ultrason Imaging **29**(3): 155-66.
- Liao, A. H., J. J. Hwang, et al. (2007). "Noninvasive tumor imaging with high-frequency ultrasound and microPET in small animals." Ultrason Imaging **29**(4): 201-12.
- Liao, A. H., C. H. Li, et al. (2005). "Non-Invasive imaging of small-animal tumors: high-frequency ultrasound vs. MicroPET." Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc **6**: 5695-8.
- Loening, A. M. and S. S. Gambhir (2003). "AMIDE: a free software tool for multimodality medical image analysis." Mol Imaging **2**(3): 131-7.
- Lucas, K. J. (2000). "Use of thyroid ultrasound volume in calculating radioactive iodine dose in hyperthyroidism." Thyroid **10**(2): 151-5.

- Lyshchik, A., V. Drozd, et al. (2004). "Accuracy of three-dimensional ultrasound for thyroid volume measurement in children and adolescents." Thyroid **14**(2): 113-20.
- Lyshchik, A., V. Drozd, et al. (2004). "Three-dimensional ultrasonography for volume measurement of thyroid nodules in children." J Ultrasound Med **23**(2): 247-54.
- McLarty, K., A. Fasih, et al. (2009). "18F-FDG small-animal PET/CT differentiates trastuzumab-responsive from unresponsive human breast cancer xenografts in athymic mice." J Nucl Med **50**(11): 1848-56.
- Nahmias, C., W. T. Hanna, et al. (2007). "Time course of early response to chemotherapy in non-small cell lung cancer patients with 18F-FDG PET/CT." J Nucl Med **48**(5): 744-51.
- Ohishi, H., T. Hirai, et al. (1998). "Three-dimensional power Doppler sonography of tumor vascularity." J Ultrasound Med **17**(10): 619-22.
- Partik, B. L., A. Stadler, et al. (2002). "3D versus 2D ultrasound: accuracy of volume measurement in human cadaver kidneys." Invest Radiol **37**(9): 489-95.
- Rasmussen, I. A., Jr., F. Lindseth, et al. (2007). "Functional neuronavigation combined with intra-operative 3D ultrasound: initial experiences during surgical resections close to eloquent brain areas and future directions in automatic brain shift compensation of preoperative data." Acta Neurochir (Wien) **149**(4): 365-78.
- Reiners, C. and P. Schneider (2002). "Radioiodine therapy of thyroid autonomy." Eur J Nucl Med Mol Imaging **29 Suppl 2**: S471-8.
- Reiners, C., P. M. Schumm-Draeger, et al. (2003). "Schilddrüsenultraschallscreening (Initiative Papillon). Bericht über 15 zufällig entdeckte Schilddrüsenkarzinome." Internist (Berl) **44**(4): 412-9.
- Reiners, C., K. Wegscheider, et al. (2004). "Prevalence of thyroid disorders in the working population of Germany: ultrasonography screening in 96,278 unselected employees." Thyroid **14**(11): 926-32.
- Reiser, M., F. Kuhn, et al. (2006). Radiologie. Stuttgart, Thieme.
- Schlögl, S., P. Andermann, et al. (2006). "A novel thyroid phantom for ultrasound volumetry: determination of intraobserver and interobserver variability." Thyroid **16**(1): 41-6.
- Schlögl, S., E. Werner, et al. (2001). "The use of three-dimensional ultrasound for thyroid volumetry." Thyroid **11**(6): 569-74.
- Serrone, L., F. M. Solivetti, et al. (2002). "High frequency ultrasound in the preoperative staging of primary melanoma: a statistical analysis." Melanoma Res **12**(3): 287-90.
- Tai, Y. F. and P. Piccini (2004). "Applications of positron emission tomography (PET) in neurology." J Neurol Neurosurg Psychiatry **75**(5): 669-76.
- Tamaki, Y., Y. Sato, et al. (1999). "Intraoperative navigation for breast cancer surgery using 3D ultrasound images." Comput Aided Surg **4**(1): 37-44.
- Therasse, P., S. G. Arbuck, et al. (2000). "New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada." J Natl Cancer Inst **92**(3): 205-16.
- Therasse, P., E. A. Eisenhauer, et al. (2006). "RECIST revisited: a review of validation studies on tumour assessment." Eur J Cancer **42**(8): 1031-9.
- Tong, S., D. B. Downey, et al. (1996). "A three-dimensional ultrasound prostate imaging system." Ultrasound Med Biol **22**(6): 735-46.
- van Isselt, J. W., J. M. de Klerk, et al. (2003). "Comparison of methods for thyroid volume estimation in patients with Graves' disease." Eur J Nucl Med Mol Imaging **30**(4): 525-31.
- von Falck, C., T. Rodt, et al. (2009). "Combined microPET/CT for imaging of hepatocellular carcinoma in mice." Front Biosci **14**: 2193-202.
- Weissleder, R. (2002). "Scaling down imaging: molecular mapping of cancer in mice." Nat Rev Cancer **2**(1): 11-8.
- Wild, J. J. and J. M. Reid (1952). "Application of echo-ranging techniques to the determination of structure of biological tissues." Science **115**(2983): 226-30.

- Wirtzfeld, L. A., K. C. Graham, et al. (2006). "Volume measurement variability in three-dimensional high-frequency ultrasound images of murine liver metastases." Phys Med Biol **51**(10): 2367-81.
- Wirtzfeld, L. A., G. Wu, et al. (2005). "A new three-dimensional ultrasound microimaging technology for preclinical studies using a transgenic prostate cancer mouse model." Cancer Res **65**(14): 6337-45.
- Zoller, W. G., U. Gresser, et al. (1994). Einführung in die Ultraschalldiagnostik. Freiburg i.B., Karger.

7 Glossar

2D-US	zweidimensionaler Ultraschall (=B-Mode)
3D-US	dreidimensionaler Ultraschall
Amplitude	Schwingungsweite: die maximale Auslenkung (Elongation) einer periodischen Funktion
Auflösung	auch Auflösungsvermögen: Unterscheidbarkeit feiner Strukturen, kleinster noch wahrnehmbaren Abstand zweier Punkte; Bildzerlegung in getrennt wahrnehmbare Elemente
c	Schallgeschwindigkeit: Geschwindigkeit, mit der sich Schallwellen in einem Medium ausbreiten
CI	Konfidenzintervall: Vertrauensintervall, in welchem ein Mittelwert unter Angabe eines vorgegebenen Signifikanzniveaus liegt
CT	Computertomographie: Schnittbildgebendes Verfahren zur Erzeugung eines dreidimensionalen Datensatzes mit Hilfe von Röntgenstrahlen
DGC	Depth Gain Compensation: Verstärkung der Amplitude bei Echos aus größeren Tiefen
Dopplereffekt	Veränderung der Frequenz von Wellen, während sich Quelle oder Reflektor und Beobachter relativ zueinander bewegen
f	Frequenz: Häufigkeit eines sich pro Zeiteinheit wiederholenden Vorgangs
FDG	[¹⁸ F]-Fluordesoxyglukose: bei der PET eingesetztes Radiopharmakon
FEC	[¹⁸ F]-Fluorethylcholin: bei der PET eingesetztes Radiopharmakon
fiducial marker	am zur Bildaufnahme vorgesehenen Objekt / Subjekt fest angebrachte Markierung, die in den unterschiedlichen Bildmodalitäten jeweils ein Signal erzeugt. Dies ermöglicht die Orientierung mehrerer Datensätze zueinander und damit die Bildfusion
FPS	Frames per Second: Anzahl der B-Bilder des Ultraschallmonitors im VHS-Signal, die pro Sekunde digitalisiert werden
Framegrabber	Elektronik, die analoge Video-Signale (VHS = Video Home System) in digitale Bilddaten umwandelt
FWHM	Full Width at Half Maximum: Halbwertsbreite; Differenz zwischen den beiden nächstgelegenen Argumentwerten, für die die Funktionswerte auf die Hälfte des Maximums abgesunken sind

keV	Kiloelektronenvolt: Einheit der Energie in der Atomphysik $1 \text{ eV} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ J}$
λ	Wellenlänge: kleinster Abstand zweier Punkte gleicher Phase
MHz	Megahertz: $1 \text{ MHz} = 10^6 \text{ Hz}$ (Hertz); SI-Einheit für die Frequenz, $1 \text{ Hz} = 1/\text{s}$
MRT	Magnetresonanztomographie: Schnittbildgebendes Verfahren zur Erzeugung eines dreidimensionalen Datensatzes mit Hilfe von Magnetfeldern
MVA	Multiplanare Volumenapproximation: Methode zur Volumenberechnung
MW	Mittelwert: Arithmetisches Mittel als Summe aller Messwerte geteilt durch Anzahl der Messwerte (n)
Normalverteilung	Die Gauß'sche Normalverteilung ist eine Wahrscheinlichkeitsverteilung, welche Vorgänge mit einer großen Zahl an zufälligen, unabhängigen und in unterschiedliche Richtungen wirkende Einflussfaktoren, z. B. die zufällige Streuung von Messwertenfehlern, beschreibt
p	Signifikanzwert: Irrtumswahrscheinlichkeit einer Hypothese
PET	Positronen-Emissions-Tomographie: schnittbildgebendes Verfahren der Nuklearmedizin
r	Korrelationskoeffizient: gibt den Grad eines linearen Zusammenhangs an und nimmt Werte zwischen -1 und 1 an
ROI	Region of Interest: dreidimensionaler Bereich eines Bilddatensatzes, der für die Auswertung von Interesse ist; In der Bildverarbeitung des PET kann ein bestimmter Bereich gewählt werden, dessen Positronen-Emission von Interesse ist, z.B. beim FDG-PET ein erhöhter Glukose-Metabolismus im Tumor
SD	standard deviation: Die Standardabweichung ist ein Maß für Streuung der Werte einer normalverteilten Zufallsvariablen um ihren Mittelwert
Sensor	Magnetfeldsensor: durch Messung des umgebenden elektromagnetischen Feldes kann der Sensor seine Lage und Orientierung bestimmen
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography: schnittbildgebendes Verfahren der Nuklearmedizin
SUV	standardized uptake value: dient zur Quantifizierung regionaler Nuklid-Anreicherungen und berechnet sich aus Aktivitätskonzentration, Normierungswert und applizierter Aktivität; Der Normierungswert berücksichtigt u. a. das verwendete Radionuklid (Zerfallskorrektur), Gewicht und Größe des Patienten

Transmitter	Gerät, das ein physikalisches Signal in ein anderes Signal umwandelt, z. B. elektrische Spannung in elektromagnetische Wellen
US	Ultraschall
v	Scangeschwindigkeit: Geschwindigkeit, mit der der Schallkopf manuell entlang der Führungsschiene über das Schallobjekt bewegt wird
VarK	Variationskoeffizient: Standardabweichung einer Gruppe von Messwerten geteilt durch den Mittelwert, auch relative Standardabweichung genannt
Volumenmodell	ein für Ultraschalluntersuchungen geeigneter Prüfkörper mit einem definierten Volumen; dient zur Validierung einer Volumenmessung
Voxel	volumetric pixel: dreidimensionales Bildelement in einem räumlichen Datensatz
ZD	Zeilendichte: Maß für die Horizontale Auflösung am zweidimensionalen Ultraschallschnittbild
Z _F	akustische Feldimpedanz: Widerstand im Schallfeld, der einer Schallausbreitung entgegengesetzt wird
ρ	Dichte eines Mediums in kg/m ³

3D-Ultraschall – PET

Untersuchungsprotokoll

Untersucher	
Art der Untersuchung (3D-US / PET)	
Datum	
Uhrzeit	
Maus/Ratte/Phantom	
Gewicht d. Versuchstiers	

Nuklid I		Aktivität vor inj. (Uhrzeit)		Rückmessung (Uhrzeit)	
Nuklid II		Aktivität vor inj. (Uhrzeit)		Rückmessung (Uhrzeit)	

Grauskala
DGC-Regler
DB (Dynamikbereich)
Persistenz
Kontur

B-Verstärkung
Bildtiefe
Framegr.-Fq. (FPS)
Bildfreq. + ZD 26s/14h

Fokus
Frequenz (MHz)
Dauer der 3D-Akquis. (s) Scangeschw. (mm/s)
Abstand Schallkopf – Objekt

Datenbank: _____
 US-Gerät_Datum_Untersuchung

PROBE (Eichung) einstellen!

	Studienname	Settings (Variable Größen des Versuchs)	Uhrzeit d. Aufnahme	Datum/ Zeit "postprocessing"	DICOM-Ordner
	z.B. (ZDhi_6MHz)	z.B. (14h, 12.5FPS, 6MHz)	-----	-----	(US-Gerät_Datum_Untersuchung)
1					
2					
3					
4					
5					
6					

Danksagung

Herrn Professor Dr. rer. nat. Michael Laßmann gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Dissertationsthemas und die exzellente Betreuung, die sich durch regelmäßige Besprechungen und jederzeit auch kurzfristige Diskussionsmöglichkeiten ausgezeichnet hat.

Herrn Dr. med. Michael Kreißl danke ich ebenfalls für die außerordentlich gute Betreuung und das große Engagement in diesem Projekt, die zahlreichen Ratschläge und die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.

Frau Dipl.-Phys. S. Schlögl und Herrn H. Schlotter möchte ich für Hilfe bei der Einarbeitung und bei der technischen Umsetzung des Versuchsaufbaus danken, Frau G. Cudek danke ich für die Hilfe bei der Durchführung der Tierversuche.

Herrn Professor Dr. med. M. Beer danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Ich danke Herrn Professor Dr. med. Chr. Reiners und allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin für die freundliche Aufnahme im Team.

Schließlich möchte ich Nadja Miller für das Lektorat und die präzisen stilistischen Anmerkungen ganz herzlich danken.

Bei meinen Eltern möchte ich mich für die Ermöglichung des Medizinstudiums in jeder Hinsicht von Herzen bedanken, außerdem bei meinem Vater für das Vorbild im ärztlichen Denken und Handeln.