



**WHZ Westsächsische
Hochschule Zwickau**
Hochschule für Mobilität



Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI

Bachelorarbeit

Zur Erlangung des Akademischen Grades
Bachelor of Engineering (B.Eng.)
im Studiengang Biomedizinische Technik

Etablierung eines MRT-Messverfahrens zur nicht invasiven Bestimmung des IDH1-Subtyps bei Ratten mit Glioblastom

Verfasserin : Do Thi Mai Phuong
Matrikelnummer: 40863
Seminargruppe: 192144
Thi.do.jxu@fh-zwickau.de

Erstgutachter : Prof. Dr. Ralf Hinderer
Westsächsische Hochschule Zwickau
Fakultät Physikalische Technik/ Informatik

Zweigutachter : Dr. Sebastian Greiser
Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie Leipzig
Arbeitsgruppe Experimentelle Bildgebung

Ausgabedatum : 15.08.2024
Abgabedatum : 31.10.2024

Autorenreferat

Das Glioblastom (GBM) ist einer der bösartigsten Hirntumore mit einer geringen Überlebensrate (<2 Jahre), bei dem bisher keine vollständige Heilung und Therapie möglich ist. Die WHO-Klassifikation der Tumoren des zentralen Nervensystems von 2016 unterteilt das Glioblastom in IDH1-Wildtyp (IDH1wt) und IDH1-mutierte (IDH1mut) Glioblastome. Das Vorhandensein einer IDH1-Mutation führt zu besseren klinischen Ergebnissen bei GBM-Patienten, einschließlich längerer Überlebenszeiten und einer besseren Ansprechens auf die Therapie. In dieser Arbeit wurde eine multiparametrische MRT-Bildgebung zur Bestimmung des IDH1-Mutationsstatus verwendet, die T2-gewichtete Aufnahme (T2w), kontrastmittelgestützte T1-gewichtete Bildgebung (T1w-Gd), sowie T2- und K_{trans} -Mapping umfasst. Eine Versuchsgruppe von acht orthotopen Rattenmodellen wurde mit der gut charakterisierten humanen GBM-Zelllinie U-251 implantiert und am 7T Kleintier-MRT des Fraunhofer IZI gescannt. Das T2-Mapping wurde aus der MSME-Sequenz erstellt, während das K_{trans} -Mapping mithilfe des Tofts-Modells aus der dynamischen kontrastverstärkten T1-gewichteten Bildsequenz (T1w-DCE) berechnet wurde, die mit der 2D-FLASH-Sequenz aufgenommen wurde. Die Ergebnisse zeigten, dass das IDH1mut-GBM kleiner war und auf den T1w-Gd-Bildern eine geringere Kontrastmittelverstärkung aufwies als das IDH1wt-GBM. Auf den T2-Parameterkarten erschien das IDH1mut-GBM relativ homogen mit niedrigeren T2-Werten. Die Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke wurde anhand der K_{trans} -Werte in der T1w-DCE-Analyse bewertet. Die in dieser Arbeit erzielten K_{trans} -Werte sind jedoch aufgrund einer unzureichenden Anpassung an das Tofts-Modell ungenau.

Abstract

Glioblastoma (GBM) is one of the most malignant brain tumors with a low survival rate (<2 years), for which neither a complete cure nor a fully effective therapy is currently available. The 2016 WHO classification of central nervous system tumors categorizes glioblastomas into IDH1-wildtype (IDH1wt) and IDH1-mutated (IDH1mut) glioblastomas. The presence of an IDH1 mutation is associated with better clinical outcomes in GBM patients, including longer survival times and an improved response to therapy. In this thesis, a multiparametric MRI was used to determine IDH1 mutation status in GBM, which included T2-weighted (T2w), contrast-enhanced T1-weighted imaging (T1w-Gd), as well as T2- and K_{trans} -mapping. A cohort of eight orthotopic rat models was implanted with the well-characterized human GBM cell line U-251 and scanned using a preclinical 7T Scanner at the Fraunhofer IZI. T2 mapping was generated from the MSME sequence, while K_{trans} mapping was calculated using the Tofts model based on the dynamic contrast-enhanced T1-weighted imaging sequence (T1w-DCE) acquired with the 2D-FLASH sequence. The results showed that IDH1mut GBM was smaller and exhibited less

contrast enhancement on T1w-Gd images than IDH1wt GBM. On the T2 maps, IDH1mut GBM appeared relatively homogeneous with lower T2 values. The permeability of the blood-brain barrier was assessed using K_{trans} values in the T1w-DCE analysis. However, the K_{trans} values obtained in this thesis were inaccurate due to a poor fit to the Tofts model.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen aufrichtigen und besonderen Dank an Herrn Dr. Sebastian Greiser aussprechen, den Leiter der Arbeitsgruppe Experimentelle Bildgebung am Fraunhofer IZI Leipzig, der mir dieses Thema der Bachelorarbeit zur Verfügung stellte, mich während meines Praktikums und der Anfertigung dieser Arbeit tatkräftig unterstützte und mir die besten Arbeitsbedingungen ermöglichte.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. Magali Toussaint, die mir bereitwillig Fragen zu diesem Thema erklärte.

Ferner bedanke ich mich bei Herrn Prof. Ralf Hinderer für die Betreuung seitens der Westsächsischen Hochschule Zwickau.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie danken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützte.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	THEORETISCHE GRUNDLAGEN	3
2.1	Glioblastom	3
2.2	Isocitrat-Dehydrogenase-1-Mutation	3
2.3	Grundlagen der Magnetresonanztomographie (MRT)	5
2.3.1	Prinzip der MRT-Bildgebung.....	5
2.3.2	Relaxationszeiten	8
2.3.2.1	T1-Relaxation	8
2.3.2.2	T2-Relaxation	9
2.3.3	Kontrastmechanismen	11
2.3.3.1	Repetitionszeit und Echozeit	11
2.3.3.2	T1-Gewichtung.....	11
2.3.3.3	T2-Gewichtung.....	11
2.3.4	Pixel, Voxel und Matrix.....	12
2.3.5	Pulssequenzen	12
2.3.5.1	Spinechosequenz	13
2.3.5.2	Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement (RARE).....	14
2.3.5.3	Multi-Slice-Multi-Echo-Sequenz (MSME).....	15
2.3.5.4	Gradientenechosequenz	16
2.3.5.5	FLASH-Sequenz	16
2.4	Mikrovaskulatur des Tumors und Blut-Hirn-Schranke	17
2.5	Gadolinium-basierte Kontrastmittel	18
2.6	Dynamische kontrastverstärkte MRT	19
2.6.1	Zwei-Kompartimente-Modell und Kinetik des Kontrastmittels	19
2.6.2	Pharmakokinetische Analyse mittels Tofts-Modell	21
2.6.3	Methode zur Verarbeitung der DCE-MRT-Daten.....	23
2.6.3.1	Umwandlung der Signalintensität in die Kontrastmittelkonzentration	23
2.6.3.2	Bestimmung der arteriellen Eingangsfunktion (AIF)	24
2.7	In vivo ¹H-Magnetresonanzspektroskopie (¹H-MRS)	25
2.7.1	Chemische Verschiebung der Resonanzfrequenzen („ <i>Chemical shift</i> “)	25
2.7.2	Lokalisierungstechnik und Pulssequenzen	26
2.8	Präklinische Tiermodelle in der Onkologie	28
3	MATERIAL UND METHODIK	30
3.1	Tiermodelle	30

3.2	Akquisitionsprotokoll	30
3.3	Bildverarbeitung.....	33
3.3.1	Berechnung der T2-Maps.....	33
3.3.2	Bestimmung der spezifischen Relaxivität r_1 von Gadovist®	35
3.3.3	DCE-MRT	37
3.3.3.1	Sortieren von DCE-Bildern nach Schichten	37
3.3.3.2	Rauschunterdrückung	38
3.3.3.3	Signalintensitäts-Zeit-Kurven.....	39
3.3.3.4	Berechnung der arteriellen Eingangsfunktion (AIF).....	41
3.3.3.5	Berechnung der K_{trans} -Maps	43
3.3.4	$^1\text{H-MRS}$	43
4	MESSERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	46
4.1	Die konventionelle MRT-Bildgebung	46
4.2	Quantitative T2-Maps	47
4.3	K_{trans} -Maps zur Quantifizierung der Permeabilität.....	48
4.4	Qualitative Stoffwechselprofile	50
5	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	55
	LITERATURVERZEICHNIS	58
A	ANHANG	I

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Zwei zueinander senkrechte Komponenten M_z und M_{xy} bei der Anregung durch einen α -Puls (a). Nach einem 90° -Puls erreicht die Quermagnetisierung M_{xy} ihr Maximum, und das MR-Signal ist somit am stärksten (b) [23, pp. 52, 59].....	7
Abbildung 2.2: exponentielle Kurve der longitudinalen Relaxation nach dem 90° -Puls [23, p. 71].....	8
Abbildung 2.3: exponentielle Kurve stellt den zeitlichen Abfall der Quermagnetisierung aufgrund der Dephasierung dar [23, p. 77].....	10
Abbildung 2.4: Ein MRT-Bild wird durch Pixel im zweidimensionalen Raum oder durch Voxel im dreidimensionalen Raum dargestellt. Jeder Pixel weist einen bestimmten Grauwert bzw. eine Signalintensität auf. [23, p. 109].....	12
Abbildung 2.5: Ablaufschema der Spinecho-Pulssequenz [23, p. 123].....	14
Abbildung 2.6: Schematische Darstellung der RARE-Pulssequenz. Eine Serie von Echo-Signalen wird durch den Einsatz mehrerer 180° -Pulse erzeugt. Jedes Echo-Signal wird separat phasenkodiert, was die gleichzeitige Erfassung mehrerer Datenzeilen im k-Raum ermöglicht und somit die Bildaufnahme beschleunigt. [27].....	15
Abbildung 2.7: Schematische Darstellung der FLASH-Sequenz [26, p. 286].....	17
Abbildung 2.8: Zwei-Kompartimente-Modell besteht aus dem Gefäßkompartiment (v_p) und dem Interstitium (v_e) [32].....	20
Abbildung 2.9: Der vergrößerte kreisförmige Bereich zeigt einen Querschnitt durch ein Blutgefäß und das umliegende extravaskuläre Gewebe. Die Aufnahme und Ausscheidung des Kontrastmittels werden durch die Signalintensitäts-Zeit-Kurve dargestellt (linke Ecke). Vor der Injektion des Kontrastmittels (Zeitpunkt vor t_2) bleibt die Signalintensität unverändert (<i>Baseline</i>). Nach der intravenösen Bolusinjektion des Kontrastmittels (kleine graue Kreise) am Zeitpunkt t_2 tritt es in den EES aus und sammelt sich dort an. Diese Akkumulation führt zu einer Signalverstärkung. Nach Erreichen eines Maximums bei t_3 , nimmt die Signalintensität ab, da das Kontrastmittel zurück ins Blut diffundiert und über die Nieren ausgeschieden wird [28, p. 5].....	21
Abbildung 2.10: Das MR-Spektrum beschreibt die Signalintensität der in einem bestimmten Voxel gemessenen Metaboliten. Die Position dieser Verbindungen wird anhand ihrer chemischen Verschiebung in Bezug auf eine Referenzsubstanz (chemische Verschiebung $\delta = 0$ ppm) bestimmt. [41].....	26
Abbildung 2.11: Die Single-Voxel-Spektroskopie (links) liefert Informationen über den Stoffwechsel aus einem einzelnen Voxel, während die Multivoxel-Technik MRSI (rechts) gleichzeitig Informationen über den Stoffwechsel aus mehreren benachbarten Voxeln bereitstellt. [42].....	27
Abbildung 2.12: Während die PRESS-Sequenz zwei 180° -HF-Pulse zur Rephasierung verwendet, um ein Spin-Echo (SE) zu erzeugen, nutzt die STEAM-Sequenz zwei 90° -Pulse, um eine Magnetisierung zu erzeugen, aus der ein stimuliertes Echo resultiert. [45].....	27
Abbildung 3.1: Erstellung von Lokalisierungsbildern mittels <i>Localizer</i> -FLASH-Sequenz in den koronalen (a), sagittalen (b) und axialen Ebenen (c). Das schwarze Kreuz als	

Isozentrum des MRT-Scanners zur Einschätzung der Positionierung des Tierkopfes.	30
Abbildung 3.2: Flussdiagramm zur Beschreibung der Reihenfolge der MRT-Pulssequenzen	31
Abbildung 3.3: Voxelplatzierung (gestricheltes Rechteck) mit der Abmessung von 4 x 4 x 4 mm ³ in dem Tumorgewebe (links) und dem gegenüberliegenden gesunden Gewebe als Referenzregion (rechts) auf dem T2w-Bild der Ratte 21A7.	33
Abbildung 3.4: Ablauf zur Erstellung einer T2-Map: Aus einer Sequenz von 10 Echo-Bildern, die zu unterschiedlichen Echozeiten aufgenommen wurden, wurde die Signalintensitätsreihe jedes Pixels in Abhängigkeit vom TE-Wert extrahiert. Diese Intensitätsreihe wurde anschließend an ein monoexponentielles Zerfallsmodell angepasst, um die T2-Werte zu schätzen. Die berechneten T2-Werte wurden als farbcodierte T2-Map dargestellt.	34
Abbildung 3.5: T1w-Bilder von Gelphantomen unterschiedlicher Gd-Konzentrationen bei TR: 5500ms (A); 3000ms (B); 1500ms (C); 800ms (D); 400ms (E) und 200ms (F)	35
Abbildung 3.6: ROIs wurden manuell gezeichnet, sodass jedes Phantom maximal abgedeckt und die Randbereiche vermieden wurden, um den Einfluss des Hintergrundsignals zu minimieren.	36
Abbildung 3.7: beispielweise Darstellung der mit der Software <i>Image J</i> erhaltenen Ergebnisse, wobei <i>Mean 1, 2, 3, 4, 5</i> die gemessenen mittleren Signalintensitätswerte an den jeweiligen TR (1–6) der entsprechenden, in Abbildung 18 markierten ROIs repräsentieren.	36
Abbildung 3.8: Vor der Glättung zeigt das Bild (A) eine deutliche Schwankung und Variabilität im Signal (C), was auf Rauschen hinweist. Nach der Glättung (Bild B) wirken die Signale (D) gleichmäßiger und stabiler, und die Schwankungen sind deutlich reduziert. Das Hintergrundsignal (blau) repräsentiert keine strukturellen Bildinformationen und dient somit als Kontrolle des Signal-Rausch-Verhältnisses. Idealerweise sollte dieses Signal konstant nahe null liegen.	38
Abbildung 3.9: Beispielhafte Signalintensitäts-Zeit-Kurven von drei ausgewählten Pixeln, die dem Hirntumor (rot), gesunden Hirngewebe (grün) und dem Hintergrund (blau) entsprachen, wurden aus der dynamischen kontrastmittelverstärkten T1w-Bildsequenz extrahiert.	39
Abbildung 3.10: Vor der Skalierung (oben) zeigte die Kurve eine erhöhte Baseline im Vergleich zum Kontrastmittelsignal sowie eine Aufspaltung der Signalkurve. Nach der Skalierung (unten) stellte die Kurve den Verlauf der Kontrastmittelaufnahme korrekt dar.	40
Abbildung 3.11: Die zeitabhängigen Konzentrationskurven des Kontrastmittels für jeden Pixel in den linken und rechten Arterien.	42
Abbildung 3.12: Vergrößerter Bildausschnitt des in Abb. 3.11 markierten roten Rahmens. Die zeitabhängige Konzentrationskurve wurde aufgrund ihrer Merkmale, wie schnellem Anstieg, hoher Konzentrationspeak und raschem Abfall, als AIF ausgewählt.	43
Abbildung 3.13: Ein Beispiel der MRS-Daten, die in der Tumorregion der Ratte 21A3 erfasst wurden.	44

Abbildung 3.14: Das Spektrum im Tumorbereich der Ratte 21A3 zeigte, dass die Amplitude des Wassersignals (chemische Verschiebung $\delta = 4,7$ ppm) deutlich größer war als die der anderen Metaboliten.....	45
Abbildung 4.1: T2w und T1w-Gd MRT-Bilder von drei Ratten mit IDH1-Mutation (MUT) und zwei Ratten mit IDH1-Wildtyp (WT). Die Tumorgrenzen sind auf den T2w-Bildern durch gestrichelte Linien dargestellt.	46
Abbildung 4.2: Beispielhafte T2-Map einer Schicht von Ratte 21A1 (links) und Ratte 21A3 (rechts). Der Tumor (blaue gestrichelte Linie) weist durchschnittliche T2-Werte von 77 ms (21A1) bzw. 64 ms (21A3) auf, was höher ist als der durchschnittliche T2-Wert des gesunden Gewebes (54 ms). Die Hirnventrikel (blaue Pfeile) enthalten viel freies Wasser und zeigen daher einen hohen T2-Wert (150 ms).	47
Abbildung 4.3: Das T1w-Gd-Bild (oben rechts) und die entsprechende K_{trans} -Map (oben links) sind dargestellt. Das Diagramm der zeitlichen Kontrastmittelkonzentrationskurven für die drei markierten Bereiche (unten) wurde mit dem Tofts-Modell angepasst. Die Punkte repräsentieren die gemessenen Daten, während die Volllinien die Modell-Anpassung darstellen.	48
Abbildung 4.4: In-vivo- ^1H -MR-Spektren des normalen Hirngewebes (grün) und des Glioblastoms (rot) bei den Ratten 21A3 und 21A7 und T2w-Bilder mit den entsprechenden Voxel.....	53
Abbildung 4.5: MR-Spektren zwischen den beiden Tumoren 21A3 (IDH1mut) und 21A7(IDH1wt)	54
Abbildung 0.1: Beispielhafte Kurvenanpassung der Signalintensitäten für unterschiedliche Konzentrationen mithilfe der Methode der nichtlinearen kleinsten Quadrate .	vi
Abbildung 0.2: Beispielhafte grafische Darstellung der linearen Regression zwischen Relaxationsrate R_1 und der Gd-Konzentration.....	vii

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1:	T1-Werte (in ms) verschiedener Regionen des menschlichen Gehirns, gemessen bei unterschiedlichen Magnetfeldstärken in der Studie von Rooney et al. [25] (WM = Weiße Substanz, GM = Graue Substanz, CSF = Cerebrospinalflüssigkeit)	9
Tabelle 2.2:	Die auf dem Markt erhältlichen Gd-basierten Kontrastmittel und deren entsprechende r_1 -Werte, gemessen bei 7 Tesla und 37°C [31]	19
Tabelle 3.1:	Messparameter der MR-Sequenzen	31
Tabelle 0.1:	Der mittlere T2-Wert jedes Versuchstiers für gesundes Gewebe und Tumorgewebe in Sekunden wurde aus den T2-Werten der einzelnen Schichten berechnet	iii
Tabelle 0.2:	beispielhafte T1-Werten für unterschiedliche Konzentrationen	vi
Tabelle 0.3:	die berechneten r_1 -Werte aus drei Messungen für Gadovist®	vii

Abkürzungsverzeichnis

AIF	arterielle Eingangsfunktion (<i>arterial input funktion</i>)
BHS	Blut-Hirn-Schranke
DICOM	<i>digital imaging und communications in medicine</i>
DCE-MRT	dynamische kontrastmittelverstärkte Magnetresonanztomografie (<i>dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging</i>)
EES	extravaskulären-extrazellulären Raum/ Interstitium
ETM	<i>Extended Tofts Model</i>
FLASH	<i>fast low angle shot</i>
Gd	Gadolinium
GRE	Gradienten-Echo
GBM	Glioblastom
HF	Hochfrequenz
2-HG	2-Hydroxyglutarat
IDH1	Isocitrat-Dehydrogenase-1
IDH1mut	IDH1-Mutation
IDH1wt	IDH1-Wildtyp
KM	Kontrastmittel
K_{trans}	Volumen-Transfer-Konstante
MRT	Magnetresonanztomografie
MRS	Magnetresonanzspektroskopie
MSME	<i>multi slice multi echo</i>
MRSI	Multi-Voxel-Spektroskopie
ppm	<i>parts per million</i>
PRESS	<i>Point-Resolved Spectroscopy</i>

ROI	<i>region of interest</i>
RARE	<i>Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement</i>
SE	Spin-Echo
SVS	Single-Voxel-Spektroskopie
SNR	Signal-Rausch-Verhältnis
T1w	T1-Gewichtung
T2w	T2-Gewichtung
TR	Repetitionszeit
TE	Echozeit
T1-Gd	kontrastverstärkte T1-Wichtung
TM	<i>Standard Tofts Model</i>
VEGF	vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor <i>(Vascular Endothelial Growth Factor)</i>
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

Das Glioblastom (GBM) ist ein bösartiger primärer Hirntumor (macht 49 % aus) aus der Gruppe der Gliome, der häufig bei Erwachsenen auftritt [1]. Früher wurde es anhand typischer histologischer Merkmale diagnostiziert, einschließlich Nekrose, Gefäßproliferation sowie Pleomorphismus und erhöhter Mitoseaktivität [2]. Die rasante Entwicklung der Onkogenetik führte jedoch zu vielen Veränderungen, insbesondere zur Integration der molekularen Diagnostik in die Tumorklassifikation. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO)-Klassifikation der Tumoren des zentralen Nervensystems (ZNS) von 2016 klassifizierte das Glioblastom in GBM mit IDH-Mutation und GBM ohne IDH-Mutation, auch als IDH-Wildtyp bezeichnet [3]. Die häufigste und am meisten untersuchte Punktmutation ist die im IDH1-Gen (R132H). IDH1-Mutationen zeigen ein weniger aggressives biologisches Verhalten und führen zu besseren klinischen Ergebnissen im Vergleich zum IDH1-Wildtyp [4]. Die präzise Einschätzung des IDH1-Status ist ein entscheidender Faktor für die Prognose und die Therapieplanung. Die häufigste Methode zur Bestimmung des Genotyps ist derzeit die Immunhistochemie durch Biopsie oder Operation. Diese Methode ist allerdings invasiv und begrenzt durch die Anzahl der entnommenen Proben sowie die Biopsiestelle.

In den letzten Jahren gab es bedeutende Fortschritte im Bereich der bildgebenden Genetik, wobei viele quantitative Bildgebung als mit den molekularen und genetischen Merkmalen von Tumoren assoziiert gelten [5]. Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist eine der gängigen nicht invasiven Bildgebungstechniken zur Diagnose und Beurteilung des Therapieansprechens von Gliomen. Zahlreiche Studien wurden durchgeführt, um spezifische MRT-Merkmale für Genmutationen zu identifizieren [6]. Die multiparametrische MRT ermöglicht eine nicht invasive Bewertung und Quantifizierung verschiedener Gewebeeigenschaften und ergänzt die qualitativen Erkenntnisse, die aus der anatomischen T1- (T1w) und T2-gewichteten (T2w) Bildgebung gewonnen werden. In präklinischen Studien, insbesondere in der Krebsforschung, spielen Tiermodelle eine wichtige Rolle bei der Bereitstellung wertvoller Einblicke in die Tumorbio-logie durch die Simulation der Entstehung, des Wachstums und der genetischen Einflüsse auf die Tumorigenese. Ziel dieser Arbeit war es, eine multiparametrische MRT zu etablieren, die T2w-Bilder, kontrastverstärkte T1w-Bilder (T1w-Gd), T2- und K_{trans} -Parameterkarten in Kombination mit Magnetresonanztomographie (MRS) umfasst, um bildgebende Biomarker für IDH1-Mutationen in mit humanen GBM-Zelllinien implantierten Rattenmodelle zu bestimmen. Dabei liefert die konventionelle MRT, umfassend T2w- und T1w-Gd-Bilder, qualitative Informationen über die Lage und die Größe des Tumors. T2-Parameterkarten und die Austauschkonstante K_{trans} („*volumen transfer constant*“), abgeleitet aus der dynamisch kontrastmittelverstärkten MRT (DCE-MRT), liefern Informationen über die physiologischen

Eigenschaften und die Mikrozirkulation des Tumors. Zudem wird MRS zur Evaluierung der Veränderungen der Metaboliten im Tumor verwendet.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Glioblastom

Das Glioblastom (GBM) ist der häufige primäre Hirntumor des Zentralnervensystems (ZNS) bei Erwachsenen und macht etwa 16 % der Fälle aus [7]. Es handelt sich um den bösartigsten Hirntumor und wird gemäß der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als Grad IV klassifiziert. GBM gehört zur Gruppe der Gliome (50-60 %) [8] und ist eine Form des Astrozytoms, das sich aus sternförmigen Zellen im Gehirn, den Astrozyten, bildet [9]. Die Prognose für Patienten mit GBM ist äußerst ungünstig, mit einer mittleren Überlebenszeit von 12 bis 15 Monaten [10]. Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt trotz intensiver multimodaler Behandlung, einschließlich chirurgischer Resektion, Immuntherapie, Bestrahlung und Chemotherapie, bei unter 7 % [11]. Die malignen Tumorzellen des GBM wachsen schnell und breiten sich durch Infiltration in das umgebende gesunde Gewebe aus, was die Abgrenzung zwischen Tumor- und gesundem Gewebe erschwert. Eine vollständige Entfernung des Tumors ist daher nicht möglich, was zu einer hohen Rezidivwahrscheinlichkeit führt.

Das Glioblastom wird in primäres und sekundäres GBM unterteilt. Primäre Glioblastome entstehen *de novo*, was bedeutet, dass sie mit einer kurzen vorhergehenden Krankengeschichte ohne klinische oder histologische Hinweise auf eine niedriggradige (wenige bösartige) Vorläuferläsionen auftreten. Diese Tumoren treten weitaus häufiger auf als sekundäre Glioblastome (etwa 95% der Glioblastome) und kommen häufig bei älteren Patienten vor (ca. 60 Jahren). Im Gegensatz dazu entwickeln sich sekundäre Glioblastome allmählich aus weniger bösartigen Astrozytomen. Diese Tumoren treten häufiger bei jüngeren Patienten auf, mit einem Durchschnittsalter von etwa 45 Jahren. Patienten mit sekundären GBM haben eine bessere Überlebensprognose als solche mit primären GBM [12].

2.2 Isocitrat-Dehydrogenase-1-Mutation

Im Jahr 2007 klassifizierte WHO Gliome basierend auf histologischen Kriterien, einschließlich des vorherrschenden Zelltyps und des Grades [13]. Es gibt vier Grade von Hirntumoren: Grad I und II sind gutartige Tumoren, während Grad III und IV bösartige Tumoren mit hoher Invasivität und kurzer Überlebenszeit darstellen. GBM besteht aus schlecht differenzierten astrozytären Tumorzellen, die typischerweise pleomorph sind und durch auffällige Kernatypien sowie hohe mitotische Aktivität gekennzeichnet sind. Diese Tumoren werden von der WHO als Grad IV eingestuft, dem höchsten Malignitätsgrad im Klassifikationssystem für Hirntumoren des ZNS. Ein herausragendes diagnostisches Merkmal ist die mikrovaskuläre Proliferation mit oder ohne Nekrose.

Ein neues diagnostisches Verfahren, das auf ein molekulargenetisches Profil basiert, entstand, als im Jahr 2008 eine Mutation der *Isocitrat-Dehydrogenase-1* (IDH1) erstmals von Parsons et al. in einer Studie entdeckt wurde, die 20,661 proteinkodierende Gene von 22 GBM-Patienten analysierte [14]. Die Studie zeigte, dass 12 % der GBM-Fälle die IDH1 Mutation aufweisen. Es handelt sich um eine Punktmutation im IDH1-Gen auf Chromosom 2q33, bei dem Guanin an der Nukleotidposition 395 durch Adenin ersetzt ist (G395A). Das IDH1-Gen kodiert für das Enzym *Isocitrat-Dehydrogenase-1*. Durch diese Mutation (G395A) wird Arginin (R) an Position 132 gegen Histidin (H) ausgetauscht (R132H). In der normalen Funktion wandelt IDH1 *Isocitrat* in α -Ketoglutarat (α -KG) um und produziert dabei NADPH, das für den Schutz vor oxidativem Stress wichtig ist. Kommt es zur Mutation des IDH1-Enzyms, wird das gebildete α -Ketoglutarat in den *2-Hydroxyglutarat* (2-HG) umgewandelt. Das 2-HG wirkt als onkogenes Metabolit und verändert den Zellstoffwechsel. Es inhibiert die *Prolylhydroxylase*, was dann den Hypoxie induzierten Faktor 1 α (HIF-1 α) aktiviert. HIF-1 α aktiviert unter anderem den *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) für die Angiogenese, die Tumorversorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff fördert und somit das Tumorstadium unterstützt [12]. Darüber hinaus, blockiert die IDH1-Mutation die Zelldifferenzierung, was zu einer Akkumulation von unreifen Zellen und zur Tumorbildung führen kann [15].

Das mutierte IDH1-Protein findet sich fast ausschließlich in sekundären Glioblastomen (mehr als 90 % der Glioblastome) [14] [16] [17] [18]. Diese Studienergebnisse lassen darauf schließen, dass sich eine IDH1-Mutation bereits in niedriggradigen Gliomen etabliert. Es wird angenommen, dass eine übermäßige Ansammlung von 2-HG eine wichtige Rolle bei der malignen Progression zu Glioblastomen spielt, indem sie die normale Zellfunktion stört und das Tumorstadium fördert. Allerdings verläuft das bösartige Fortschreiten bei IDH1-mutierten Glioblastomen langsamer als beim IDH1-Wildtyp (ohne Mutation) [19].

Die IDH1-Mutation stellt jedoch einen positiven prognostischen Faktor dar. Das klinische *Outcome* von Patienten mit IDH1-mutiertem GBM ist bedeutend besser. Zahlreiche Studien zeigten, dass das mediane Überleben von Patienten mit Glioblastom und IDH1-Mutation zwei- bis viermal so hoch ist wie das von Patienten ohne Nachweis einer IDH1-Mutation [12] [14] [17] [20]. Patienten mit IDH1-Mutation sprechen zudem besser auf eine adjuvante Therapie an, die entweder aus einer Chemotherapie, einer Strahlenbehandlung oder der Kombination aus beidem besteht, als Patienten ohne IDH1-Mutation [21]. Insgesamt unterstreichen diese klinischen Befunde die Bedeutung der Bestimmung des IDH1-Status bei Glioblastomen. Die WHO-Klassifikation der Tumoren des ZNS aus dem Jahr 2016 erkannte die IDH1-Mutation als einen der wichtigsten molekularen Marker an und klassifizierte GBM dementsprechend in IDH1-Wildtyp (IDH1wt) und IDH1-mutiert (IDH1mut) [3].

Die am häufigsten verwendete Methode zur Beurteilung des IDH1-Status ist die immunhistochemische Untersuchung und/oder DNA-Sequenzierung durch Biopsie oder Operation. Diese invasiven Verfahren sind jedoch mit erheblichen Risiken und Komplikationen für die Patienten verbunden. Darüber hinaus ist das Glioblastom ein heterogener Tumor, der durch unterschiedliche Mikroumgebungen und genetische Profile gekennzeichnet ist. Daher kann es bei der Probeentnahme zu unzureichenden Stichproben kommen, was zu einer Unterschätzung des tatsächlichen Malignitätsgrades des Tumors führen kann. Es ist unerlässlich, nicht invasive und objektive bildgebende Biomarker zur Bestimmung des IDH1-Status bei Glioblastomen zu entwickeln. Eine der robustesten nicht invasiven Techniken ist die Magnetresonanztomografie (MRT). Die MRT bietet nicht nur hochauflösende anatomische Bilder mit hohem Kontrast, sondern liefert auch zusätzliche wichtige physiologische Informationen.

2.3 Grundlagen der Magnetresonanztomographie (MRT)

2.3.1 Prinzip der MRT-Bildgebung

Der menschliche Körper besteht hauptsächlich aus Wasser (70%). In den Wassermolekülen sind Wasserstoffatome enthalten, die aufgrund ihrer magnetischen Eigenschaften für die MRT besonders relevant sind. Wasserstoffatome besitzen ein magnetisches Moment, da ihr Kern nur aus einem Proton besteht. Diese Eigenschaft ermöglicht es, die unterschiedliche Wasserverteilung in den Geweben des Körpers durch die MRT zu erfassen und bildlich darzustellen. Pathologische Veränderungen in einem Organ führen zu einer veränderten Wasserverteilung an der betroffenen Stelle, was eine Veränderung des magnetischen Verhaltens im Vergleich zu gesundem Gewebe bewirkt. Dadurch können Läsionen abgebildet werden. Die MRT verwendet ein starkes Magnetfeld und Hochfrequenzspulen zur Anregung der Kernspins im Körper sowie zum Empfang des resultierenden MR-Signals. Diese Signale werden danach verarbeitet und zu Magnetresonanzbildern umgewandelt. Der Ablauf der MRT-Messung lässt sich in drei Schritte unterteilen:

Magnetisierung der Protonen im Körper

Protonen, die positiv geladenen Teilchen im Atomkern, besitzen einen Eigendrehimpuls (Spin). Dieser Spin erzeugt ein kleines Magnetfeld, wodurch Protonen wie winzige Magnete wirken. Das Wasserstoffatom, das lediglich ein Proton im Kern enthält, kommt in großen Mengen in Wasser und Fett vor — beides wesentliche Bestandteile nahezu aller Körpergewebe. Aufgrund dieser Eigenschaften spielt das Wasserstoffatom eine zentrale Rolle bei der MRT. Im Ruhezustand, ohne äußere Kraftwirkung, sind die Spins zufällig orientiert, wodurch sich ihre magnetischen Momente gegenseitig aufheben. Wird der Körper dem Magnetfeld (B_0) eines MRT-Geräts ausgesetzt, richten sich die magnetischen Momente der Protonen entweder parallel oder

antiparallel zum äußeren Magnetfeld aus. Im stabilen Zustand (Gleichgewichtszustand) überwiegt die parallele Ausrichtung, da diese energetisch günstiger ist. Die daraus resultierende kleine Netto-Magnetisierung M_0 orientiert sich deshalb entlang der Feldachse (Z-Achse) und wird somit auch als Längsmagnetisierung M_z bezeichnet. Sie nimmt mit wachsender Protonendichte und Stärke des äußeren Magnetfeldes zu.

Darüber hinaus führen die Spins eine kreisende Bewegung um die Achse der Feldrichtung aus, die als Präzession bezeichnet wird. Die Protonen präzedieren dabei mit einer charakteristischen Frequenz, die Präzessions-, Larmor- oder Resonanzfrequenz genannt wird und proportional zur Stärke des Magnetfeldes ist. Diese Frequenz wird durch die Larmor-Gleichung beschrieben [22, p. 3]:

$$\omega_L = \gamma \cdot B_0 \quad (1)$$

dabei sind

ω_L : Larmorfrequenz in [MHz]

γ : gyromagnetisches Verhältnis, charakteristisch für jedes Element, für Protonen ist $\gamma = 42,58$ MHz/T

B_0 : Stärke des Magnetfeldes in Tesla [T]

Anregung des Spinsystems durch Hochfrequenzimpuls

Zur Erzeugung eines MR-Signals müssen die Spins durch Radiowellen angeregt werden, wodurch sie vom Gleichgewichtszustand in einen angeregten Zustand übergehen. Diese wirkungsvolle Anregung erfolgt jedoch nur, wenn die Schwingfrequenz der Radiowellen mit der Larmorfrequenz der Spins übereinstimmt. Im angeregten Zustand absorbieren die Spins Energie von den Hochfrequenz-Pulsen (HF-Pulsen), was dazu führt, dass ihre magnetischen Momente um einen Winkel α gegenüber der Z-Achse ausgelenkt werden. Dieser als Flipwinkel bezeichnete Winkel α hängt von der Stärke und der Dauer der Einwirkung des HF-Pulses ab. In diesem Zustand wird der Gesamtmagnetisierungsvektor M_0 in zwei Komponenten aufgeteilt: die entlang der Z-Achse orientierte Längsmagnetisierung M_z und die in der XY-Ebene, senkrecht zur Z-Achse, liegende Quermagnetisierung M_{xy} (siehe Abb. 2.1a). HF-Pulse werden entsprechend ihrem Flipwinkel benannt, beispielsweise ein 90° -Puls, bei dem der Flipwinkel $\alpha = 90^\circ$ beträgt. Dieser 90° -Puls klappt die Längsmagnetisierung M_z in die XY-Ebene um, wodurch die Quermagnetisierung M_{xy} entsteht (siehe Abb. 2.1b). Diese rotiert um die Z-Achse und induziert dabei in der Empfangsspule eine elektrische Spannung: das MR-Signal [22, p. 5].

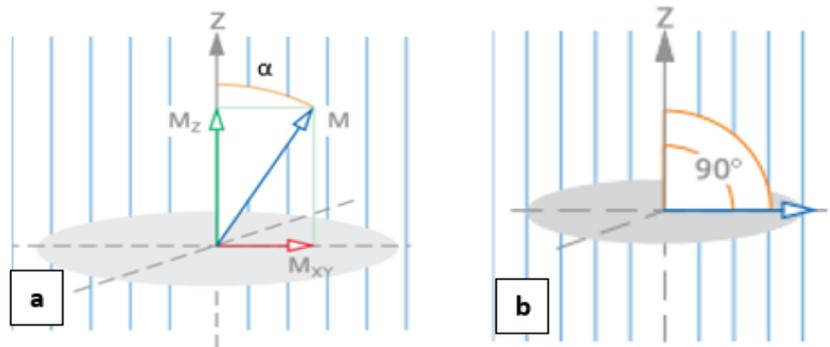


Abbildung 2.1: Zwei zueinander senkrechte Komponenten M_z und M_{xy} bei der Anregung durch einen α -Puls (a). Nach einem 90° -Puls erreicht die Quermagnetisierung M_{xy} ihr Maximum, und das MR-Signal ist somit am stärksten (b) [23, pp. 52, 59]

Relaxation, Signalaufnahme und Bildrekonstruktion

Nach dem Abschalten des 90° -Pulses kehren die Protonen unter dem Einfluss des äußeren Magnetfeldes B_0 allmählich vom angeregten Zustand in den ursprünglichen Gleichgewichtszustand zurück (Relaxation). Dabei nimmt die Quermagnetisierung M_{xy} ab, was zu einem Rückgang des messbaren MR-Signals führt, während sich die Längsmagnetisierung M_z wieder aufbaut. Diese Prozesse basieren auf zwei gleichzeitig ablaufenden, jedoch voneinander unabhängigen Vorgängen [22, pp. 8-9]:

- Spin-Gitter-Relaxation (Längsrelaxation oder longitudinale Relaxation): Die Spin-Gitter-Wechselwirkung führt zur Rückkehr der Magnetisierung in die Z-Richtung, wobei Energie an die Umgebung (Gitter) abgegeben wird. Die Längsmagnetisierung M_z baut sich dabei wieder auf. Der Parameter, der die Dauer dieses Prozesses beschreibt, wird als longitudinale Relaxationszeit (T_1) bezeichnet.
- Spin-Spin-Relaxation (Querrelaxation oder transversale Relaxation): Die Spin-Spin-Wechselwirkung bewirkt eine Dephasierung der Spins. Unmittelbar nach der Anregung präzedieren die Spins synchron („in Phase“). Im Laufe der Zeit geraten die Spins jedoch außer Phase, was zur gegenseitigen Aufhebung ihrer Magnetisierungsvektoren führt. Dadurch nimmt die Quermagnetisierung M_{xy} ab und verschwindet schließlich. Der Parameter, der die Dauer dieses Prozesses beschreibt, wird als transversale Relaxationszeit (T_2) bezeichnet. Zusätzlich verstärken Inhomogenitäten des externen Magnetfeldes, die sowohl durch das MR-Gerät als auch durch den menschlichen Körper verursacht werden, die Dephasierung der Spins. Dies führt zu einem schnelleren Zerfall der Quermagnetisierung, der durch die Zeitkonstante T_2^* beschrieben wird. Dieser Prozess wird als T_2^* -Relaxation bezeichnet.

Die MR-Signale, die von den Empfangsspulen aufgezeichnet werden, werden rechnerisch verarbeitet und in Graustufenbilder umgewandelt, wobei helle Bereiche eine hohe Signalintensität und schwarze Bereiche keinen Signalempfang darstellen.

2.3.2 Relaxationszeiten

2.3.2.1 T1-Relaxation

Während der longitudinalen Relaxation nimmt der Längsmagnetisierung M_z exponentiell zu: Zunächst erfolgt der Anstieg schnell, verlangsamt sich dann allmählich, bis sie schließlich ihr Maximum M_0 erreicht (siehe Abb. 2.2). Die Gleichung beschreibt die longitudinale Relaxation:

$$M_z = M_0 \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}\right) \quad (2)$$

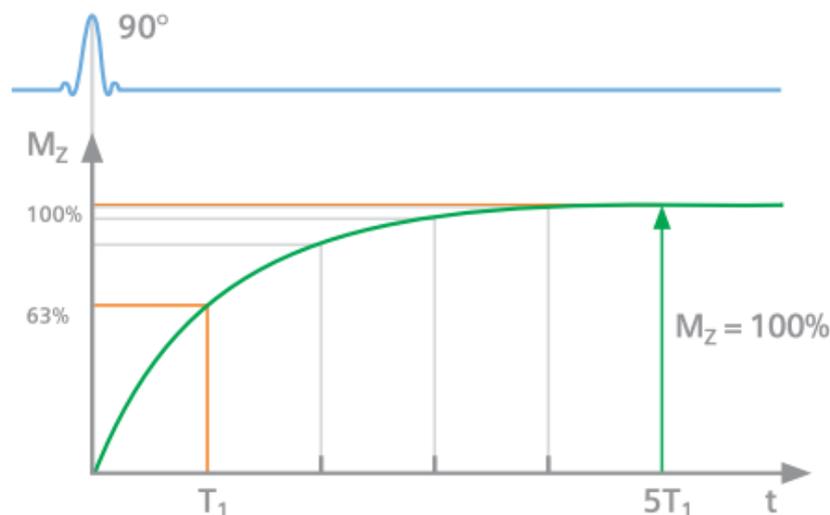


Abbildung 2.2: exponentielle Kurve der longitudinalen Relaxation nach dem 90° -Puls [23, p. 71]

Die T1-Relaxationszeit wird als die Zeit definiert, die erforderlich ist, damit die Längsmagnetisierung 63 % des Ausgangswertes M_0 erreicht. Nach fünfmal der T1-Zeit wird der Gleichgewichtszustand nahezu vollständig wiederhergestellt. Wie im Abschnitt 2.3.1 erwähnt, erfolgt die Längsrelaxation durch die Abgabe von Energie an die Umgebung, sodass die Geschwindigkeit der Energieabgabe die T1-Zeit beeinflusst. Gewebe, das viele gebundene Wassermolekülen enthält, die aufgrund der Anwesenheit von Makromolekülen wie Lipiden oder Proteinen weniger beweglich sind, hat in der Regel eine kurze T1-Zeit, wie beispielsweise Fettgewebe [23, p. 74]. Dies liegt daran, dass die Protonen stark durch die von diesen Makromolekülen erzeugten lokalen Magnetfelder beeinflusst werden. Diese Wechselwirkung beschleunigt den Energieaustausch zwischen den Protonen und der Umgebung, was zu einer schnellen Erholung führt und somit die T1-Zeit verkürzt. Im Gegensatz dazu haben Protonen in freiem Wasser, das kaum oder keine Makromoleküle in der Umgebung aufweist, weniger

Wechselwirkungen mit der Umgebung, wodurch der Energieaustausch langsamer erfolgt und mehr Zeit für die Erholung zum Gleichgewichtszustand benötigt wird [24].

Bei einer bestimmten Magnetfeldstärke hat jedes Gewebe im Körper eine charakteristische T1-Zeit. Je mehr freies Wasser vorhanden ist, desto länger ist die T1-Zeit. Zum Beispiel hat bei einem Magnetfeld von 7 Tesla die Cerebrospinalflüssigkeit, die hauptsächlich aus freiem Wasser besteht, eine sehr lange T1-Zeit von etwa 4425 ms, während die T1-Zeit von Weichgeweben wie weißer Substanz und grauer Substanz in der Regel 2500 ms nicht überschreitet (siehe Tabelle 2.1). Weiße Substanz hat eine kürzere T1-Zeit als graue Substanz (1220 ms gegenüber 2132 ms), da die weiße Substanz mehr Fett enthält als die graue Substanz. Mit zunehmender Magnetfeldstärke verlängert sich auch die T1-Zeit der Gewebe.

B ₀ (T)	WM	cGM	Caudate	Thalamus	Putamen	Globus pallidus	Blood	CSF
0.15	352 (±39)							4360 (±600)
0.20	361 (±17)	635 (±54)	555 (±19)	522 (±44)	524 (±19)	411 (±20)	776 (±22)	4408 (±187)
0.50	366 (±11)							
0.60								4220 (±280)
1.0	555 (±20)	1036 (±19)	898 (±45)	807 (±47)	815 (±16)	625 (±14)	1351 (±24)	4276 (±109)
1.5	656 (±16)	1188 (±69)	1083 (±52)	972 (±32)	981 (±13)	746 (±20)	1540 (±23)	4070 (±65)
1.5	633 (±8)	1148 (±24)						5127 (±350)
	636 (±29)	1113 (±48)		814 (±26)	919 (±42)			
	641 (±11)	1085 (±31)	1080(±20)	850 (±23)	953 (±22)			
1.6								4310 (±520)
3.0	838 (±78)	1283 (±161)						
	847 (±43)	1763 (±60)	1483(±42)	1218 (±40)	1337 (±42)			
4.0	1010 (±19)	1723 (±93)	1509 (±53)	1452 (±87)	1446 (±32)	1143 (±27)	1914 (±114)	4472 (±85)
4.0	1043(±27)	1724 (±51)	1458(±37)		1372 (±60)			4550 (±800)
	831 (±37)	1311 (±66)	1520(±90)	1214 (±72)	1271 (±81)			3386 (±460)
	1010 (±60)	1530 (±70)		1350 (±50)	1320 (±40)			3500 (±400)
7.0	1220 (±36)	2132 (±103)	1745 (±64)	1656 (±84)	1700 (±66)	1347 (±52)	2587 (±283)	4425 (±137)

Tabelle 2.1: T1-Werte (in ms) verschiedener Regionen des menschlichen Gehirns, gemessen bei unterschiedlichen Magnetfeldstärken in der Studie von Rooney et al. [25] (WM = Weiße Substanz, GM = Graue Substanz, CSF = Cerebrospinalflüssigkeit)

2.3.2.2 T2-Relaxation

Der zeitliche Abfall der Quermagnetisierung wird durch eine exponentielle Kurve beschrieben.

$$M_{xy} = M_0 \cdot e^{\frac{-t}{T_2}} \quad (3)$$

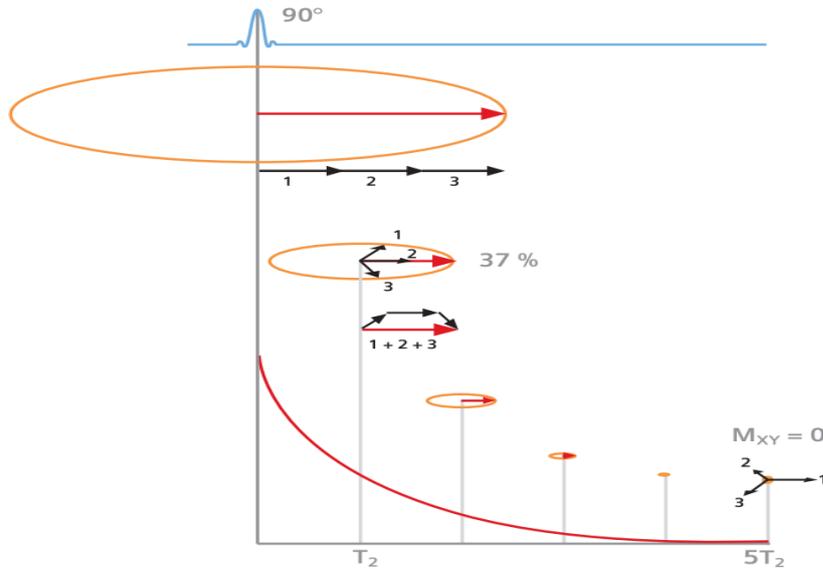


Abbildung 2.3: exponentielle Kurve stellt den zeitlichen Abfall der Quermagnetisierung aufgrund der Dephasierung dar [23, p. 77]

Die transversale Relaxationszeit oder T₂-Zeit wird als die Zeit definiert, in der die Quermagnetisierung auf etwa 37 % ihres Ausgangswertes M_0 absinkt. Das MR-Signal entsteht durch die Rotation des Quermagnetisierungsvektors um die Z-Achse. Daher führt der Abfall dieses Vektors dazu, dass das MR-Signal allmählich abnimmt und schließlich verschwindet. Dieses Signal wird als Freier Induktionsabfall (FID) bezeichnet und die T₂-Zeit ist die Zeitkonstante des Signalabfalls [23, p. 60]. Die T₂-Zeit ist in der Regel kürzer als die T₁-Zeit [23, p. 65].

Entsprechend der T₁-Relaxationszeit weisen Gewebe mit einem hohen Anteil an freien Wassermolekülen (z.B. Nekrosen, Tumoren) oder Körperflüssigkeiten (z.B. Liquor oder Ödeme) in der Regel lange T₂-Relaxationszeiten auf. Dies liegt daran, dass die Protonen im freien Wasser schneller als die Larmorfrequenz präzedieren, was zu schwächeren Protonenwechselwirkungen führt und die Dephasierung verlangsamt [24].

Sowohl T₁ als auch T₂ sind zeitliche Konstanten, die für jedes Gewebe charakteristisch sind. Gewebe mit einer kurzen T₁-Zeit haben in der Regel auch eine kurze T₂-Zeit und umgekehrt. Die Unterschiede in den T₁- und T₂-Zeiten zwischen den Geweben ermöglichen eine deutliche Abgrenzbarkeit auf den MRT-Bildern: Je größer die Differenz der T₁- oder T₂-Zeiten zwischen den Geweben ist, desto deutlicher sind die Signalintensitätsunterschiede und damit der Bildkontrast. Ein MRT-Bild, das auf den Unterschieden der T₁-Zeiten basiert, wird als T₁-Gewichtung (T₁w) bezeichnet. Ein Bild, das auf den T₂-Unterschieden basiert, wird als T₂-Gewichtung (T₂w) bezeichnet.

2.3.3 Kontrastmechanismen

2.3.3.1 Repetitionszeit und Echozeit

Um ein MR-Bild einer Schicht zu erstellen, muss diese mehrfach angeregt und gemessen werden. Der Zeitraum zwischen zwei aufeinanderfolgenden Anregungen wird als Repetitionszeit (TR, „*time repetition*“) bezeichnet und in Millisekunden (ms) angegeben. TR ist ein entscheidender Parameter für den T1-Kontrast, da es die Erholungszeit der Spins zwischen den aufeinanderfolgenden Anregungen bestimmt.

Das FID-Signal ist in der Praxis schwer zu erfassen, da der Zerfall zu schnell erfolgt. Um das MR-Signal messen zu können, wird daher die Phasenreihenfolge der Spins (außer Phase) durch einen 180°-Puls rückgängig gemacht. Das so gemessene MR-Signal wird als Spin-Echo oder Echo bezeichnet. Der Zeitraum von der Anregung durch den 90°-Puls bis zum Erreichen des stärksten Echosignals wird als Echozeit (TE, „*time echo*“) bezeichnet und in Millisekunden (ms) angegeben [23, p. 89]. TE bestimmt den T2-Kontrast, da es die Zeitspanne festlegt, in der das Signal nach der letzten Anregung gemessen wird.

T1 und T2 sind zeitliche Konstanten, die für jedes Gewebe charakteristisch und nicht veränderbar sind. Durch die Anpassung der Parameter TR und TE können allerdings verschiedene kontrastreiche Bildtypen erzeugt werden: T1- und T2-gewichtete Bilder.

2.3.3.2 T1-Gewichtung

Um T1-gewichtete Bilder (T1w) mit optimalem T1-Kontrast zwischen zwei Gewebearten zu erzeugen, sollten TR und TE kurz gewählt werden. Bei einer kurzen TR erholt sich das Gewebe mit kurzer T1-Zeit schneller als das Gewebe mit langer T1-Zeit, was zu einem stärkeren MR-Signal führt und dieses Gewebe im Bild hell erscheinen lässt (hyperintens). Im Gegensatz dazu wird bei Geweben mit langer T1-Zeit nur wenig Längsmagnetisierung für die nächste Anregung wiederhergestellt, was ein schwächeres Signal erzeugt und sie im Bild dunkel erscheinen lässt (hypointens) [22, p. 13]. Die Wahl einer kurzen TE ermöglicht es, das Signal frühzeitig zu erfassen, bevor es zu einem Abfall kommt, und optimiert somit die Signalintensität der Gewebe mit kurzer T1-Zeit.

2.3.3.3 T2-Gewichtung

Um T2-gewichtete Bilder (T2w) mit maximalem T2-Kontrast zwischen zwei Gewebearten zu erzeugen, sollten TR und TE lang gewählt werden. Bei einer langen TE nimmt das Signal von Geweben mit kurzer T2-Zeit schneller ab als das von Geweben mit langer T2-Zeit, was zu einer Hypointensität führt. Gewebe mit langer T2-Zeit erscheinen hingegen hyperintens im T2w-Bild [22, p. 14]. Die Wahl einer langen TR ermöglicht es den Geweben, unabhängig von ihren T1-Unterschieden, ausreichend Zeit zu haben, um die Längsmagnetisierung nach jeder

Anregung vollständig zu erholen, sodass das Signal nicht durch T1-Unterschiede beeinflusst wird. Dies verstärkt den Kontrast, der auf dem T2-Abfall der Gewebe basiert.

2.3.4 Pixel, Voxel und Matrix

Das MR-Bild setzt sich aus einer Matrix von Pixeln zusammen. Diese Matrix bildet ein zweidimensionales Raster, das sich aus Zeilen und Spalten zusammensetzt [22, p. 30]. Jedes Element dieses Rasters ist ein Pixel (Bildelement), das einen bestimmten Grauwert bzw. eine Signalintensität aufweist. Diese Grauwertmatrix liefert insgesamt eine bildliche Darstellung. Jeder Pixel enthält Informationen, die einem Voxel (Volumenelement) in einer Schicht entsprechen (siehe Abb. 2.4). Eine höhere Anzahl von Pixeln führt zu einer detaillierteren und schärferen Bilddarstellung. Ein daraus folgendes niedriges Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) führt jedoch zu weniger Kontrast. Dies wird als höhere Auflösung bezeichnet. Die Matrixgröße wird durch die Anzahl der Bildpunkte pro Reihe und Spalte definiert. So besteht beispielsweise eine 256 x 256-Matrix aus 256 Bildelementen in jeder Reihe und jeder Spalte. [23, p. 109]

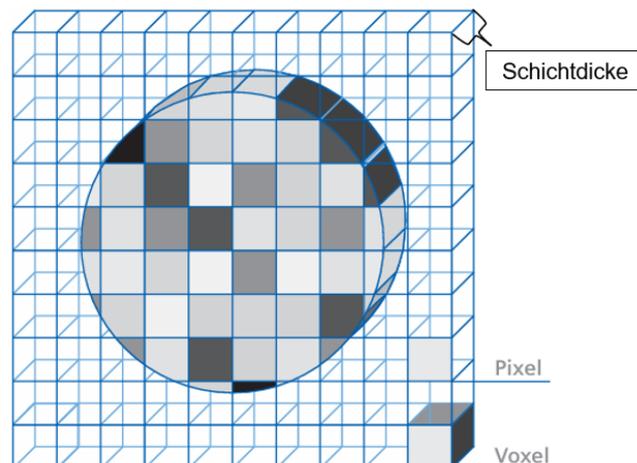


Abbildung 2.4: Ein MRT-Bild wird durch Pixel im zweidimensionalen Raum oder durch Voxel im dreidimensionalen Raum dargestellt. Jeder Pixel weist einen bestimmten Grauwert bzw. eine Signalintensität auf. [23, p. 109]

2.3.5 Pulssequenzen

Zur Beurteilung der strukturellen Unterschiede in verschiedenen Körperregionen sowie von Läsionen und deren Eigenschaften, werden in der Regel verschiedene Pulssequenzen in unterschiedlichen Schnittebenen (axial, sagittal, koronar) eingesetzt. Diese unterschiedlichen Pulssequenzen basieren auf zwei grundlegenden Sequenztypen: Spinecho (SE) und Gradientenecho (GRE). Eine MRT-Pulssequenz besteht aus den folgenden grundlegenden Abläufen: Anregung der Spins, Schichtselektion, Phasenkodierung, Frequenzkodierung und Auslesen des Echos [23, p. 121].

2.3.5.1 Spinechosequenz und Ortskodierung

Die Spinechosequenz (SE) beginnt mit einem anregenden 90° -Puls. Zeitgleich wird der Schichtselektionsgradient (G_s) geschaltet. G_s bewirkt eine lineare Änderung des Magnetfeldes B_0 entlang der Z-Achse, was zu einer Veränderung der Resonanzfrequenz der Spins entlang dieser Achse führt. Aufgrund dieser Frequenzunterschiede kann eine Schicht durch einen Anregungspuls mit einer Frequenz ausgewählt werden, die der Resonanzfrequenz der Spins in dieser Schicht entspricht. Zum Zeitpunkt der halben Echozeit ($TE/2$) wird ein 180° -Puls ausgesendet, der die Phase der Spins umkehrt. Der Gradient G_s wird ebenfalls zu diesem Zeitpunkt erneut aktiviert, um sicherzustellen, dass der 180° -Puls nur auf die Spins in der zuvor ausgewählten Schicht wirkt [23, p. 122]. Das von der SE-Sequenz gemessene Signal wird als Spinecho bezeichnet.

Werden der Frequenzkodiergradient (G_f) und der Phasenkodiergradient (G_p) nicht zugeschaltet, so handelt es sich bei den gemessenen Signalen nur um Summensignale der Voxel in der ausgewählten Schicht. Um die einzelnen Signalbestandteile zu unterscheiden und ihre Position im Raum zu bestimmen, wird G_f entlang der X-Achse und G_p entlang der Y-Achse aktiviert. Dieser Vorgang wird als Ortskodierung bezeichnet. Die Funktionsweise von G_f und G_p ist analog zu der von G_s : Sie bewirken eine lineare Änderung des statischen Magnetfeldes B_0 entlang ihrer jeweiligen Achsen, was zu einer Veränderung der Resonanzfrequenz der Spins entlang dieser Achsen führt. Während der Frequenzkodiergradient G_f Frequenzunterschiede entlang der X-Achse erzeugt (Frequenzkodierung), wird der Phasenkodiergradient G_p für kurze Zeit geschaltet, um Phasenunterschiede für die Spins mit derselben Frequenz entlang der Y-Achse zu erzeugen. Jedes Echo-Signal, das nach einer SE-Pulsfolge gemessen wird, füllt eine Zeile im k-Raum (Raum der Rohdaten) auf. Sobald der k-Raum vollständig gefüllt ist, wird die Pulssequenz beendet. Die Anzahl der Zeilen im k-Raum entspricht der Anzahl der Phasenkodierschritte und gibt die Anzahl der Wiederholungen der Pulssequenz an [23, p. 116]. Zum Beispiel erfordert die Phasenkodierung für eine Matrix mit 256×256 Pixeln 256 Schritte, was 256 Wiederholungen der Pulssequenz entspricht.

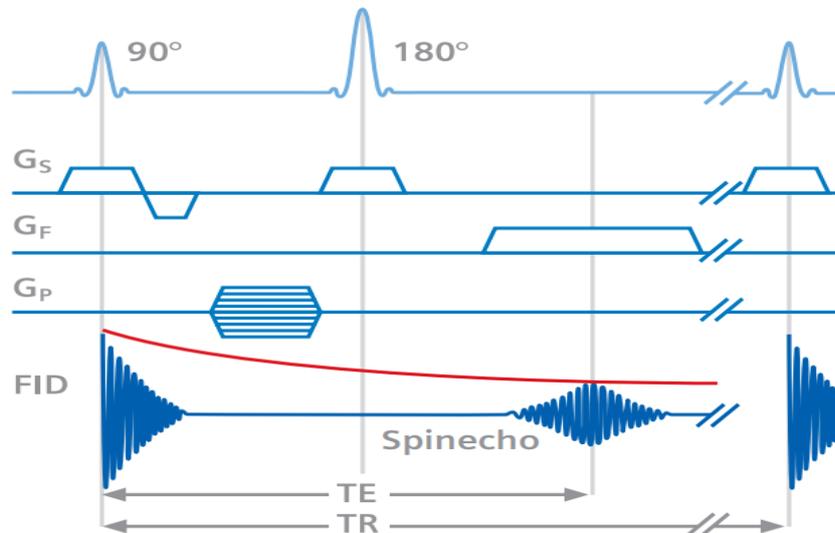


Abbildung 2.5: Ablaufschema der Spinecho-Pulssequenz [23, p. 123]

Da bei jeder Aussendung eines Anregungspulses lediglich ein einzelnes Echo-Signal erfasst wird, dauert die Aufnahme sehr lange. Zum Beheben dieses Nachteils, wurden schnellere Sequenzen wie RARE und MSME entwickelt.

2.3.5.2 Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement (RARE)

Zur Verkürzung der Bildaufnahmezeit wurde die RARE-Sequenz aus der grundlegenden Spinechosequenz modifiziert, indem die 'Leerlaufzeit' zwischen der Aufnahme des Echo-Signals (TE) und der Wiederholung der Pulssequenz (TR) genutzt wurde, da TE in der Regel viel kürzer als TR ist. In jedem Bildaufnahmezyklus (pro TR) werden mehrere 180°-Pulse hintereinander eingesetzt, anstatt nur eines wie in der konventionellen SE-Sequenz, um eine Serie von Spinechos zu erzeugen (siehe Abb. 2.6). Jedes empfangene Echo-Signal hat aufgrund der Aktivierung des Phasenkodiergradienten vor jedem Echo eine unterschiedliche Phasenkodierung, wodurch mehrere Datenzeilen im k-Raum pro Anregung erfasst werden [22, p. 57]. Die Serie der erzeugten Echos in einem TR wird als Echozug („*echo train*“) bezeichnet, und die Anzahl der empfangenen Echos als Echozuglänge („*echo train length*“, ETL) [22, p. 56]. Aufgrund der längeren TR und TE wird RARE bevorzugt bei der T2-gewichteten Bildgebung verwendet [26, p. 309]. Die RARE-Technik wird häufig unter kommerziellen Namen wie Fast Spin Echo (FSE), Turbo Spin Echo (TurboSE) oder TurboRARE genutzt.

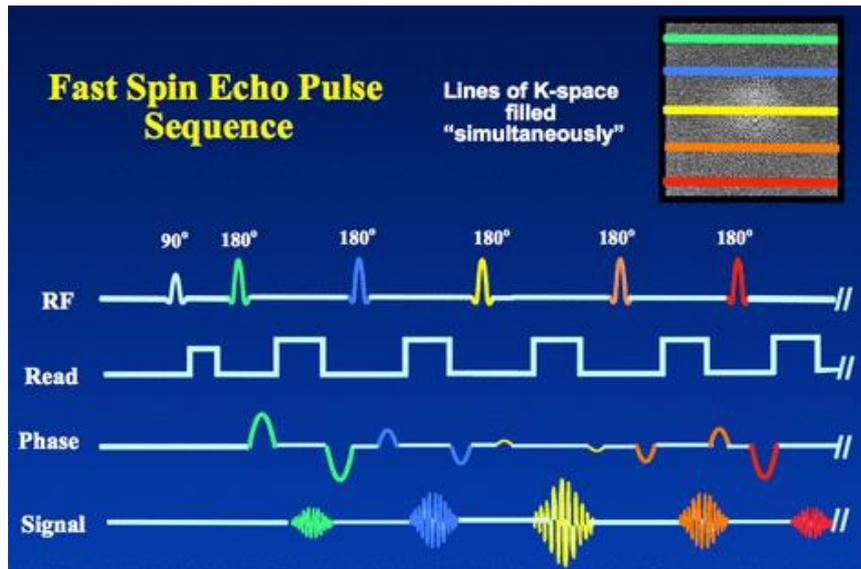


Abbildung 2.6: Schematische Darstellung der RARE-Pulssequenz. Eine Serie von Echo-Signalen wird durch den Einsatz mehrerer 180°-Pulse erzeugt. Jedes Echo-Signal wird separat phasenkodiert, was die gleichzeitige Erfassung mehrerer Datenzeilen im k-Raum ermöglicht und somit die Bildaufnahme beschleunigt. [27]

2.3.5.3 Multi-Slice-Multi-Echo-Sequenz (MSME)

Die Funktionsweise der MSME-Pulssequenz ähnelt der der RARE-Pulssequenz. Der Unterschied besteht darin, dass jedes Echo verwendet wird, um ein Bild mit einer unterschiedlichen Echozeit (TE) zu erzeugen [26, p. 306]. Während die RARE-Sequenz nur ein T2-gewichtetes Bild (zu einem bestimmten TE-Zeitpunkt) in einer Körperschicht liefert, ermöglicht die MSME-Sequenz die Erfassung mehrerer T2-gewichteter Bilder (zu unterschiedlichen TE-Zeitpunkten) in derselben Schicht. Daher wird MSME häufig verwendet, um T2-Parameterkarten zu erstellen und die T2-Werte des Gewebes anhand der Signalintensitätsänderungen in Abhängigkeit von TE zu berechnen. Die Beziehung zwischen der Signalintensität und der Echozeit wird durch die monoexponentielle Zerfallsgleichung beschrieben:

$$S(TE) = S_0 \cdot e^{-\frac{TE}{T_2}} \quad (4)$$

Neben der *Multi-Echo* wird bei der MSME-Sequenz die Mehrschichten (*Multi-Slice*) angewendet, die es ermöglicht, Signale mehrerer Schichten in derselben Zeitspanne zu erfassen. Dies erhöht die Effizienz der Messung und verkürzt die Aufnahmezeit. Nach der Anregung und Messung des Signals einer Schicht kann während der Wartezeit, in der die Längsmagnetisierung dieser Schicht wiederhergestellt wird, eine andere Schicht angeregt und gemessen werden. Der zweite Anregungspuls muss eine andere Frequenz als der erste aufweisen, um die erste Schicht nicht zu beeinflussen. Die Anzahl der Schichten, die erfasst werden können, hängt von der Wiederholzeit (TR) ab.

2.3.5.4 Gradientenechosequenz

Im Gegensatz zur Spinechosequenz verwendet die Gradientenechosequenz (GRE) anstelle eines 180° -Pulses ein System von Gradientenspulen, um das Echo-Signal zu erzeugen. Während die Quermagnetisierung M_{xy} abklingt, wird zur Dephasierung der Spins der Frequenzkodiergradient mit negativer Polarität geschaltet. Anschließend wird der Gradient abrupt von negativer auf positive Polarität umgeschaltet, um die Spins wieder in Phase zu bringen (Rephasierung) [22, p. 52]. Das Echo-Signal wird zu dem Zeitpunkt gemessen, an dem die meisten Spins wieder in Phase sind. Darüber hinaus verwendet die GRE-Sequenz einen Anregungsimpuls mit einem Flipwinkel von weniger als 90° , sodass nur ein Teil der Längsmagnetisierung M_z in die Quermagnetisierung M_{xy} umgewandelt wird. Dadurch verläuft die Relaxation der Längsmagnetisierung viel schneller als bei der Spinechosequenz [23, p. 149]. Dies ermöglicht die Verwendung einer kürzeren Repetitionszeit (TR) und erzeugt dennoch ein starkes MR-Signal, was die Bildaufnahmezeit verkürzt.

Da GRE keine 180° -Pulse zur Rephasierung der Spins verwendet, wird die Dephasierung der Spins aufgrund lokaler Magnetfeldinhomogenitäten nicht ausgeglichen. Dies führt zu einem schnelleren Signalzerfall. Die mit der GRE-Sequenz erzeugten Bilder sind daher $T2^*$ -gewichtet, wenn die Echozeit ausreichend lang gewählt wird. Um hingegen $T1$ -gewichtete Bilder zu erhalten, muss die Echozeit so kurz wie möglich gewählt werden, da bei einer kurzen TE der $T2^*$ -Kontrast minimiert wird [22, p. 52].

2.3.5.5 FLASH-Sequenz

Die gespoilte GRE-Sequenz wird häufig unter den kommerziellen Namen FLASH (*Fast Low-Angle Shot*) oder SPGR (*Spoiled Gradientenecho*) verwendet [22, p. 53]

Die FLASH-Sequenz wird aufgrund der Verwendung eines kleinen Flipwinkels (α) und einer kurzen Repetitionszeit (TR) für die schnelle Bildgebung eingesetzt. Wenn die α -Pulse kontinuierlich ausgesendet werden, wird die Längsmagnetisierung zunehmend abgelenkt und nimmt allmählich ab. Nach mehreren Pulsen erreicht die Längsmagnetisierung einen stabilen Zustand (Gleichgewichtszustand, „*Steady State*“), in dem sich die Erholung der Magnetisierung und deren Verlust ausgleichen. Die FLASH-Sequenz arbeitet in diesem Zustand und verwendet HF-Pulse mit kleinen Flipwinkeln, um schnell Signale zu erfassen und so die Bildaufnahmezeit zu verkürzen. Aufgrund der kurzen TR bleibt allerdings ein Teil der Quermagnetisierung von der vorherigen Anregung erhalten und zerfällt nicht vollständig. Dieses Restsignal wird bei der nächsten Anregung erfasst und kann Störungen verursachen, die den $T1$ -Kontrast verfälschen. Um einen präzisen $T1$ -Kontrast zu gewährleisten, muss die verbleibende Quermagnetisierung vor dem nächsten α -Puls durch spezielle Gradienten- oder Hochfrequenzimpulse

zerstört werden. Dieser Vorgang wird als 'Spoiling' bezeichnet [22, p. 52] [23, p. 151]. Aufgrund ihrer schnellen Bildgebung wird die FLASH-Sequenz häufig in der DCE-MRT eingesetzt, die eine hohe zeitliche und räumliche Auflösung erfordert.

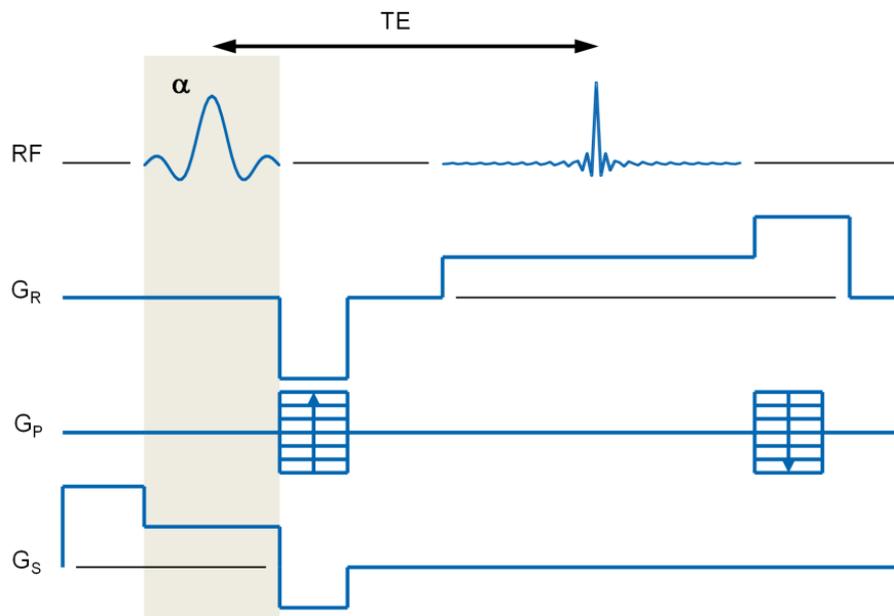


Abbildung 2.7: Schematische Darstellung der FLASH-Sequenz [26, p. 286]

2.4 Mikrovaskulatur des Tumors und Blut-Hirn-Schranke

Der Malignitätsgrad eines Tumors kann anhand seiner Mikrovaskulatur und deren Zirkulation beurteilt werden. Während des Wachstums und der Progression benötigt der Tumor eine Blutversorgung, um Sauerstoff und Nährstoffe zu den Tumorzellen zu transportieren. Dies erfolgt durch die Angiogenese, die durch molekulare Faktoren wie den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF) reguliert wird. Das Ergebnis dieses Prozesses ist die Bildung und Entwicklung von neuen Blutgefäßen (Neovaskularisation). Bei hochgradigen Tumoren wie dem Glioblastom verläuft die Angiogenese sehr schnell und unkontrolliert, wodurch das Netzwerk der neu gebildeten Blutgefäße morphologisch stark von normalen Gefäßen abweicht. Insbesondere sind diese neuen Gefäße oft ungleichmäßig und deformiert. Sie entwickeln sich nicht nach der üblichen Gefäßstruktur, sondern weisen oft gewundene und abrupt verlaufende Gefäßabschnitte auf. Darüber hinaus sind die Endothelzellen, die die Gefäßwand bilden, weniger dicht miteinander verbunden als bei normalen Blutgefäßen, was zu einer erhöhten Leckage und einer gesteigerten Gefäßpermeabilität führt [28, p. 5]. VEGF stimuliert nicht nur die Angiogenese, sondern erhöht auch die Durchlässigkeit der Blutgefäße [29, p. 342].

Basierend auf der Struktur des Endothels und der Permeabilität von Substanzen durch diese Schichten wird die Mikrovaskulatur in vier Typen unterteilt: kontinuierlich, diskontinuierlich, fenestriert und Kapillaren mit *Tight Junctions*. Die Kapillaren mit *Tight Junctions* sind dabei die

restriktivsten, da sie sehr enge Verbindungen zwischen den Endothelzellen aufweisen und die Passage von großen Molekülen sowie den meisten unerwünschten Substanzen verhindern [28, p. 25]. Ein typisches Beispiel für diesen Kapillartyp ist die Blut-Hirn-Schranke (BHS). Die BHS ist eine semipermeable Struktur des zentralen Nervensystems, die die passive Diffusion und den aktiven Transport von gelösten Stoffen sowie Nährstoffen zwischen Blut und Gehirn reguliert und gleichzeitig die meisten großen Moleküle und schädlichen Substanzen am Eindringen in das Gehirn hindert [30]. Im Falle einer Störung der Blut-Hirn-Schranke, die häufig bei Tumoren beobachtet wird, kommt es zu einer erhöhten Permeabilität, was den Durchtritt niedermolekularer Kontrastmittel (< 65 nm), wie gadoliniumhaltiger Kontrastmittel (<60 nm), vom Blut ins Gehirn erleichtert [31].

2.5 Gadolinium-basierte Kontrastmittel

Zur Verbesserung des Bildkontrastes werden Kontrastmittel (KM) eingesetzt. Die am häufigsten verwendete Kontrastmittel basieren auf Gadolinium (Gd) in Form von Chelatkomplexen¹. Diese sind stark paramagnetisch und beeinflussen die Protonen in unmittelbarer Umgebung des Kontrastmittels, wodurch deren Relaxationsprozesse beschleunigt werden. Dies führt zu einer Verkürzung der T1- und T2-Zeiten und damit zu einer Signalverstärkung, was sich in der Aufhellung von anatomischen Strukturen in T1-gewichteten Bildern zeigt. Je nach Kontrastmittel variiert das Ausmaß der T1-Verkürzung (siehe Tabelle 2.2). Die Wirksamkeit der T1-Verkürzung wird durch die spezifische Relaxivität r_1 charakterisiert, welche in der Einheit $1/(\text{mM} \cdot \text{s})$ oder $\text{L}/(\text{mmol} \cdot \text{s})$ angegeben wird. Darüber hinaus verringert sich die T1-Zeit proportional zur Konzentration des Kontrastmittels. Diese Beziehung wird durch die Solomon-Bloembergen-Gleichung beschrieben [28, p. 70]:

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{T_{10}} + r_1 \cdot c[\text{Gd}] \quad (5)$$

wobei, $R_1 = \frac{1}{T_1}$: Relaxationsrate nach der KM [1/s]

$R_{10} = \frac{1}{T_{10}}$: Relaxationsrate ohne Kontrastmittel [1/s]

r_1 : spezifische Relaxivität $[\frac{1}{\text{mM} \cdot \text{s}}]$ oder $[\frac{\text{L}}{\text{mmol} \cdot \text{s}}]$, ist abhängig vom äußeren Magnetfeld B_0 , der Temperatur und der chemischen Struktur des Kontrastmittels.

$c[\text{Gd}]$: Konzentration des Gd-Kontrastmittels

¹ Chelate sind ringförmige chemische Strukturen, die ein Metallion enthalten.

Internationale Freiname (INN)	Abkürzung	Markenname	r_1 [$\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$]
Gadopentetate dimeglumine	Gd-DTPA	Magnevist®	3.3
Gadodiamide	Gd-DTPA-BMA	Omniscan®	3.5
Gadoterate meglumine	Gd-DOTA	Dotarem®	3.2
Gadoteridol	Gd-HP-DO3A	ProHance®	3.3
Gadobutrol	Gd-DO3A-Butrol	Gadovist®	4.7
Gadobenate dimeglumine	Gd-BOPTA	MultiHance®	4.3

Tabelle 2.2: Die auf dem Markt erhältlichen Gd-basierten Kontrastmittel und deren entsprechende r_1 -Werte, gemessen bei 7 Tesla und 37°C [32]

2.6 Dynamische kontrastverstärkte MRT

Die statischen T1-gewichteten Bilder (T1w) werden zu einem festgelegten Zeitpunkt nach der Injektion des Kontrastmittels (KM) aufgenommen, typischerweise nachdem das Kontrastmittel gleichmäßig im Gewebe verteilt ist. Sie ermöglichen eine qualitative Beurteilung der Störung der Blut-Hirn-Schranke im Tumorbereich basierend auf der Signalverstärkung. Zur Quantifizierung der hämodynamischen Parameter wird die fortschrittliche, nicht invasive Bildgebungstechnik der T1-gewichteten dynamischen kontrastmittelverstärkten MRT (T1w DCE-MRT, „*dynamic contrast-enhanced MRI*“) eingesetzt. Bei dieser Technik wird eine Serie von dynamischen T1w-Bildern kontinuierlich vor, während und nach der intravenösen Verabreichung des Kontrastmittels aufgenommen. Ziel ist es, die Bewegung, Verteilung und Ausscheidung des KM vom Blut ins Gewebe (Kinetik des KM), anhand der Signalintensitätsveränderungen auf den T1w-Bildern zu verfolgen. Durch die Anwendung geeigneter pharmakokinetischer Modelle können anschließend Parameter wie die Perfusion und die Permeabilität quantifiziert werden.

2.6.1 Zwei-Kompartimente-Modell und Kinetik des Kontrastmittels

In pharmakokinetischen Studien mit *Tracern* in der MRT wird das Gewebe häufig als Zwei- oder Drei-Kompartimente-Modell dargestellt. Dies umfasst den intravaskulären Raum mit dem Volumen v_p , den extrazellulären-extravaskulären Raum (EES) mit dem Volumen v_e sowie den intrazellulären Raum. Die meisten Kontrastmittel, die in der DCE-MRT verwendet werden, wie

die Gd-basierten Kontrastmittel, können nicht in den intrazellulären Raum der Zellen eindringen [28, p. 82]. Daher berücksichtigen die in diesem Fall angewandten pharmakokinetischen Modelle nur zwei Kompartimente: den vaskulären Raum und den EES (Zwei-Kompartimente-Modell), welche durch die Blut-Hirn-Schranke (BHS) voneinander getrennt sind (siehe Abb. 2.8).

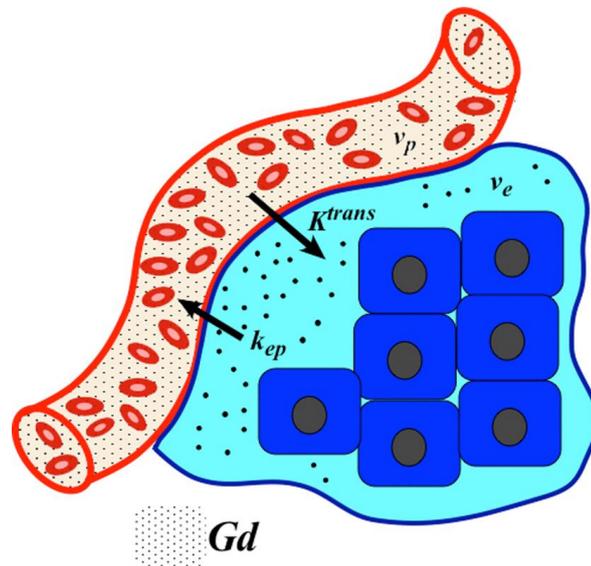


Abbildung 2.8: Zwei-Kompartimente-Modell besteht aus dem Gefäßkompartiment (v_p) und dem Interstitium (v_e) [33]

Nachdem das Gd-basierte Kontrastmittel intravenös verabreicht wird, gelangt es über den Lungenkreislauf in das arterielle System. Die Verweildauer des Kontrastmittels in den Arterien beträgt in der Regel nicht länger als 30 Sekunden nach der Injektion. Dieser Wert hängt allerdings von der Art der intravenösen Verabreichung (peripher oder zentral), der Konzentration des Kontrastmittels und der Injektionsrate ab [34]. Diese Phase wird als arterielle Phase bezeichnet. In den folgenden 30 Sekunden verteilt sich das Kontrastmittel gleichmäßig im gesamten Gefäßsystem, einschließlich Arterien, Venen und Kapillaren. Diese Phase wird als Blutpoolphase bezeichnet. In dieser Phase kann ein Teil des Kontrastmittels durch die gestörte Blut-Hirn-Schranke in das Interstitium gelangen. Etwa eine Minute nach der Injektion verteilt sich das Kontrastmittel in alle extrazellulären-extravaskulären Räume, mit Ausnahme der Regionen mit einer intakten Blut-Hirn-Schranke. Diese Phase wird als extrazelluläre Phase bezeichnet. Die meisten Kontrastmittel werden durch die Nieren gefiltert und über den Urin ausgeschieden.

Bei der Evaluierung der Permeabilität der BHS wird die Aufnahme und Ausscheidung von KM in der extrazellulären Phase anhand der zeitlichen Veränderungen der Signalintensität analysiert, die durch die Signalintensitäts-Zeit-Kurve dargestellt wird (siehe Abb 2.9). In den Gewebegebieten mit gestörter BHS tritt das Kontrastmittel aus den Blutgefäßen aus und sammelt sich im Interstitium an, wobei die Geschwindigkeit von der Konzentrationsdifferenz zwischen

dem Kontrastmittel im Plasma (C_p) und im extrazellulären-extravaskulären Raum (C_e) abhängt. K_{trans} ist die Volumen-Transfer-Konstante, die die Rate der Diffusion des Kontrastmittels zwischen der BHS und dem EES-Raum beschreibt. Auf den T1-gewichteten Bildern führt die Anreicherung des Kontrastmittels zu einer Erhöhung der Signalintensität des Gewebes.

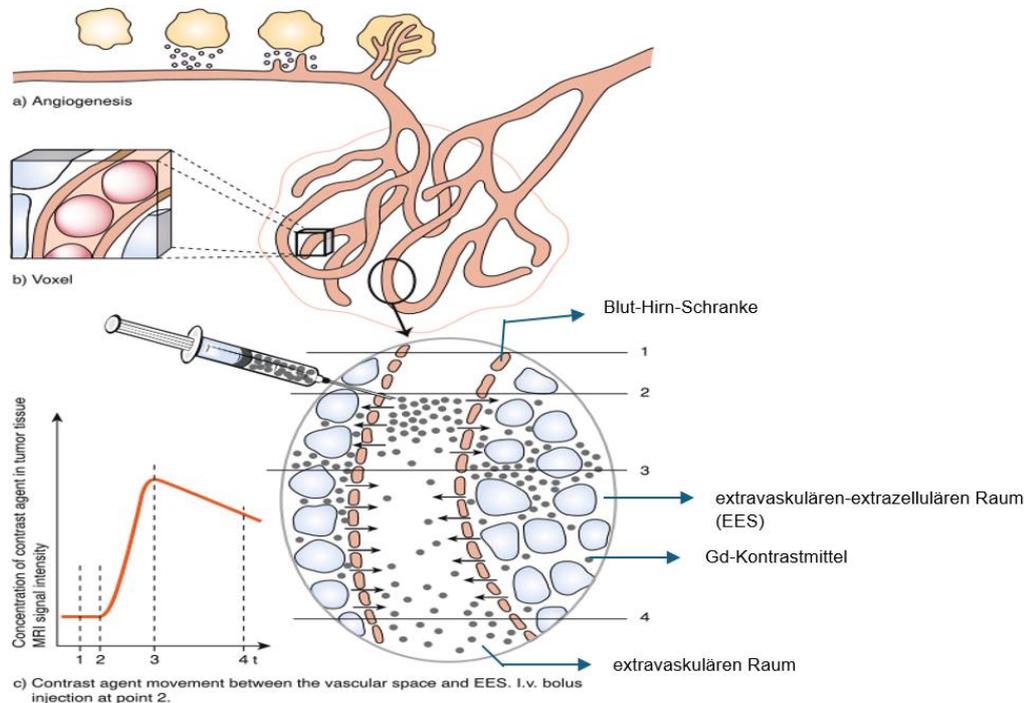


Abbildung 2.9: Der vergrößerte kreisförmige Bereich zeigt einen Querschnitt durch ein Blutgefäß und das umliegende extravaskuläre Gewebe. Die Aufnahme und Ausscheidung des Kontrastmittels werden durch die Signalintensitäts-Zeit-Kurve dargestellt (linke Ecke). Vor der Injektion des Kontrastmittels (Zeitpunkt vor t_2) bleibt die Signalintensität unverändert (*Baseline*). Nach der intravenösen Bolusinjektion des Kontrastmittels (kleine graue Kreise) am Zeitpunkt t_2 tritt es in den EES aus und sammelt sich dort an. Diese Akkumulation führt zu einer Signalverstärkung. Nach Erreichen eines Maximums bei t_3 , nimmt die Signalintensität ab, da das Kontrastmittel zurück ins Blut diffundiert und über die Nieren ausgeschieden wird [28, p. 5]

2.6.2 Pharmakokinetische Analyse mittels Tofts-Modell

Die Änderung der Konzentration des Kontrastmittels im extrazellulären-extravaskulären Raum (EES) ($\frac{dC_e(t)}{dt}$) hängt vom Konzentrationsgefälle zwischen dem Plasma (C_p) und dem EES (C_e) ab und wird durch die allgemeine Geschwindigkeitsgleichung beschrieben [28, p. 84]:

$$v_e \frac{dC_e(t)}{dt} = K_{trans} [C_p(t) - C_e(t)] \quad (6)$$

Gleichung (6) wird in eine lineare Differentialgleichung erster Ordnung umgeschrieben:

$$\frac{dC_e(t)}{dt} + \frac{K_{trans}}{v_e} C_e(t) = \frac{K_{trans}}{v_e} C_p(t) \quad (7)$$

Die allgemeine Lösung der Gleichung (7) hat die folgende Form:

$$C_e(t) = \int_0^t C_p(t') \cdot e^{-\frac{K_{trans}}{v_e}(t-t')} dt' \quad (8)$$

Diese Lösung beschreibt die zeitliche Änderung der Konzentration des Kontrastmittels im EES ($C_e(t)$) in Abhängigkeit von der Konzentration des Kontrastmittels im Blutplasma ($C_p(t')$) zu den vorherigen Zeitpunkten t' (von 0 bis t).

Die Gesamtkonzentration des Kontrastmittels im Gewebe (C_t) setzt sich aus dem Anteil im Plasma und dem Anteil im EES zusammen [29, p. 345]:

$$C_t(t) = v_p \cdot C_p(t) + v_e \cdot C_e(t) \quad (9)$$

Durch Einsetzen der Gleichung (8) in die Gleichung (9) ergibt sich folgende Gleichung:

$$C_t(t) = v_p \cdot C_p(t) + K_{trans} \cdot \int_0^t C_p(t') \cdot e^{-\frac{K_{trans}}{v_e}(t-t')} dt' \quad (10)$$

dabei gilt:

v_e : das Volumen des extrazellulären-extravaskulären Raums (EES) pro Gewebeeinheit

v_p : das Volumen des Blutplasmas pro Gewebeeinheit

C_e : die Konzentration des Kontrastmittels im EES [mM]

C_p : die Konzentration des Kontrastmittels im Blutplasma [mM]

C_t : die Gesamtkonzentration des Kontrastmittels im Gewebe [mM]

K_{trans} : die Volumen-Transfer-Konstante zwischen v_p und v_e [min^{-1}]. Dieser Parameter beschreibt die Geschwindigkeit, mit der das Kontrastmittel aus dem Gefäß in das EES übertritt, und dient zur Beurteilung der Leckage der Blut-Hirn-Schranke.

Die Gleichung (10) stellt das erweiterte Zwei-Kompartimente-Modell von Tofts (*Extended Tofts Model* - ETM) [35] dar, das sowohl für Hirngewebe mit niedriger als auch hoher Durchblutung anwendbar ist [36]. In diesem Modell setzt sich die Gesamtkonzentration des Kontrastmittels im Gewebe aus der Konzentration des Kontrastmittels im EES und der Konzentration im Blutplasma zusammen. Zuvor nahm das Standard-Tofts-Modell von Tofts und Kermode [37] an, dass die Kontrastmittelkonzentration im Plasma vernachlässigbar ist ($v_p \rightarrow 0$), da das Blutvolumen nur einen kleinen Anteil des gesamten Gewebevolumentums ausmacht ($v_p \approx 2-4\%$) [29, p. 344]. Daher liefert dieses Modell nur in schwach vaskularisierten Läsionen zuverlässige Werte [36]. Die Gleichung des Standard-Tofts-Modells lautet:

$$C_t(t) = K_{trans} \cdot \int_0^t C_p(t') \cdot e^{-\frac{K_{trans}}{v_e}(t-t')} dt' \quad (11)$$

Durch das Standard-Tofts-Modell (TM) werden die Parameter K_{trans} und v_e quantifiziert, während durch das erweiterte Tofts-Modell (ETM) zusätzlich ein dritter pharmakokinetischer Parameter, v_p , bestimmt wird. Das Verhältnis von K_{trans} zu v_e ergibt den pharmakokinetischen Parameter k_{ep} , die sogenannte Rückflusskonstante („backflux rate constant“) [min^{-1}]. Während K_{trans} die Menge des Kontrastmittels bestimmt, die in den EES übertritt, bestimmt k_{ep} die Geschwindigkeit, mit der das Kontrastmittel aus dem EES zurück ins Blutplasma transportiert wird.

$$k_{ep} = \frac{K_{trans}}{v_e} \quad (12)$$

2.6.3 Methode zur Verarbeitung der DCE-MRT-Daten

2.6.3.1 Umwandlung der Signalintensität in die Kontrastmittelkonzentration

Die Beziehung zwischen der Kontrastmittelkonzentration und der Signalintensität ist nichtlinear und wird durch die native T1-Zeit der Gewebe beeinflusst. Die DCE-MRT wird üblicherweise mithilfe der FLASH-Sequenz durchgeführt. Die Gleichung für die aus dieser Sequenz abgeleitete Signalintensität lautet [29, p. 351]:

$$S(t) = S_0 \cdot \sin(\alpha) \cdot \frac{1 - e^{-T_R \cdot R_1(t)}}{1 - \cos(\alpha) \cdot e^{-T_R \cdot R_1(t)}} \quad (13)$$

Dabei ist S_0 das durchschnittliche Signal, das vor der Injektion des Kontrastmittels gemessen wird (Baseline-Signal). Der Flipwinkel α ist in Grad und TR steht für die Repetitionszeit in Millisekunden, diese Werte werden im Protokoll festgelegt. $S(t)$ ist die Signalintensität, die aus der dynamischen DCE-Bildsequenz nach der Injektion des Kontrastmittels gemessen wird und sich in Abhängigkeit von der Relaxationsrate R_1 verändert.

Zur Umwandlung der Signalintensität $S(t)$ in die Kontrastmittelkonzentration $C(t)$ gemäß Gleichung (5) müssen die Werte für T_{10} , r_1 und T_1 bestimmt werden. Die spezifische Relaxivität r_1 kann durch die *in-vitro* Phantommessung berechnet werden (siehe Abschnitt 3.3.2). T_{10} ist die native T_1 -Relaxationszeit des Gewebes vor der Kontrastmittelgabe (T_1 nativ) und wird entweder durch das T_1 -Mapping oder durch den festen T_1 -Wert ermittelt. Die nach intravenöser Kontrastmittelgabe gemessenen T_1 -Werte ($T_1(t)$) werden unter Verwendung der Hilfsvariablen $A(t)$ und B durch Gleichung (13) berechnet [38].

$$M_0 = S \cdot \frac{1 - \cos(\alpha) \cdot e^{-T_R \cdot R_{10}}}{\sin(\alpha) \cdot (1 - e^{-T_R \cdot R_{10}})} \quad (14)$$

Dabei ist M_0 die Magnetisierung im Gleichgewichtszustand vor Kontrastmittelgabe (*equilibration magnetization*). S ist das durchschnittliche Signal im Gleichgewichtszustand vor Kontrastmittelgabe (*steady state signal*).

$$A(t) = \frac{S(t) - S(0)}{M_0 \cdot \sin(\alpha)} \quad (15)$$

$$B = \frac{1 - e^{-T_R \cdot R_{10}}}{1 - \cos(\alpha) \cdot e^{-T_R \cdot R_{10}}} \quad (16)$$

$$R_1(t) = -\frac{1}{T_R} \ln \left(\frac{1 - (A(t) + B)}{1 - \cos(\alpha) \cdot (A(t) + B)} \right) \quad (17)$$

Die Gleichung (5) wird umgeschrieben zu:

$$C[Gd] = \frac{1}{r_1} \cdot (R_1(t) - R_{10}) \quad (18)$$

$R_1(t)$ wird aus $S(t)$ berechnet und anschließend zur Berechnung der Kontrastmittelkonzentration im Gewebe $C_t(t)$ und im Blutplasma $C_p(t)$ (auch als arterielle Eingangsfunktion, AIF, bezeichnet) gemäß Gleichung (18) verwendet.

2.6.3.2 Bestimmung der arteriellen Eingangsfunktion (AIF)

Die arterielle Eingangsfunktion (AIF, „*Arterial Input Function*“) ist die Eingangsfunktion für pharmakokinetische Modelle. Sie beschreibt die zeitliche Veränderung der Kontrastmittelkonzentration im Blutplasma ($C_p(t)$), typischerweise in den Arterien. Die in der Praxis gemessene Kontrastmittelkonzentration bezieht sich allerdings auf das gesamte Blut (C_b). Zur Anwendung des Tofts-Modells, muss die Konzentration des gesamten Blutes in die Plasmakonzentration (C_p) durch die folgende Gleichung umgerechnet werden:

$$C_p = \frac{C_b}{1 - Hct} \quad (19)$$

Dabei ist Hct der Hämatokritanteil im Blut, der bei Ratten auf 0,44 geschätzt wird [39].

Die akquirierten AIF-Daten können durch verschiedene Faktoren wie zufällige Störungen, Körperbewegungen oder eine aufgrund der schnellen Veränderung des Kontrastmittels niedrige zeitliche Auflösung beeinträchtigt werden, was zu einer ungenauen Quantifizierung der pharmakokinetischen Parameter führen kann. Zur Verbesserung der Signaleffizienz, werden die AIF-Daten daher vor der Anwendung des Tofts-Modells durch analytische AIF-Modelle

angepasst. Die Studie von Balvay et al. stellte insgesamt 11 verschiedene analytische AIF-Modelle vor [40]. Je nach Form der AIF variiert die Passgenauigkeit der einzelnen Modelle.

2.7 In vivo ^1H -Magnetresonanzspektroskopie (^1H -MRS)

Die in vivo MRS ist eine nicht invasive Messtechnik, die nicht nur beim Menschen, sondern auch an Tiermodellen eingesetzt wird [41]. Sie ermöglicht die Bestimmung der Metaboliten-Konzentrationen in verschiedenen Geweben sowie deren Veränderungen zwischen gesunden Tieren und Krankheitsmodellen.

2.7.1 Chemische Verschiebung der Resonanzfrequenzen („*Chemical shift*“)

Die Grundlage der MRS ist das Phänomen der chemischen Verschiebung. Wie bereits im Abschnitt 2.3.1 erwähnt, präzedieren die Protonen eines Wasserstoffatoms in einem äußeren Magnetfeld B_0 mit einer bestimmten Resonanz- oder Larmorfrequenz. Sind die Kerne allerdings in ein Molekül eingebaut sind, werden sie von Elektronenwolken umgeben, die ebenfalls präzedieren und dabei kleine magnetische Felder erzeugen, die das äußere Magnetfeld beeinflussen. Durch diese Änderung des lokalen Magnetfelds resonieren die Atomkerne bei einer anderen Frequenz im Vergleich zu ihrer ursprünglichen Larmorfrequenz. Diese Frequenzverschiebung hängt von ihrem elektrochemischen Umfeld in den betreffenden chemischen Verbindungen ab (chemischen Bindungen, Position im Molekül usw. Diese Frequenzverschiebung wird als chemische Verschiebung bezeichnet. [42]

Das MR-Spektrum ist eine Darstellung Signalintensität der in einem bestimmten Voxel gemessenen chemischer Verbindungen oder Metaboliten in Abhängigkeit von der chemischen Verschiebung δ . Jeder Peak im Spektrum repräsentiert eine spezifische Verbindung; es kann allerdings aufgrund der Überlagerung von vielen Peaks zeitgleich mehrere Metaboliten darstellen. Die Konzentration jedes Metaboliten ist proportional zur entsprechenden Signalamplitude, also der Fläche unter der jeweiligen MR-Spektralkurve [43]. In der MRS wird die Resonanzfrequenz nicht in absoluten Einheiten (Hz), sondern in relativen Einheiten (*parts per million*, ppm) angegeben, da sich diese Werte auf die Resonanzfrequenz einer Referenzsubstanz beziehen, der die chemische Verschiebung $\delta = 0$ ppm zugeordnet wird (siehe Abb. 2.10). Dadurch bleiben sie feldstärkenunabhängig.

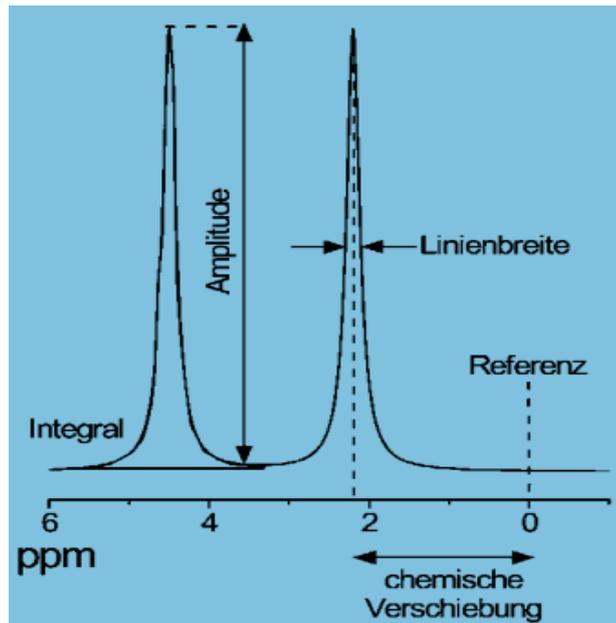


Abbildung 2.10: Das MR-Spektrum beschreibt die Signalintensität der in einem bestimmten Voxel gemessenen Metaboliten. Die Position dieser Verbindungen wird anhand ihrer chemischen Verschiebung in Bezug auf eine Referenzsubstanz (chemische Verschiebung $\delta = 0$ ppm) bestimmt. [44]

2.7.2 Lokalisierungstechnik und Pulssequenzen

Zur präzisen Erfassung der Metaboliten-Signale aus einem definierten Messvolumen (Voxel oder *Volume of Interest*, VOI) innerhalb eines bestimmten Organs oder Gewebes können verschiedene Lokalisierungstechniken wie die Single-Voxel-Spektroskopie (SVS) oder die Multi-Voxel-Spektroskopie, bekannt als *Spectroscopic Imaging* (SI oder MRSI, früher *Chemical-Shift-Imaging*, CSI), verwendet werden. Während die SVS Informationen über den Stoffwechsel des Gehirngewebes in einem einzelnen Voxel liefert, ermöglicht die MRSI die Bewertung des Metabolismus im Hirngewebe in mehreren Voxeln gleichzeitig (siehe Abb. 2.11). Der Vorteil der SVS liegt in der schnellen Aufnahmezeit und dem höheren Signal-Rausch-Verhältnis (SNR). Allerdings kann es schwierig sein, den Stoffwechsel einzelner Regionen in einem heterogenen Tumor detailliert zu beurteilen.

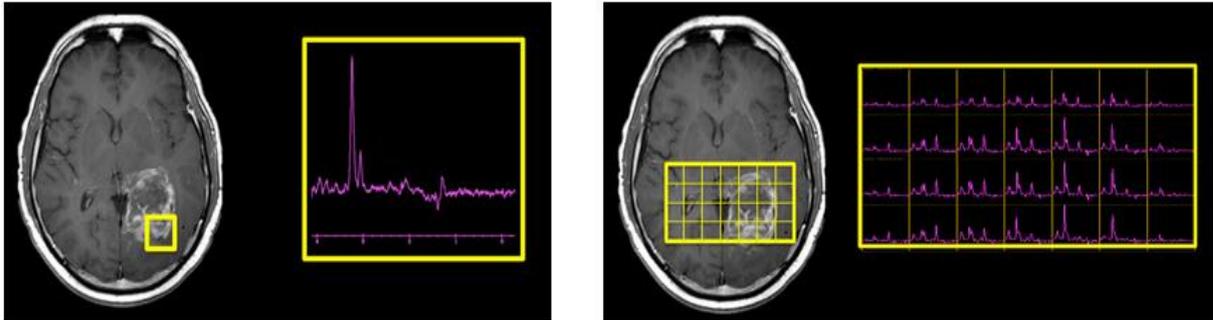


Abbildung 2.11: Die Single-Voxel-Spektroskopie (links) liefert Informationen über den Stoffwechsel aus einem einzelnen Voxel, während die Multivoxel-Technik MRSI (rechts) gleichzeitig Informationen über den Stoffwechsel aus mehreren benachbarten Voxeln bereitstellt. [45]

Zwei Pulssequenzen, die in der SVS verwendet werden, sind STEAM (*Stimulated Echo Acquisition Mode*) und PRESS (*Point-Resolved Spectroscopy*). Beide Sequenzen nutzen drei schichtselektive HF-Pulse in Kombination mit drei orthogonalen Gradienten zur Auswahl eines rechteckigen Volumens. Sie unterscheiden sich jedoch in der Art, wie das Signal erzeugt wird: Während STEAM zur Erzeugung eines stimulierten Echos die Magnetisierung nutzt, erzeugt PRESS ein Spin-Echo (SE) mithilfe von 180° -Pulsen (siehe Abb 2.12) [46]. Das SE-Signal ist doppelt so stark wie das stimulierte Echo. Zudem weist PRESS ein höheres SNR auf, weshalb diese Sequenz in der Praxis häufiger bevorzugt wird [47].

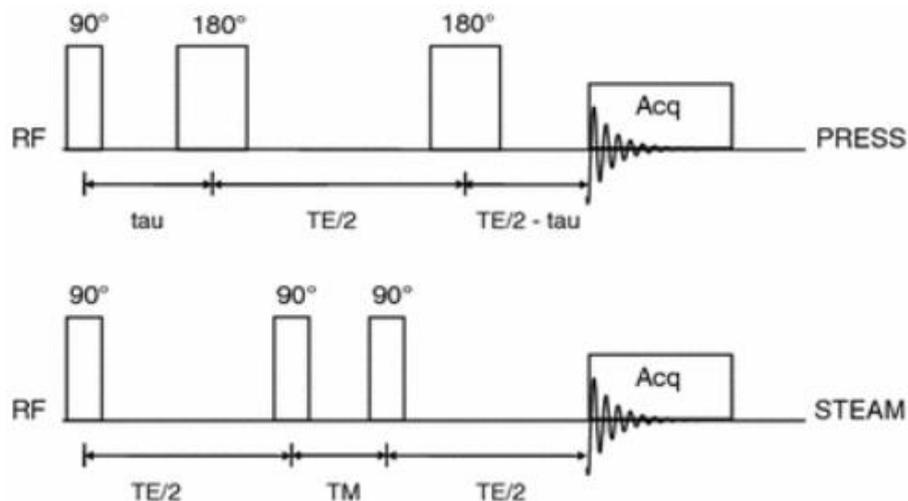


Abbildung 2.12: Während die PRESS-Sequenz zwei 180° -HF-Pulse zur Rephasierung verwendet, um ein Spin-Echo (SE) zu erzeugen, nutzt die STEAM-Sequenz zwei 90° -Pulse, um eine Magnetisierung zu erzeugen, aus der ein stimuliertes Echo resultiert. [48]

Die Identifizierung von Metaboliten im MR-Spektrum hängt von der Echozeit (TE) ab. Bei einer langen TE (> 120 ms) sind nur Metaboliten mit einer langen T₂-Zeit wie N-Acetyl-Aspartat (NAA), Kreatin (Cr) und Cholin (Cho) im Spektrum sichtbar. Das entsprechende Spektrum ist

relativ einfach und enthält begrenzte Informationen. Allerdings ist es leichter zu interpretieren und zu quantifizieren. Bei einer kurzen TE (< 50 ms) können zusätzlich zu den genannten Metaboliten auch Signale von Myo-Inositol (ml), Lipiden usw. erfasst werden. Das dabei erzeugte Spektrum enthält mehr Informationen über die Metaboliten, ist jedoch aufgrund von Überlagerungen der Resonanzen schwieriger zu quantifizieren. [49]

2.8 Präklinische Tiermodelle in der Onkologie

Um die Mechanismen der Tumorentstehung und -entwicklung zu simulieren, die Auswirkungen von Genen auf die Tumorentstehung zu erforschen sowie therapeutische Ansätze zu bewerten und zu entwickeln, sind Tiermodelle unverzichtbare Werkzeuge in der Krebsforschung. Tumormodelle bei Tieren sind für die experimentelle Analyse wertvoll, da sie ähnliche Eigenschaften wie humane Tumoren aufweisen. Unter den für Tierversuche eingesetzten Säugetieren weisen Mäuse und Ratten die größte genetische Ähnlichkeit zum Menschen auf (78,5 %) [50]. Zudem haben sie eine kurze Lebensdauer und einen kurzen Fortpflanzungszyklus, was sie besonders nützlich für die Krebsforschung macht. In der neurologischen Forschung werden Ratten häufiger als Mäuse verwendet, da ihr Gehirn größer ist und ihre Stoffwechselprozesse denen des menschlichen Gehirns ähnlicher sind als die der Mäuse [41]. Dies macht Ratten zu einem besonders geeigneten Modell für die Erforschung von menschlichen Hirnerkrankungen.

Derzeit werden Tiermodelle je nach Tumorentstehungsursache in zwei Gruppen eingeteilt: Mutationsmodelle und Transplantationsmodelle. In der onkologischen Forschung sind Transplantationsmodelle am weitesten verbreitet. Diese Modelle werden weiter in syngene und xenogene Modelle unterteilt. Syngene Modelle nutzen Tumorzellen mit demselben genetischen Hintergrund wie das Versuchstier, z.B. wird eine Tumorzelllinie einer Maus in eine genetisch gleiche Maus implantiert. Dadurch gibt es keine Abstoßungsreaktion, und die Mäuse haben ein intaktes Immunsystem (immunkompetent). Im Gegensatz dazu werden in xenogenen Modellen immundefiziente Tiere eingesetzt, die ein stark eingeschränktes Immunsystem haben. Diese Tiere, wie Nacktmäuse oder Nacktratten, zeichnen sich durch das Fehlen von Haaren, Thymus und funktionellen T-Lymphozyten aus. Humane Tumorzellen werden in diese immundefizienten Tiere implantiert, da ihre schwache Immunantwort eine Abstoßungsreaktion verhindert. [51]

Abhängig vom Applikationsort werden orthotope und ektotope Modelle unterschieden. Bei ektotopen Modellen werden Tumorzellen oder -gewebe subkutan in eine Körperregion der Maus implantiert, die nicht der ursprünglichen Tumorlokalisation entspricht. Diese Methode ist einfach durchzuführen und das Tumorwachstum lässt sich leicht überwachen, spiegelt allerdings die natürliche Tumorumgebung nicht genau wider. Bei orthotopen Modellen werden die

Tumorzellen an ihrem ursprünglichen anatomischen Ort injiziert, wie beispielsweise in das Gehirn bei Hirntumoren. Dadurch entsteht eine Umgebung, die der natürlichen Tumorentwicklung ähnlicher ist. Die Ergebnisse dieser Modelle sind besser auf den Menschen übertragbar und daher wertvolle Werkzeuge in der präklinischen Krebsforschung. Allerdings sind orthotope Tierversuche aufwendiger und erfordern bildgebende Verfahren wie die MRT zur Überwachung des Tumorwachstums. [51]

3 Material und Methodik

3.1 Tiermodelle

In dieser Arbeit wurde orthotopische Xenograft-Rattenmodelle verwendet. Die humanen Glioblastom-Zelllinien U-251MG, IDH1-mutiert (IDH1mut) und IDH1-Wildtyp (IDH1wt), wurden jeweils in das Gehirn von 8 immundefizienten Ratten (*Rj:Athym-Foxn1nu*, Janvier Laboratory, Le Genest-Saint-Isle, Frankreich) orthotopisch implantiert. Diese Ratten wurden fortlaufend von 21A1 bis 21A8 bezeichnet, wobei die Nummer 21 für das Jahr 2021 steht, in dem die Implantation und die MRT-Untersuchungen durchgeführt wurden. Vier Ratten (21-A1, -A2, -A7, -A8) wurden mit U251-IDH1wt-Zellen und die übrigen vier (21-A3, -A4, -A5, -A6) mit U251-IDH1mut-Zellen orthotopisch injiziert.

3.2 Akquisitionsprotokoll

Die Bildgebung wurde an einem 7 Tesla Kleintier MRT (Pharmascan, Bruker Biospin, Ettlingen, Deutschland) durchgeführt. Die Ratten wurden 28–29 Tage nach der Zellinjektion gescannt, beginnend mit der *Localizer*-FLASH-Sequenz zur Gewinnung von drei orthogonalen Schichtebenen des Tierkopfes: koronal, sagittal und axial (siehe Abb. 3.1). Diese akquirierten Lokalisierungsbilder wurden verwendet, um die relevante Messregion (*Region of Interest*, ROI) genau zu positionieren und auszurichten.

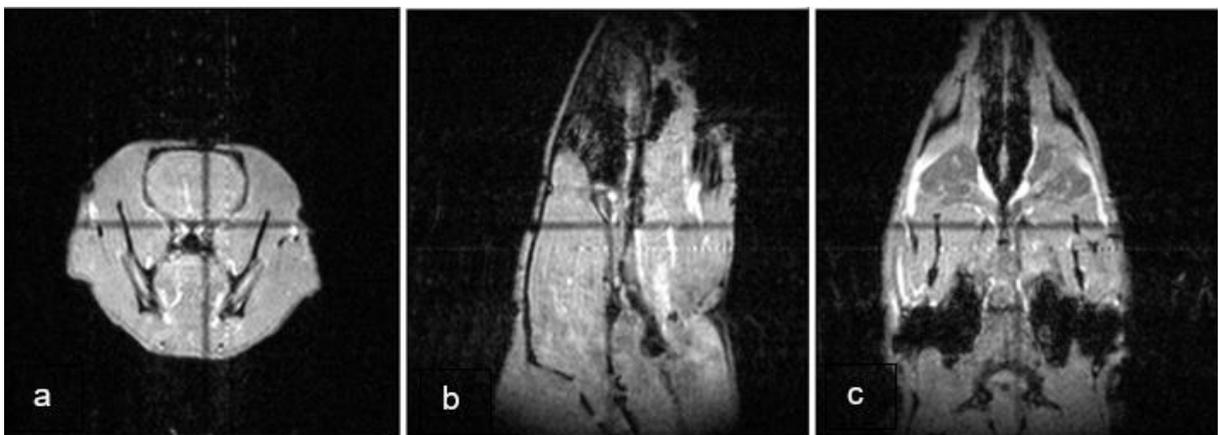


Abbildung 3.1: Erstellung von Lokalisierungsbildern mittels *Localizer*-FLASH-Sequenz in den koronalen (a), sagittalen (b) und axialen Ebenen (c). Das schwarze Kreuz als Isozentrum des MRT-Scanners zur Einschätzung der Positionierung des Tierkopfes.

Nachdem die Position der zu scannende Region bestimmt wurde, wurde für jede Ratte das multiparametrische MR-Protokoll, bestehend aus den Sequenzen MSME, T2_TurboRARE, T1_FLASH vor und nach der Kontrastmittelgabe sowie DCE angewendet. Die Reihenfolge der

Sequenzen ist in der Abbildung 3.2 dargestellt. Alle Sequenzen wurden in koronarer Ebene aufgenommen, und deren Messparameter sind in der Tabelle 3.1 aufgelistet.

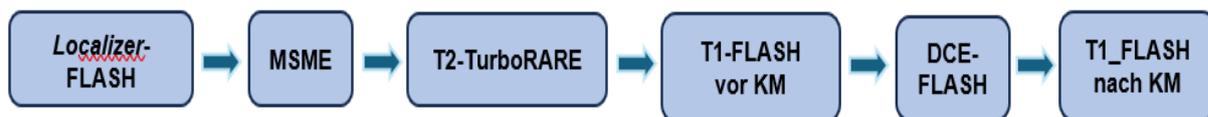


Abbildung 3.2: Flussdiagramm zur Beschreibung der Reihenfolge der MRT-Pulssequenzen

	T2-map	T2w	T1w vor und nach KM	K _{trans} -map
MR-Sequenzen	MSME	TurboRARE	FLASH	2D DCE_FLASH
TR [ms]	4200	5200	380	24,2
TE [ms]	12; 28; 44; 60; 76; 92; 108; 124; 140; 156	70	4,5	2,5
Schichtanzahl	24	24	24	4
Flipwinkel	90°	90°	30°	12°
Schichtdicke [mm]	0,9	0,9	0,9	0,9
Sichtfeld (<i>field of view, FOV</i>) [mm]	35 x 35	35 x 35	35 x 35	35 x 35
Matrixgröße/ Auflösung	256 x 256 Pixel	256 x 256 Pixel	512 x 512 Pixel	128 x 128 Pixel

Tabelle 3.1: Messparameter der MR-Sequenzen

Die MSME-Sequenz wurde zur Erstellung der parametrischen T2-Karten („Maps“) verwendet. Insgesamt wurden 24 Schichten erfasst, die das gesamte Gehirn abdecken, um die relevanten Schichten mit dem zu untersuchenden Tumorbereich zu identifizieren. Jede Schicht enthält 10 Echo-Bilder, die zu verschiedenen Echozeiten (TE) aufgenommen wurden.

Die dynamische MR-Bildgebung (DCE-MRT) wurde mit einer schnellen 2D-FLASH-Sequenz durchgeführt. Zunächst wurden 48 T1-gewichtete Prä-Kontrast-Bilder von 4 Schichten innerhalb von 37,2 Sekunden (s) mit einer zeitlichen Auflösung von 3,1 s aufgenommen (pro

Zeitpunkt wurden gleichzeitig 4 Schichten in 12 Wiederholungen erfasst). Die Gesamtdosis von 0,2 mmol Gadobutrol (Gd-DO3A-butrol, Gadovist®) pro kg Körpergewicht wurde über einen intravenösen Schwanzkatheter mit konstanter Injektionsrate injiziert. Anschließend wurde Kochsalzlösung mit derselben Injektionsrate verabreicht. Etwa 30 Sekunden nach der Kontrastmittelgabe begann die dynamische Akquisition. Es wurden zwei Serien aufgenommen, wobei jede Serie 384 T1-gewichtete Post-Kontrast-Bilder für 4 Schichten (96 Wiederholungen) umfasste. Insgesamt wurden 816 Bilder zu 204 Zeitpunkten für 4 Schichten mit einer zeitlichen Auflösung von 3,1 s aufgenommen. Die Gesamtdauer der Bildgebung betrug 10,54 Minuten pro Versuchstier.

Die in vitro Phantommessung zur Bestimmung der spezifischen Relaxivität r_1 eines Kontrastmittels wurde durchgeführt, indem fünf Phantomlösungen mit unterschiedlichen Gadovist-Konzentrationen (0; 0,25; 0,5; 0,75 und 1 mM) gleichzeitig gescannt wurden. Dabei kam die RARE-VTR-Sequenz (*Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement at Variable Repetition Time*) zum Einsatz, mit den Parametern: TR/TE = {5500, 3000, 1500, 800, 400, 200} / 8 ms; Schichtdicke = 1 mm; Matrix = 256 x 192 Pixel. Die Messung wurde dreimal wiederholt, um den mittleren r_1 -Wert für Gadovist zu bestimmen.

Die Single-Voxel-Spektroskopie (SVS) wurde an zwei Versuchstieren, 21A3 und 21A7, mit demselben Gerät durchgeführt, das auch für die MRT-Messung verwendet wurde. Hierbei kam die PRESS-Sequenz mit TR/TE = 4200/16,6 Millisekunden zum Einsatz. Der ROI des Tumors wurden anhand der abnormen Signalintensität auf den T2-gewichteten Bildern ausgewählt. Die Voxelgröße betrug 4 x 4 x 4 mm³. Als Referenzregion diente das gesunde Gewebe mit identischer Voxelgröße auf der gegenüberliegenden Seite, um individuelle Stoffwechselunterschiede zu berücksichtigen (siehe Abb. 3.3). Insgesamt wurden vier Messungen gemittelt: pro Tier eine Messung für gesundes Gewebe als Referenz und eine für Tumorgewebe.

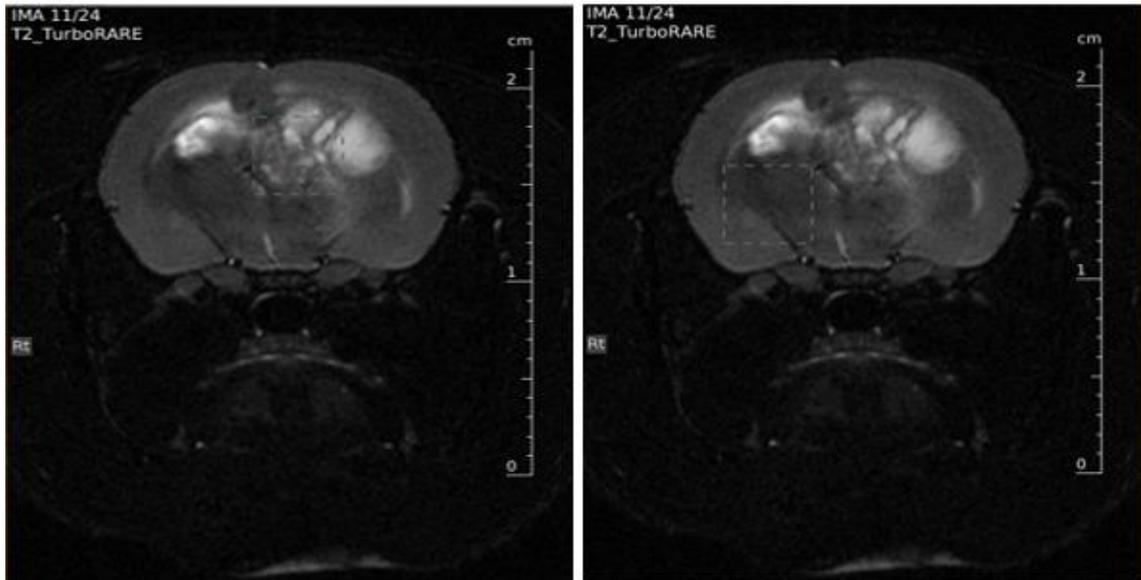


Abbildung 3.3: Voxelplatzierung (gestricheltes Rechteck) mit der Abmessung von $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$ in dem Tumorgewebe (links) und dem gegenüberliegenden gesunden Gewebe als Referenzregion (rechts) auf dem T2w-Bild der Ratte 21A7.

3.3 Bildverarbeitung

Alle gewonnenen Bilder wurden im DICOM-Format („*Digital Imaging and Communications in Medicine*“) gespeichert. Zur Ansicht dieser DICOM-Bilder wurde das auf *Image J* basierende Bildverarbeitungspaket *Fiji* (gemeinfrei, *National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA*) verwendet. Die erhaltenen DICOM-Bilddatensätze wurden mithilfe hausintern entwickelter MATLAB®-Skripte in der Version R2023a (*The MathWorks, Natick, MA, USA*) weiterverarbeitet.

3.3.1 Berechnung der T2-Maps

Das in Anhang A.1 enthaltene MATLAB-Skript wurde entwickelt, um eine T2-Map pixelweise für jede Schicht zu erstellen. Zunächst wurde dem Skript ein Ordner mit 240 DICOM-Bildern, die aus der MSME-Pulssequenz gewonnen wurden, zur Verfügung gestellt. Die zu kartierende Schicht wurde durch Eingabe des Bildindex für die Variable *nFramesStart* ausgewählt. Beispielweise entsprach *nFramesStart* für die Erstellung einer T2-Map der 11. Schicht dem Wert 101 (dem 101. Bild in der Abfolge der 240 Bilder). Eine Reihe von 10 Echo-Bildern einer Schicht, bei der jedes Bild eine unterschiedliche Echozeit (TE) aufwies, wurde mithilfe der Funktion *dicomread* in eine 3D-Matrix *I* eingelesen. Jede Ebene dieser Matrix speicherte die Signalintensitäten für alle Pixel eines Bildes bei einem bestimmten TE-Wert. Die TE-Werte der einzelnen Echo-Bilder wurden mithilfe der Funktion *dicominfo* aus den DICOM-Daten (Metadaten) extrahiert und in einer Matrix *TE* gespeichert. Für jedes Pixel, lokalisiert durch die Zeile

r und die Spalte c , wurde eine Signalintensitätsreihe S aus der Matrix I mithilfe einer *for*-Schleife extrahiert. Diese Signalintensitätsreihe in Abhängigkeit von TE wurde an ein monoexponentielles Zerfallsmodell angepasst, das durch die Gleichung (4) dargestellt ist. Zur Bestimmung der optimalen T2-Werte an jedem Pixel, sodass das Zerfallsmodell bestmöglich zur gemessenen Signalintensitätsreihe passt, wurde die Optimierungsfunktion *fminsearch* aus der MATLAB *Optimization Toolbox* verwendet. Die berechneten T2-Werte wurden zur Visualisierung farblich codiert und auf einer Farbskala von 0 bis 100 ms dargestellt. Der Bereich der Farbskala konnte angepasst werden, um einen optimalen Kontrast zwischen den zu untersuchenden anatomischen Hirnstrukturen, wie z.B. Tumorgewebe, gesundem Gewebe und Ventrikelräumen, zu gewährleisten. Zum Vergleichen der T2-Werte zwischen den untersuchten Versuchstieren wurde ein *region of interest* (ROI) manuell auf der T2-Map mithilfe der Funktion *drawpolygon* gezeichnet. Das Skript extrahierte anschließend alle T2-Werte der einzelnen Pixel innerhalb des ROI und berechnete den Mittelwert.

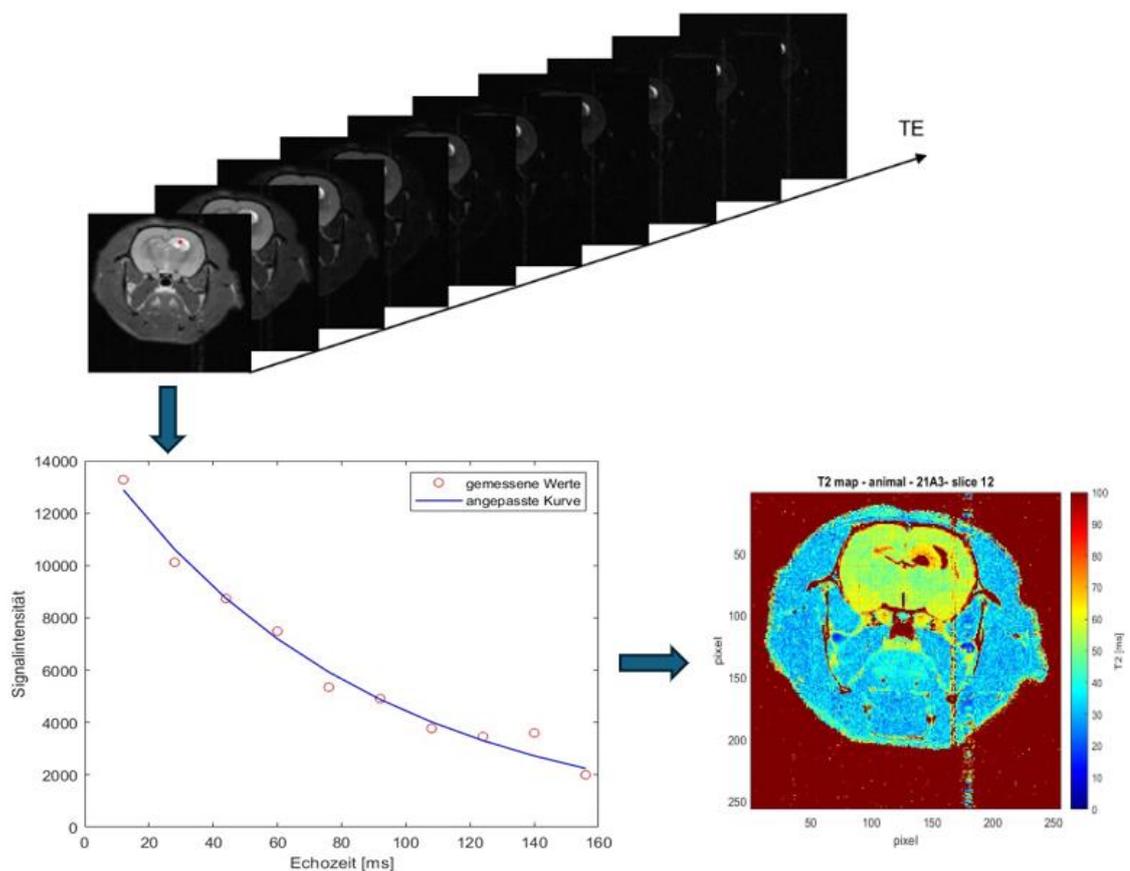


Abbildung 3.4: Ablauf zur Erstellung einer T2-Map: Aus einer Sequenz von 10 Echo-Bildern, die zu unterschiedlichen Echozeiten aufgenommen wurden, wurde die Signalintensitätsreihe jedes Pixels in Abhängigkeit vom TE-Wert extrahiert. Diese Intensitätsreihe wurde anschließend an ein monoexponentielles Zerfallsmodell angepasst, um die T2-Werte zu schätzen. Die berechneten T2-Werte wurden als farbcodierte T2-Map dargestellt.

3.3.2 Bestimmung der spezifischen Relaxivität r_1 von Gadovist®

Jede in vitro Phantommessung ergab einen Datensatz, der aus sechs T1w-DICOM-Bildern bestand, die jeweils einer unterschiedlichen Repetitionszeit (TR) entsprachen (siehe Abb. 3.5). Die Serie der sechs T1w-Bilder wurde mit der Software *Image J* geöffnet, und die ROIs wurden manuell so gezeichnet, dass jedes Phantom maximal abgedeckt wurde. Dabei wurden die Randbereiche vermieden, um den Einfluss des Hintergrundsignals zu minimieren (siehe Abb. 3.6). Vor der Festlegung der ROIs wurde im Menü von *Image J* unter *Analyze* → *Tools* → *ROI Manager* ausgewählt. Nach dem Zeichnen jedes ROIs für jedes Phantom wurde durch Klicken auf *Add [t]* die Daten der gezeichneten ROIs gespeichert. Anschließend wurden unter *More* → *Multi Measure* die Signalintensitätswerte für verschiedene TR-Zeiten und Konzentrationen angezeigt (siehe Abb. 3.7). Diese Ergebnisse wurden im .csv-Format gespeichert und folglich in das MATLAB-Skript (siehe in Anhang A.3) importiert, um den r_1 -Wert von Gadovist zu berechnen.

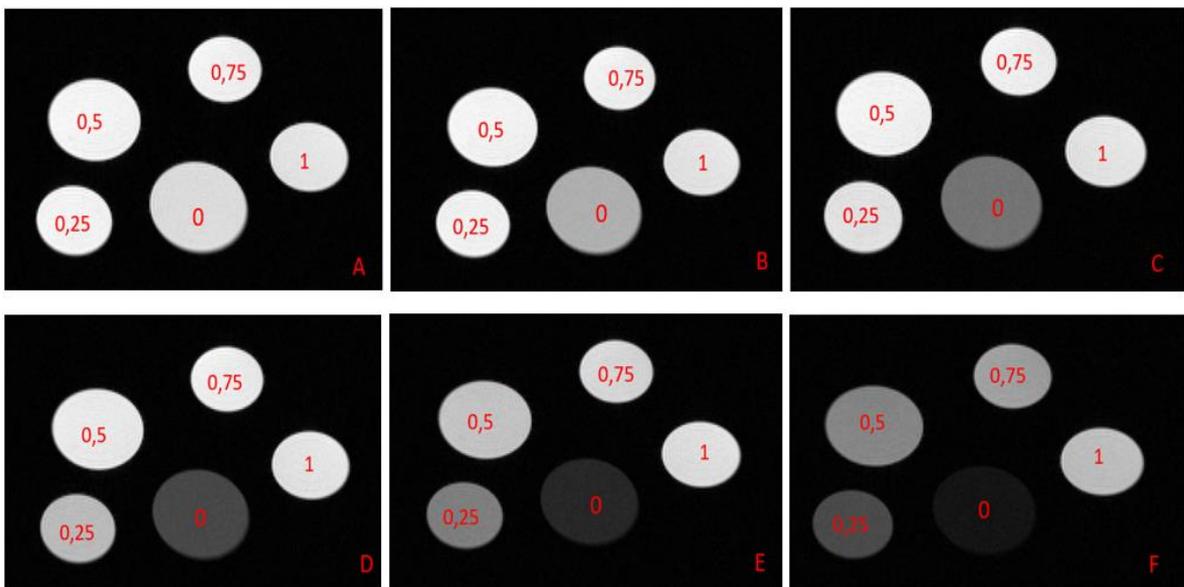


Abbildung 3.5: T1w-Bilder von Gelphantomen unterschiedlicher Gd-Konzentrationen bei TR: 5500ms (A); 3000ms (B); 1500ms (C); 800ms (D); 400ms (E) und 200ms (F)

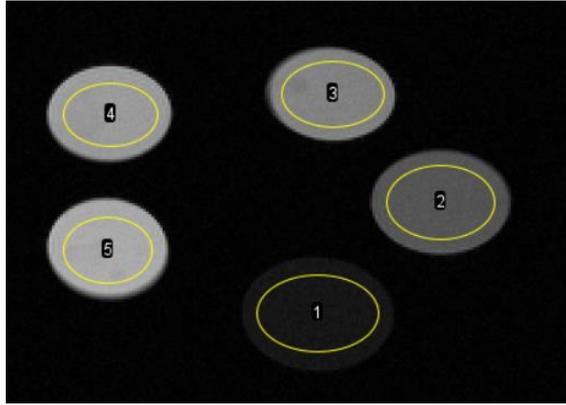


Abbildung 3.6: ROIs wurden manuell gezeichnet, sodass jedes Phantom maximal abgedeckt und die Randbereiche vermieden wurden, um den Einfluss des Hintergrundsignals zu minimieren.

	Area1	Mean1	Min1	Max1	Area2	Mean2	Min2	Max2	Area3	Mean3	Min3	Max3	Area4	Mean4	Min4	Max4	Area5	Mean5
1	24.225	48.520	45.350	50.962	20.761	51.292	48.260	53.541	17.546	50.438	45.513	53.149	15.303	49.918	47.081	52.774	15.053	46.010
2	24.225	39.101	36.647	41.219	20.761	50.927	48.229	53.121	17.546	50.065	45.751	52.752	15.303	49.690	45.865	52.860	15.053	45.553
3	24.225	25.886	24.164	27.742	20.761	48.778	46.449	51.224	17.546	49.967	45.749	52.998	15.303	49.614	45.268	52.927	15.053	45.257
4	24.225	16.451	14.659	18.301	20.761	41.779	39.637	43.917	17.546	47.869	43.893	50.582	15.303	48.632	45.571	51.208	15.053	45.707
5	24.225	9.009	7.561	10.530	20.761	29.591	27.826	31.161	17.546	39.821	36.594	42.178	15.303	43.813	40.484	46.425	15.053	43.251
6	24.225	4.615	2.903	6.196	20.761	17.894	15.674	19.615	17.546	27.227	24.812	29.137	15.303	32.502	30.124	34.101	15.053	35.797

Abbildung 3.7: beispielweise Darstellung der mit der Software *Image J* erhaltenen Ergebnisse, wobei *Mean* 1, 2, 3, 4, 5 die gemessenen mittleren Signalintensitätswerte an den jeweiligen TR (1–6) der entsprechenden, in Abbildung 18 markierten ROIs repräsentieren.

Das MATLAB-Skript A.3 begann mit dem Einlesen der Daten aus einer *.csv*-Datei. Die Funktion *readtable* las die Datei ein und speicherte die Signalintensitäten jeder Konzentration in einem Zellarray. Zur Berechnung der T₁-Zeit wurde ein exponentielles Sättigungsmodell gemäß folgender Gleichung verwendet:

$$S(TR) = S_0 \cdot \left(1 - e^{-\frac{TR}{T_1}}\right) \quad (20)$$

Die gemessenen Signalintensitäten in Abhängigkeit von TR wurden an dieses Modell angepasst. Mithilfe der Funktion *fitype* wurden der Parameter *a* (entspricht S₀) und *b* (entspricht T₁) als Anpassungsparameter festgelegt. Um den Optimierungsprozess effizienter zu gestalten, wurden Startwerte von a=100 und b=1000 gesetzt. Die Funktion *fitoptions* definierte die Optionen für die nichtlineare Kurvenanpassung mittels der Methode der nichtlinearen kleinsten Quadrate („*Nonlinear Least Squares*“), die die quadrierten Abweichungen minimiert. Für jede Konzentration wurde die Signalintensitäten gegen die Repetitionszeiten aufgetragen und die Parameter *a* und *b* durch die Funktion *fit* an das Modell angepasst. Der T₁-Wert (entsprechend *b*) für jede Konzentration wurde extrahiert und gespeichert. Das Skript generierte Diagramme,

um gemessene Daten und Anpassungskurven darzustellen. Marker und Farben kennzeichneten die verschiedenen Konzentrationen. Die berechneten T_1 -Werte wurden in Millisekunden auf der Konsole ausgegeben (siehe in Anhang A.4 für eine beispielhafte Kurvenanpassung und die daraus resultierenden T_1 -Werte). Anschließend wurden die T_1 -Werte in Sekunden umgerechnet, um die Relaxationsrate R_1 zu bestimmen, die sich als Kehrwert der T_1 -Werte ergab. Die lineare Beziehung zwischen Gd-Konzentration und R_1 , wie in der Gleichung (5) beschrieben, wurde mittels der Funktion *polyfit* modelliert, deren Steigung die spezifische Relaxivität r_1 darstellt. Dieser Wert wurde auf der Konsole ausgegeben (siehe in Anhang A.4 für eine beispielhafte grafische Darstellung der linearen Regression und die berechneten r_1 -Werte für Gadovist).

3.3.3 DCE-MRT

3.3.3.1 Sortieren von DCE-Bildern nach Schichten

Nach dem DCE-MRT-Scan wurden drei aufeinanderfolgende Datensätze in separaten Ordnern gespeichert. Der erste DCE-Datensatz, bestehend aus 48 Bildern vor der Kontrastmittelgabe von vier Schichten, wurde als Baseline verwendet. Die beiden nachfolgenden aufgenommenen Datensätze beinhalteten jeweils 384 Bilder nach der Kontrastmittelgabe von vier Schichten. Somit enthielt jede Schicht 12 Baseline-Bilder und 192 postkontrastierte Bilder. Um die Analyse zu erleichtern und die Kontrastmittelaufnahme im Gewebe jeder Schicht besser darzustellen, wurden die DCE-Bilder pro Schicht mithilfe eines MATLAB-Skripts sortiert (siehe in Anhang A.5). Dieses Skript automatisierte die Sortierung und Speicherung der DICOM-Bilder nach den jeweiligen Schichten und Scanphasen. Zu Beginn wurden die Pfade der DICOM-Dateien für die drei Scanphasen definiert: vor der Kontrastmittelgabe (**E7**) und in zwei weiteren Phasen nach der Kontrastmittelgabe (**E8** und **E9**). Der Befehl *dir* listete alle DICOM-Dateien (*.dcm) in den entsprechenden Ordnern auf. Da die Aufnahmen von vier Schichten stammten, wurden die Bilder gemäß einem festen Muster sortiert: Jede vierte Datei repräsentierte die gleiche Schicht zu aufeinanderfolgenden Zeitpunkten. Für jede Phase erfolgte die Aufteilung der Dateien in vier Gruppen, die jeweils einer Schicht entsprachen. Für jede Schicht wurde ein eigenes Verzeichnis erstellt, wobei die Funktion *mkdir* sicherstellte, dass das Verzeichnis bei Bedarf neu angelegt wurde. Der Parameter „CreateMode“, „Copy“ in *dicomwrite* ermöglichte die Speicherung der neuen DICOM-Dateien mit den originalen Metadaten, sodass Struktur und Informationen der Ausgangsdatei erhalten blieben. Dies war entscheidend, da die Metadatenparameter für die nachfolgende Analyse extrahiert und verwendet wurden.

3.3.3.2 Rauschunterdrückung

Rauschen ist ein häufig auftretendes Problem in MRT-Bildern und beeinflusst die Analyseergebnisse erheblich. Zur Rauschreduktion und Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses wurde für die DCE-Analyse in dieser Arbeit ein Gauß-Filter, ein gängiger Tiefpassfilter im Frequenzbereich, eingesetzt. Dieser Filter lässt die niederfrequenten Komponenten (nützliche Bildinformationen) passieren und unterdrückt die hochfrequenten Komponenten (Rauschen) [52].

Das in Anhang A.6 beschriebene MATLAB-Skript wurde für diesen Zweck entwickelt. Das Skript begann mit der Definition der Eingabe- und Ausgabepfade und rief anschließend die DICOM-Dateien ab. Der Gaußsche Filter glättete das Bild, indem er für jedes Pixel einen gewichteten Mittelwert basierend auf den umliegenden Pixeln berechnete. Die Standardabweichung σ der Gaußschen Verteilung, die hier auf 1 gesetzt war, bestimmte die Stärke der Glättung, wodurch das Rauschen reduziert wurde, ohne wesentliche Bilddetails zu beeinträchtigen. Der Befehl `imgaussfilt(img, sigma)` wandte den Filter auf jedes Bild an. Um die ursprünglichen DICOM-Metadaten zu bewahren, nutzte das Skript die Option `'CreateMode', 'Copy'`. Die Abbildung 3.8 zeigt die Bilder und die Signale vor und nach der Glättung.

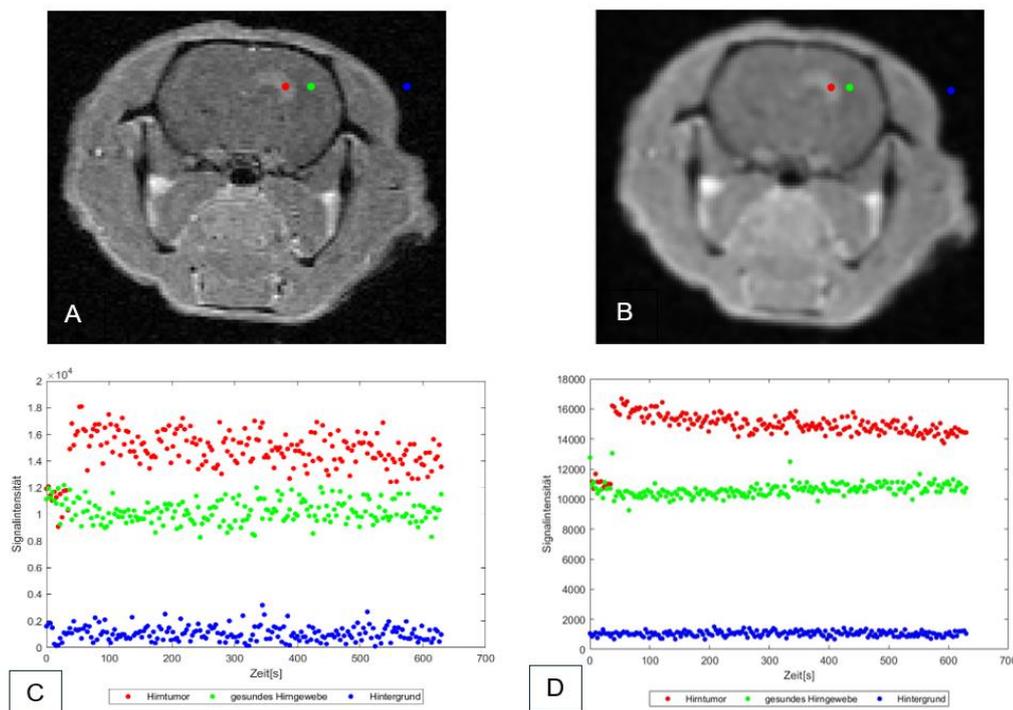


Abbildung 3.8: Vor der Glättung zeigt das Bild (A) eine deutliche Schwankung und Variabilität im Signal (C), was auf Rauschen hinweist. Nach der Glättung (Bild B) wirken die Signale (D) gleichmäßiger und stabiler, und die Schwankungen sind deutlich reduziert. Das Hintergrundsignal (blau) repräsentiert keine strukturellen Bildinformationen und dient somit als Kontrolle des Signal-Rausch-Verhältnisses. Idealerweise sollte dieses Signal konstant nahe null liegen.

3.3.3.3 Signalintensitäts-Zeit-Kurven

Der nach Schichten sortierte und geglättete DCE-Datensatz wurde mittels des MATLAB-Skripts in Anhang A.7 zur Erstellung der Signalintensitäts-Zeit-Kurven für jedes Pixel verwendet. Nach der Eingabe des Verzeichnisses mit dem DCE-Datensatz wurde jedes Bild in einer Schleife eingelesen, skaliert und in einer 3D-Matrix gespeichert, um es für die anschließenden Analyseprozesse bereitzustellen. Ein Bild aus der DCE-Bildsequenz wurde mit der Software *Image J* so ausgewählt, dass es den Tumor enthielt und die Kontrastmittelaufnahme am deutlichsten zeigte. Dieses ausgewählte Bild wurde in das Skript eingefügt. Zum Beispiel wurde das 24. Bild aus der Sequenz der 204 dynamischen DCE-Bilder durch den Befehl `fullfile(folderPath, dcmFiles(24).name)` geladen. Beim Ausführen des Skripts wurde dieses Bild angezeigt, sodass der Benutzer mithilfe der Funktion *ginput* drei Pixel für gesundes Gewebe, Tumorgewebe und den Hintergrund auswählen konnte. Daraufhin durchlief eine Schleife die gesamte Sequenz der 204 T1w-Bilder, um die Signalintensitäten an den ausgewählten Pixelpositionen zu erfassen. Jedes Bild entsprach einem Zeitpunkt t , sodass jede Signalintensität einem bestimmten Zeitpunkt zugeordnet wurde. Schließlich wurde ein Diagramm erstellt, in dem die x-Achse die Zeit in Minuten und die y-Achse die Signalintensität darstellte.

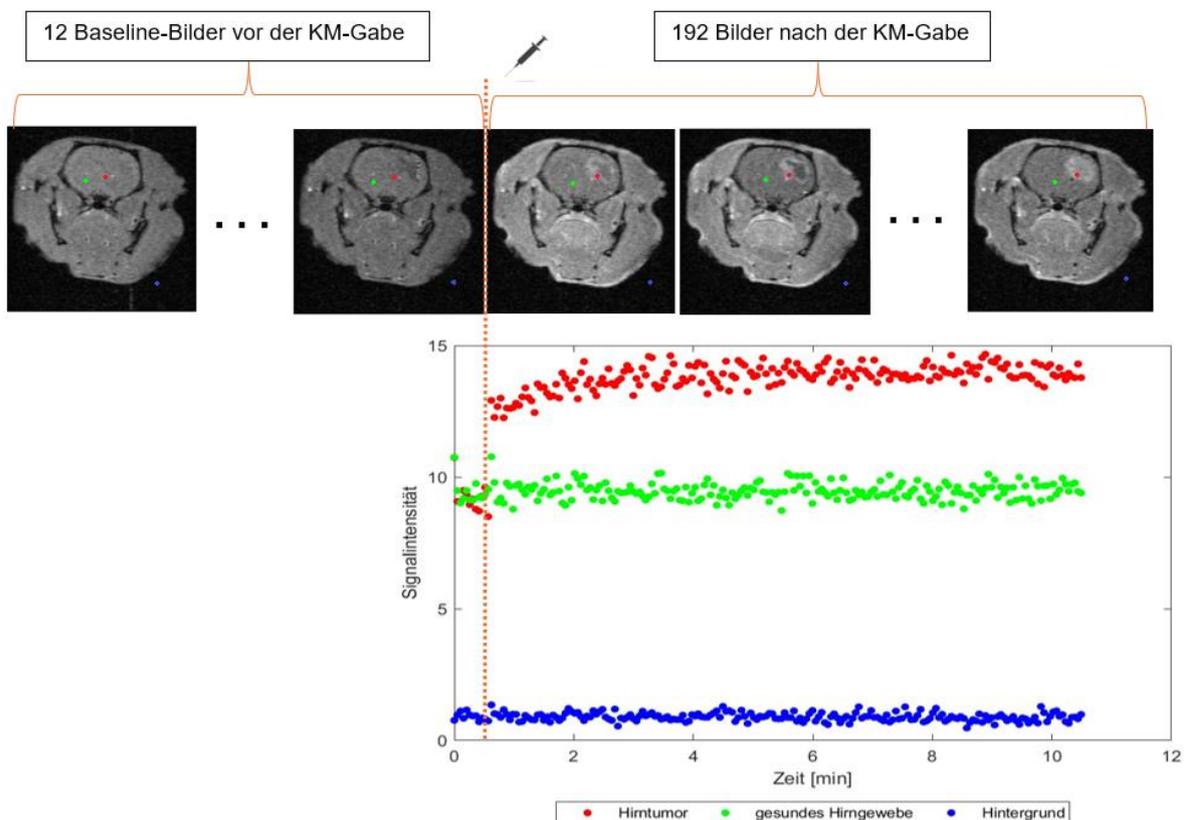


Abbildung 3.9: Beispielhafte Signalintensitäts-Zeit-Kurven von drei ausgewählten Pixeln, die dem Hirntumor (rot), gesunden Hirngewebe (grün) und dem Hintergrund (blau) entsprachen, wurden aus der dynamischen kontrastmittelverstärkten T1w-Bildsequenz extrahiert.

In einigen DCE-Datensätzen wurden Unregelmäßigkeiten in den Signalintensitäts-Zeit-Kurven festgestellt, etwa in Form einer höheren Baseline im Vergleich zum Kontrastmittelsignal oder einer Aufspaltung der Signalkurve (siehe Abb. 3.10). Diese Abweichungen ließen darauf schließen, dass die Rohpixelintensitäten möglicherweise nicht korrekt in physikalisch relevante Signalwerte umgewandelt wurden, insbesondere wenn die DCE-Daten aus drei separaten Scans stammten. In der DICOM-Bildgebung sind die Parameter *RescaleSlope* und *RescaleIntercept* entscheidend für die Skalierung der Rohpixelwerte zu tatsächlichen physikalischen Intensitätswerten. Daher wurde im MATLAB-Skript eine Anpassung der Rohsignalintensität anhand der folgenden Formel vorgenommen [53]:

$$\text{Signalintensität} = \text{RescaleSlope} \times \text{Rohpixelwert} + \text{RescaleIntercept}$$

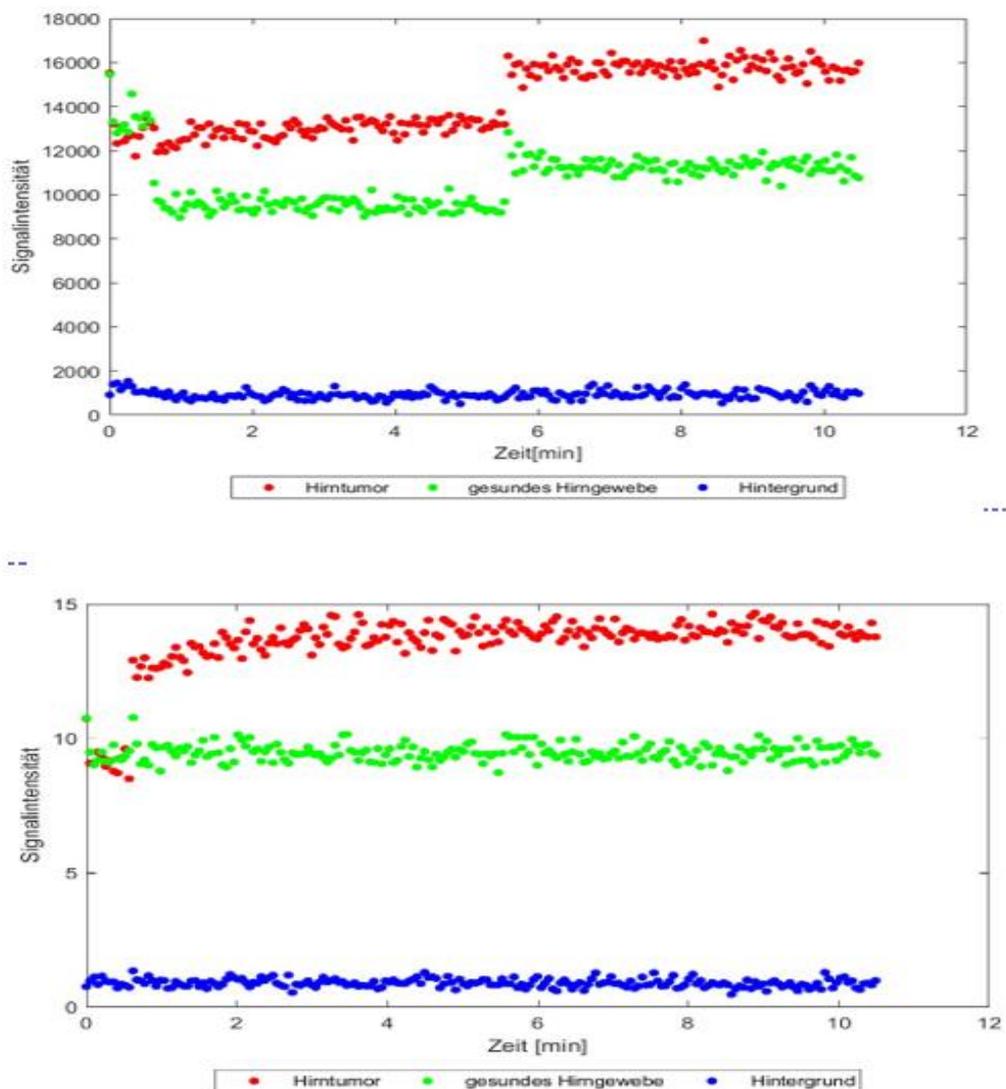


Abbildung 3.10: Vor der Skalierung (oben) zeigte die Kurve eine erhöhte Baseline im Vergleich zum Kontrastmittelsignal sowie eine Aufspaltung der Signalkurve. Nach der Skalierung (unten) stellte die Kurve den Verlauf der Kontrastmittelaufnahme korrekt dar.

3.3.3.4 Berechnung der arteriellen Eingangsfunktion (AIF)

Die Signalintensität der Arterie wurde direkt aus der dynamischen T1w-Bildsequenz extrahiert („*image-derived AIF*“). Zunächst wurden die Schichten mit Tumorgewebe und Arterien mittels *Image J* bestimmt, indem die Veränderungen der Signalintensität im Vergleich zu den Baseline-Bildern analysiert wurden. Die DCE-Daten dieser Schichten wurden anschließend dem MATLAB-Skript in Anhang A.8 zur Verfügung gestellt, um die Signalintensitäten in zeitabhängige Kontrastmittelkonzentrationen umzuwandeln. Unter den AIF-Modellen von Balvay et al., die in dieser Arbeit getestet wurden, zeigte das Hybrid-Modell die beste Anpassung. Die Gleichung des Hybrid-Modells lautet [40]:

$$S = a \cdot (t - t_0)^b \cdot (e^{-c_1 \cdot (t - t_0)} + d \cdot e^{-c_2 \cdot (t - t_0)}) \quad (21)$$

Dabei stellt t die Zeit und S die Signalintensität dar. Die Parameter a , b , c , d und t_0 werden im Modell optimiert, sodass die durch das AIF-Modell berechneten Signalwerte die gemessenen Signalwerte möglichst genau annähert.

Nach der Eingabe des Pfads zum DCE-Datensatz der Schicht, die die Arterie und den Tumor enthielt, wurde ein Bild ausgewählt. Auf diesem Bild wählte man eine ROI, die die Arterie enthielt. Anschließend berechnete das Skript A.8 automatisch die Umwandlung der Signalintensität in eine zeitabhängige Konzentrationskurve für jedes Pixel in der ROI. Zunächst extrahierte eine for-Schleife die Signalintensitäten jedes Pixels in der ROI aus den 204 T1w-Bildern des DCE-Datensatzes. Gleichzeitig wurden der Flipwinkel α und die Repetitionszeit TR aus den Metadaten entnommen. Danach wurden die Umrechnungsformeln zu Konzentrationen (Gleichungen (14) bis (19) in den Abschnitten 2.6.3.1 und 2.6.3.2) schrittweise angewendet. Der Mittelwert der Signalintensitäten aus den 12 Baseline-Bildern ergab den S_0 -Wert der Gleichung (14). Ein fixer T_{10} -Wert (T_1 vor KM-Gabe) von 2300 ms (gemessen bei 7 Tesla) wurde für alle Pixel in der ROI verwendet [26, p. 544]. Da die Variablen A , B , $R_1(t)$, $C_b(t)$ und $C_p(t)$ aus den 192 postkontrastiven Bildern berechnet wurden, liefen sie innerhalb einer for-Schleife vom 13. Bild bis zum Ende der dynamischen Bildserie. Der r_1 -Wert wurde aus Abschnitt 3.3.2 übernommen, und der Hämatokritwert Hct betrug, wie in Abschnitt 2.6.3.2 beschrieben, 0,44. Da r_1 die Einheit $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ wurden T_{10} bzw. R_{10} von Millisekunden in Sekunden umgerechnet.

Die berechneten Konzentrationen wurden mithilfe einer nichtlinearen Anpassung an das Hybridmodell angepasst. Das Hybridmodell wurde am Ende des Skripts durch die Funktion *hybridFunction* definiert, wobei für Zeitpunkte vor der Kontrastmittelgabe ($t \leq t_0$) eine Konzentration von null festgelegt wurde. Die Anfangsschätzwerte für die Parameter a , b , c_1 , c_2 , d und t_0 des Hybridmodells, betragen der Reihe nach 0,1; 1; 0,1; 0,1; 0,01 und 0,62. Dabei stellte t_0 die

geschätzte Anfangszeit dar, zu der die Kontrastmittelkonzentration zu steigen begann. Der Wert $t_0=0,62$ Minuten wurde gewählt, da dies der Zeitpunkt war, zu dem das erste Bild der dynamischen Bildsequenz nach Kontrastmittelgabe akquiriert wurde. Für jedes Pixel in der ROI erfolgte daraufhin eine *for*-Schleife, in der die nichtlineare Anpassung der berechneten Konzentrationen an das AIF-Modell durchgeführt wurde. Zunächst berechnete die Zielfunktion *objectiveFunction* die Summe der quadrierten Abweichungen zwischen den gemessenen Konzentrationen C_{p_pixel} und den durch das *hybridFunction*-Modell vorhergesagten Konzentrationen. Die Optimierungsfunktion *fminsearch* fand dann die optimalen Parameter, um den Fehler zu minimieren. Schließlich wurde eine AIF-Kurve unter den berechneten Konzentrationskurven C_{p_fit} nach den typischen AIF-Kriterien wie schnellem Anstieg, hoher Konzentrationspeak und raschem Abfall für das Tofts-Modell ausgewählt (siehe Abb. 3.11) [54].

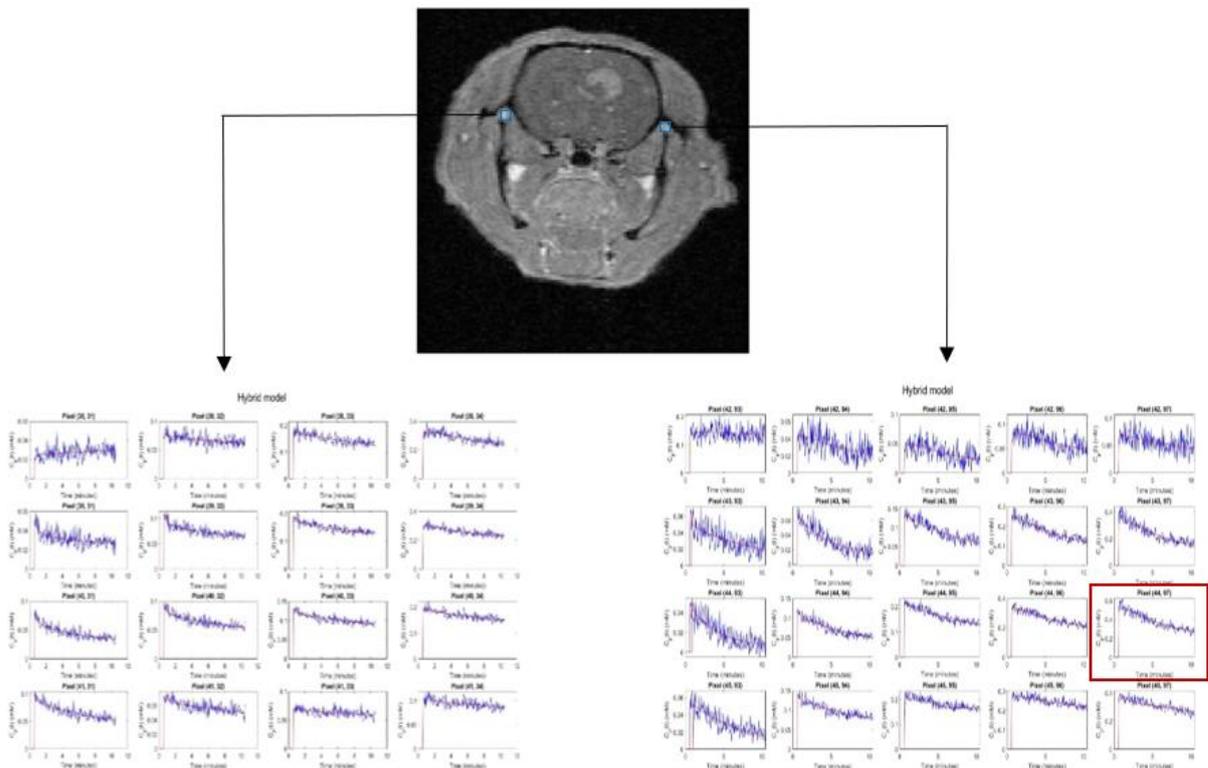


Abbildung 3.11: Die zeitabhängigen Konzentrationskurven des Kontrastmittels für jeden Pixel in den linken und rechten Arterien.

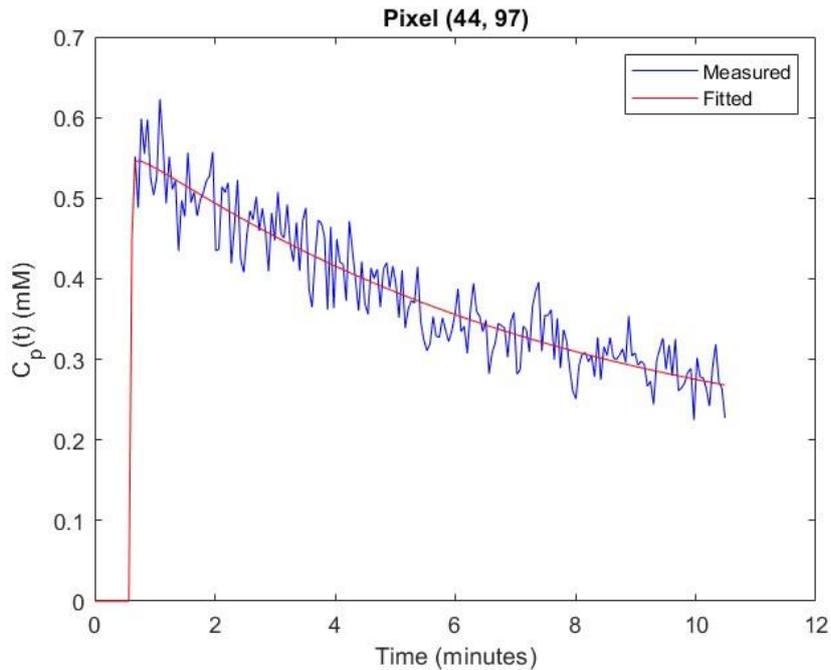


Abbildung 3.12: Vergrößerter Bildausschnitt des in Abb. 3.11 markierten roten Rahmens. Die zeitabhängige Konzentrationskurve wurde aufgrund ihrer Merkmale, wie schnellem Anstieg, hoher Konzentrationspeak und raschem Abfall, als AIF ausgewählt.

3.3.3.5 Berechnung der K_{trans} -Maps

Zur Berechnung des pharmakokinetischen Parameters K_{trans} mit dem Tofts-Modell musste neben der Bestimmung der AIF auch die Kontrastmittelkonzentration im Gewebe bekannt sein. Die Berechnung der Gewebekonzentration erfolgte analog zur Bestimmung der AIF, wobei für alle Pixel in der ROI des Gewebes ein fester T1-Wert von 2500 ms verwendet wurde [55].

Die Berechnung der K_{trans} -Werte und ihre Darstellung als farbcodierte Maps für jeden Pixel erfolgten mithilfe des MATLAB-Skripts in Anhang A.9. Das Skript gliederte sich in zwei Abschnitte: Im ersten Teil wurde die AIF wie in Abschnitt 3.3.3.4 beschrieben bestimmt, wobei die Pixelkoordinaten der AIF hier direkt eingegeben wurden. Der zweite Teil des Skripts diente zur Berechnung von K_{trans} anhand zweier Tofts-Modelle: des *Standard Tofts Models* (TM) und des *Extended Tofts Models* (ETM). In diesem Skript wurde das TM verwendet, das durch Gleichung (11) definiert ist. Die Anfangswerte für K_{trans} und v_e wurden dabei auf 0,1 bzw. 0,01 gesetzt [56]. Analog zur Berechnung der AIF wurde die Optimierungsfunktion *fminsearch* verwendet, um die optimalen Werte für K_{trans} für jeden Pixel zu bestimmen. Diese Werte wurden anschließend als farbcodierte Maps mit einer Farbskala von 0 bis $0,3 \text{ min}^{-1}$ dargestellt.

3.3.4 ^1H -MRS

Nach Abschluss der MRS-Messungen wurden die Rohdaten mit der Software *ParaVision* 6.0.1 von Hersteller Bruker verarbeitet. Die verarbeiteten Daten wurden anschließend im TXT-

Format (Textdateien) exportiert. Für jedes Versuchstier wurden zwei Datensätze gewonnen, die jeweils den Tumor und das gesunde Gewebe repräsentierten. Jede Datei enthielt Informationen zum Erstellungsdatum der Datei, dem Dateinamen, dem Speicherort, dem Spektralbereich und der Anzahl der Datenpunkte in den Zeilen 1 bis 6. Jeder Datenpunkt stellte eine Signalintensität dar, die ab Zeile 11 bis zum Ende der Datei aufgeführt war (siehe Abb. 3.13).

```
# File created = Monday, January 8, 2024 9:43:55 AM CET
# Data set = 20210706_124336_HZL_Rat_Brain_Tumor_June2021_1_10 3 1 /opt/PV6.0.1/data/nmrsu
# Spectral Region:
# LEFT = 9.997606722736666 ppm. RIGHT = -0.4971847561336988 ppm. ← Spektralbereich
#
# SIZE = 1957 ( = number of points) ← Anzahl der Datenpunkte
#
# In the following ordering is from the 'left' to the 'right' limits!
# Lines beginning with '#' must be considered as comment lines.
#
4.6368408203125
19.4168701171875
-29.1917724609375
117.8853759765625
78.99072265625
-17.564208984375
11.4139404296875
13.3402099609375
-20.0472412109375
-100.919189453125
-47.04931640625
27.1048583984375
-169.6641845703125
-136.9093017578125
66.1009521484375
-46.1986083984375
39.5924072265625
176.2662353515625
16.177490234375
```



Datenpunkte mit
Signalintensitäten

Abbildung 3.13: Ein Beispiel der MRS-Daten, die in der Tumorregion der Ratte 21A3 erfasst wurden.

Zum Visualisieren des MR-Spektrums aus einer Textdatei wurde ein Algorithmus in MATLAB® entwickelt (siehe in Anhang A.10). Zu Beginn las das Skript die Textdatei mit den MRS-Daten mithilfe der Funktion *readmatrix* ein. Dabei wurden die durch *detectImportOptions* definierten Importoptionen angewendet, um sicherzustellen, dass Kommentare, die mit dem Zeichen # markiert waren, ignoriert und nur numerische Daten berücksichtigt wurden. Der chemische Verschiebungsbereich (*chemical shift*, in ppm) wurde durch zwei Grenzwerte festgelegt, *left_ppm* = 9,9976 ppm und *right_ppm* = -0,4972 ppm. Die Anzahl der Datenpunkte betrug 1957. Mithilfe der Funktion *linspace* wurde der Spektralbereich gleichmäßig auf die Anzahl der Datenpunkte verteilt, wodurch die x-Achse des Spektrums berechnet wurde. Anschließend visualisierte das MATLAB-Skript das MR-Spektrum, indem es die chemische Verschiebung auf der x-Achse und die Signalintensität auf der y-Achse darstellte. Der Befehl *set(gca, 'XDir', 'reverse')* wurde verwendet, um die x-Achse umzudrehen, sodass höhere ppm-Werte links und niedrigere ppm-Werte rechts abgebildet wurden.

Im lebenden, wasserreichen Gewebe waren die Resonanzen der Metaboliten im Vergleich zum Wassersignal äußerst schwach. Daher wies das Wassersignal im erhaltenen Spektrum einen wesentlich höheren Peak (bei 4,7 ppm) auf als die Peaks der anderen Metaboliten (siehe Abb. 3.14). Um die Peaks der Metaboliten hervorzuheben, wurde das Spektrum durch eine Maske auf den Bereich von 0 ppm bis 4,0 ppm gefiltert. Diese Maske wurde erstellt, um nur die Datenpunkte in diesem Bereich einzuschließen und das Wassersignal auszuschließen.

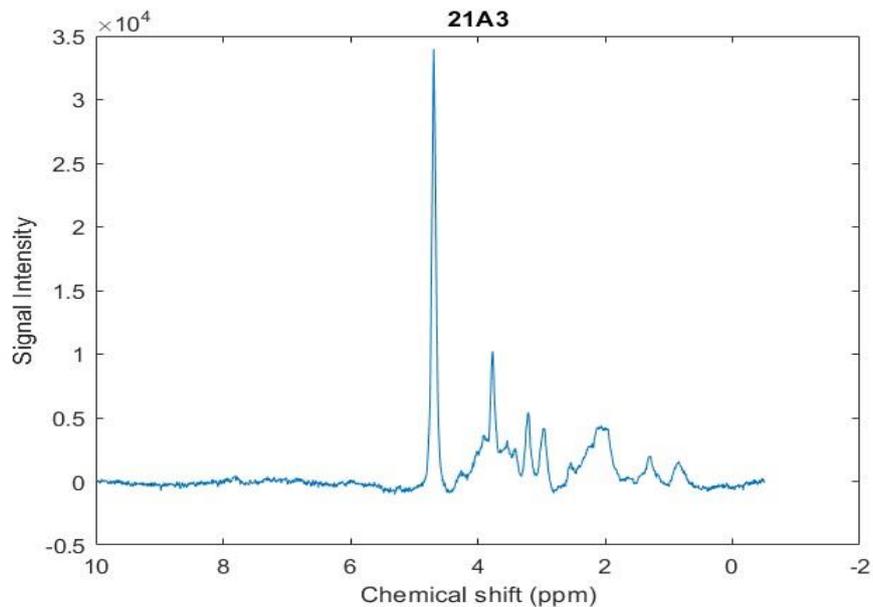


Abbildung 3.14: Das Spektrum im Tumorbereich der Ratte 21A3 zeigte, dass die Amplitude des Wassersignals (chemische Verschiebung $\delta = 4,7$ ppm) deutlich größer war als die der anderen Metaboliten.

4 Messergebnisse und Diskussion

4.1 Die konventionelle MRT-Bildgebung

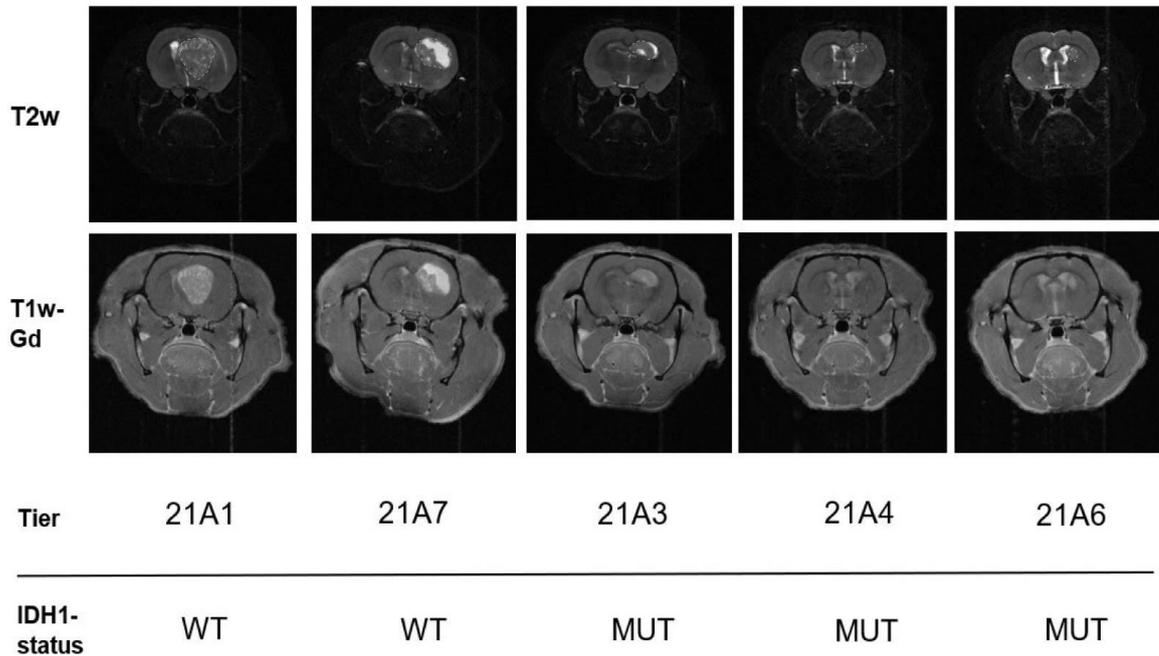


Abbildung 4.1: T2w und T1w-Gd MRT-Bilder von drei Ratten mit IDH1-Mutation (MUT) und zwei Ratten mit IDH1-Wildtyp (WT). Die Tumorgrenzen sind auf den T2w-Bildern durch gestrichelte Linien dargestellt.

Abbildung 4.1 zeigt, dass beide Typen des Glioblastoms (GBM) auf T2-gewichteten (T2w) und postkontrastierten T1-gewichteten MRT-Bildern (T1w-Gd) hyperintens erscheinen. Insgesamt waren die IDH1-Wildtyp (IDH1wt)-GBM größer und heterogener im Vergleich zu den IDH1-mutierten (IDH1mut) GBM. Auf dem T2w-Bild des IDH1wt-Tumors zeigte Tier 21A1 mehrere Bereiche mit unterschiedlichen Signalverstärkungen, während Tier 21A7 zwei deutlich unterscheidbare Regionen aufwies: eine homogene, stärker hyperintense Region und eine leicht hyperintense, allerdings inhomogene Region. Die homogene, hyperintense Region konnte auf Nekrose oder ein Ödem hinweisen, während die inhomogene Region als aktiver Tumor interpretiert werden kann. Auf den T1w-Gd-Bildern wiesen die IDH1mut-Tumoren eine niedrigere Kontrastmittelaufnahme im Vergleich zu den IDH1wt-Tumoren auf. Die IDH1mut-Tumoren zeigten auf T1w-Gd jedoch eine geringe Kontrastierung, was die Abgrenzung des Tumors von den umgebenden anatomischen Strukturen, wie den Ventrikeln, erschwerte. Folglich liefert die konventionelle MRT-Bildgebung hauptsächlich Informationen zur Tumorage und -abgrenzung.

4.2 Quantitative T2-Maps

Die Tabelle in Anhang A.2 zeigt die durchschnittlichen T2-Relaxationszeiten für Tumor- und gesundes Gewebe bei jeder Ratte. Den Ergebnissen zufolge waren die T2-Werte beider Tumortypen signifikant höher als die der gesunden Geweberegionen (77 ms für IDH1wt-Tumoren, 64 ms für IDH1mut-Tumoren und 54 ms für gesundes Gewebe). Auf den farbcodierten T2-Maps wurden die Tumorregionen in Gelb bis Gelb-Rot dargestellt (60-75 ms auf der Farbskala), während das gesunde Gewebe in einem Gelb-Türkis-Bereich (50-55 ms) erschien. Die dunkelroten Bereiche nahe den Tumoren entsprachen den Ventrikelräumen (siehe Abb. 4.2). Die Tumorentwicklung drückte auf diese Ventrikelräume und erhöhte den Druck, was zu einer Flüssigkeitsansammlung führte und somit sehr hohe T2-Werte in den Ventrikeln verursachte (>100 ms).

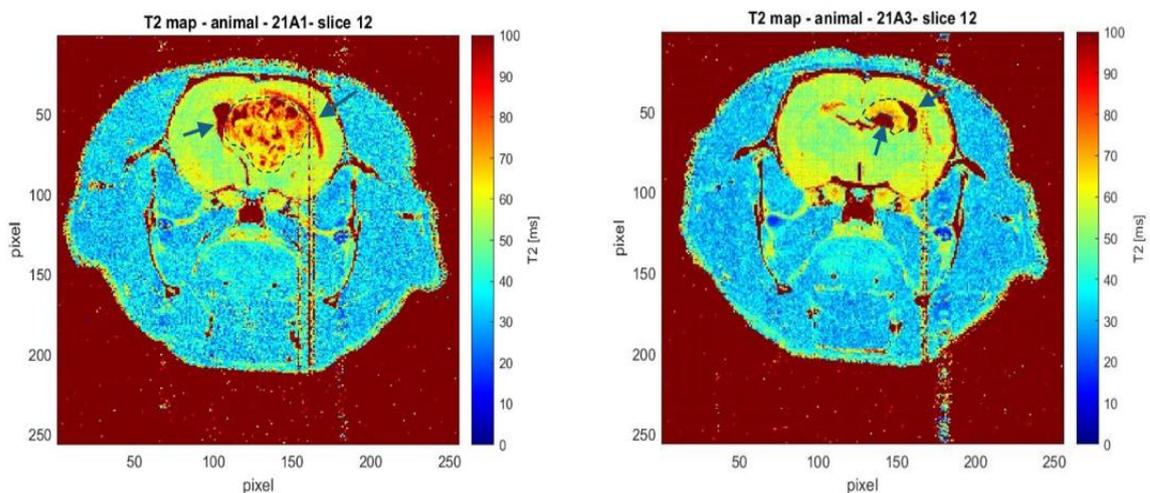


Abbildung 4.2: Beispielhafte T2-Map einer Schicht von Ratte 21A1 (links) und Ratte 21A3 (rechts). Der Tumor (blaue gestrichelte Linie) weist durchschnittliche T2-Werte von 77 ms (21A1) bzw. 64 ms (21A3) auf, was höher ist als der durchschnittliche T2-Wert des gesunden Gewebes (54 ms). Die Hirnventrikel (blaue Pfeile) enthalten viel freies Wasser und zeigen daher einen hohen T2-Wert (150 ms).

Auf der farbcodierten T2-Map war die Tumorgrenze deutlich gegenüber dem umliegenden gesunden Gewebe sowie den Hirnventrikeln abgegrenzt. Darüber hinaus bestand ein deutlicher Unterschied in den T2-Werten zwischen den beiden GBM-Subtypen, wobei der IDH1wt-Tumor einen höheren T2-Wert als der IDH1mut-Tumor aufwies (77 ms gegenüber 64 ms). Die Erhöhung des T2-Wertes kann durch verschiedene Faktoren verursacht werden. Wie bereits in Abschnitt 2.3.2.2 erwähnt, stellt T2 die Zeit dar, die für den Zerfall der Quermagnetisierung erforderlich ist und mit dem Gehalt an freiem Wasser im Gewebe korreliert. Ein Anstieg des freien Wassers führt zu einer verlängerten T2-Relaxationszeit. Der freie Wassergehalt im Tumor nahm möglicherweise aufgrund einer erhöhten Angiogenese, des Vorkommens von vasogenem Ödem und von Nekrose zu, die häufige Merkmale des Glioblastoms (GBM)

darstellen [55]. Vasogenes Ödem ist eine Ansammlung der Flüssigkeit außerhalb der Blutgefäße im Interstitial des Gewebes, der durch die Störung der Blut-Hirn-Schranke (BHS) eine erhöhte Gefäßpermeabilität zur Folge hat. Die farbcodierte T2-Map des IDH1wt-GBM (siehe Abb. 4.2) zeigte einen inhomogenen Tumor mit mehreren Bereichen, die hohe T2-Werte aufwiesen (>80 ms). Im Gegensatz dazu erschien der IDH1mut-GBM auf der T2-Map relativ homogen. Dies deutet auf Unterschiede im Ausmaß der Angiogenese und der Durchlässigkeit der BHS sowohl innerhalb desselben Tumortyps als auch zwischen den beiden Tumortypen hin.

4.3 K_{trans} -Maps zur Quantifizierung der Permeabilität

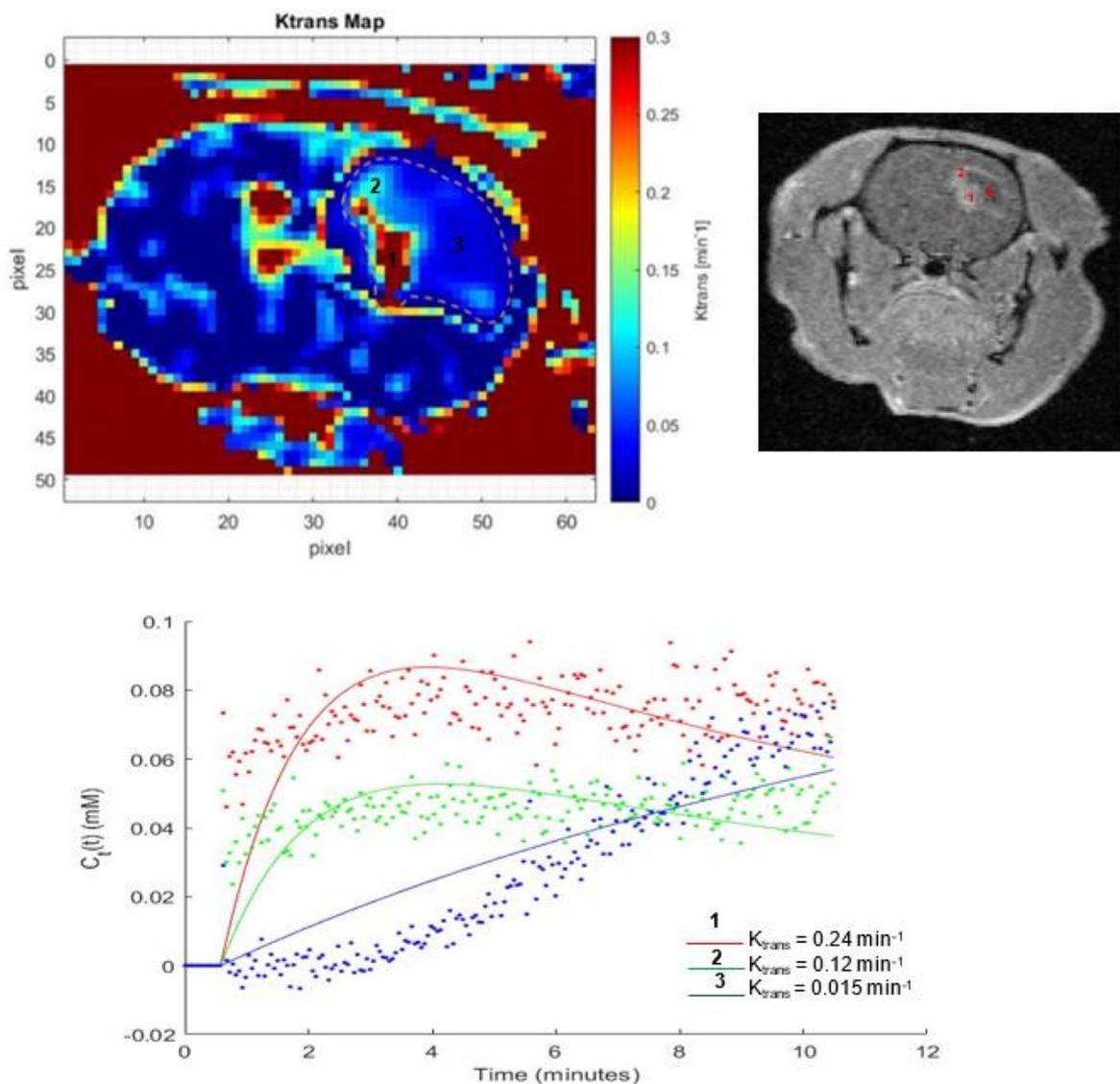


Abbildung 4.3: Das T1w-Gd-Bild (oben rechts) und die entsprechende K_{trans} -Map (oben links) sind dargestellt. Das Diagramm der zeitlichen Kontrastmittelkonzentrationskurven für die drei markierten Bereiche (unten) wurde mit dem Tofts-Modell angepasst. Die Punkte repräsentieren die gemessenen Daten, während die Volllinien die Modell-Anpassung darstellen.

In der DCE-Analyse wurden drei repräsentative Pixel für die in Abbildung 4.3 markierten Bereiche ausgewählt, die drei Regionen mit unterschiedlichen K_{trans} -Werten entsprechen. K_{trans} ist ein wichtiger pharmakokinetischer Parameter, der mit der Störung der Blut-Hirn-Schranke (BHS) im Tumor verbunden ist und somit zur Bewertung der Permeabilität und Leckage der BHS verwendet wird. Zahlreiche Studien wiesen darauf hin, dass es einen erheblichen Unterschied zwischen hochgradigen Tumoren mit und ohne IDH1-Mutation hinsichtlich der Zerstörung der BHS sowie der Anzahl neu gebildeter Blutgefäße im Tumor gibt. Der K_{trans} -Wert in IDH1mut-Tumoren ist signifikant niedriger als in IDH1wt-Tumoren [57] [58] [59]. Aufgrund der Übereinstimmung dieser Ergebnisse wird der K_{trans} -Wert in dieser Arbeit als nicht invasiver Biomarker zur Bestimmung des IDH1-Mutationsstatus verwendet. Darüber hinaus sind hochgradige Tumoren wie das Glioblastom (GBM) oft inhomogen, sodass die Mikrovaskulatur innerhalb desselben Tumors variieren kann. Daher ist die Erstellung von K_{trans} -Maps zur Evaluierung der Leckage der BHS in verschiedenen Bereichen des Tumors entscheidend für die Einschätzung des Malignitätsgrades.

Das T1w-Gd-Bild (siehe Abb. 4.3) zeigte drei Regionen mit unterschiedlichem Kontrastmittel-Enhancement: Region 1 wies das stärkste Enhancement auf, Region 2 zeigte ein geringeres Enhancement, und in Region 3 war kein Enhancement vorhanden. Das Konzentrationsdiagramm (siehe Abb. 4.3) beschrieb die Aufnahme und Ausscheidung des Kontrastmittels in diesen drei Regionen. Insbesondere wies die Kurve der Region 1 eine steilere Steigung als die der Region 2 auf, was darauf hindeutete, dass Region 1 das Kontrastmittel schneller aufnahm als Region 2. Dies deutete auf eine erhöhte Permeabilität der BHS und eine stärkere Leckage in Region 1 hin. Die Steigung korreliert mit dem K_{trans} -Wert [60], wobei der K_{trans} -Wert in Region 1 höher ist als in Region 2 (0,24 gegenüber 0,12 min^{-1}). Region 3 war nekrotisch, was durch die Immunhistochemie bestätigt wurde. Bei hochgradigen Tumoren wie dem GBM führen morphologische und strukturelle Anomalien in der Mikrovaskulatur häufig zu einer unzureichenden und inhomogenen Blutversorgung, wodurch sich nekrotische Bereiche bilden und entwickeln können. Die Form der Kontrastmittelaufnahme-Kurve im nekrotischen Bereich unterschied sich deutlich von der des aktiven Tumorgewebes (Regionen 1 und 2). Während die Kontrastmittelaufnahme-Kurve des aktiven Tumorgewebes eine schnelle Kontrastmittelaufnahme zeigte, wies die Kurve des nekrotischen Gewebes eine langsame Aufnahme auf, die danach nahezu linear über die gesamte Bildgebungszeit verlief. Dies entsprach einer langsamen Diffusion des Kontrastmittels aus dem umliegenden aktiven Tumorgewebe in das nekrotische Gewebe. Dieses Ergebnis stimmt mit der Studie von Tormod et al. überein [61]. Da das nekrotische Gewebe keine oder nur sehr geringe Durchblutung aufweist, sind pharmakokinetische Modelle, einschließlich des Tofts-Modells, in diesen Bereichen meist nicht anwendbar. Dies führt zu einer schlechten Anpassung der Daten und zu sehr niedrigen K_{trans} -Werten [62].

Aus dem Konzentrations-Zeit-Diagramm (siehe Abb. 4.3) lieferte das Standard-Tofts-Modell keine gute Anpassung an die gemessenen Konzentrationsdaten. Bhaduri et al. erwähnten in ihrer Studie, dass die Anpassungsgüte (R^2) im Bereich von 0,7 bis 1,0 liegen sollte, da Werte unter 0,7 meist durch Rauschen im Signal bedingt sind [62]. Die meisten Pixel in der Tumor-ROI wiesen einen R^2 -Wert von weniger als 0,7 auf, was auf eine unzureichende Datenanpassung hindeutete und somit die aus dem Modell berechneten K_{trans} -Werte als ungenau erscheinen ließ. Das erweiterte Tofts-Modell (ETM) lieferte ebenfalls keine gute Anpassung an die erhobenen Daten. Zur Erklärung dieses Problems gibt es mehrere Ursachen. Erstens waren die im Modell verwendeten nativen T1-Werte feste Werte für die gesamte ROI. Da das GBM ein inhomogener Tumor ist, können die T1-Werte in verschiedenen Bereichen innerhalb des Tumors unterschiedlich sein. Dies zeigte sich auch daran, dass verschiedene Regionen innerhalb desselben Tumors ein unterschiedlich starkes Enhancement aufwiesen. Des Weiteren stammten die nativen T1-Werte aus vorangegangenen Studien und nicht von den untersuchten Individuen. Diese Werte können (in Bezug auf die Genauigkeit) bei unterschiedlichen Pulssequenzen, Individuen oder Geweberegionen variieren. Daher sollten vor der Durchführung der DCE-Pulssequenz die nativen T1-Werte für jedes Pixel in der ROI des Gewebes, einschließlich Tumor und Arterien, mittels einer T1-Map bestimmt werden. Zweitens hat die AIF-Messung den größten Einfluss auf die Anpassungsergebnisse des Modells. Eine ungeeignete Wahl der AIF führt zu ungenauen Ergebnissen. Gleichermäßen beeinflusste die Verwendung eines festen T1-Wertes für die gesamte arterielle ROI die Ergebnisse der AIF erheblich. Darüber hinaus wurde der dynamische Scan etwa 30 Sekunden nach der Bolusinjektion durchgeführt, zu diesem Zeitpunkt, an dem ein Teil des Kontrastmittels möglicherweise bereits ins Gewebe transportiert wurde. Die AIF sollte idealerweise unmittelbar nach der Kontrastmittelinjektion gemessen werden, um den Konzentrationspeak der Arterie genau zu erfassen. Weiterhin ist die manuelle Auswahl des AIF-Pixels subjektiv, und die Wahl eines einzelnen Pixels anstelle des Durchschnittswertes einer optimalen Pixelgruppe für die AIF kann ebenfalls die Ergebnisse beeinflussen. Drittens weicht die r_1 -Relaxivität von Gadovist®, die aus einer in vitro-Phantommessung berechnet wurde, von dem in der Studie von Noebauer-Huhmann et al. ermittelten Wert ab (7,3 im Vergleich zu 3,3 bei $B_0 = 7T$) [32]. Daher sollte dieser Wert überprüft werden.

4.4 Qualitative Stoffwechselprofile

Eigenschaften der Stoffwechselprodukte, die im MR-Spektrum mit der PRESS-Pulssequenz ($TE = 16,6$ ms) detektiert wurden (siehe Abb. 4.4 und 4.5):

Lipide

Lipide resonieren bei 0,9 ppm bis 1,3 ppm. Lipide existieren als Makromoleküle in Zellmembranen und Myelinscheiden im normalen Hirngewebe. Wenn das Hirngewebe während des Wachstums eines Hirntumors geschädigt oder zerstört wird, wandeln sich diese Lipid-Makromoleküle in Lipidtröpfchen (mobile Lipide) um [63]. Das gemessene Lipid-Signal im MRS entspricht diesen mobilen Lipiden [64]. Das Auftreten dieses Signals sowie die erhöhte Lipid-Konzentration im Spektrum stehen in Zusammenhang mit dem Vorhandensein ausgedehnter nekrotischer Bereiche in hochgradigen Tumoren [64] [65] [66].

N-Acetyl-Aspartat (NAA)

NAA resoniert bei 2,02 ppm. NAA wird hauptsächlich in intakten Neuronen des zentralen Nervensystems synthetisiert und gespeichert und gilt daher als Neuronenmarker. Wenn diese Nervenzellen zerstört werden, beispielsweise bei Gliomen, sinkt der NAA-Spiegel. Die NAA-Konzentration nimmt tendenziell mit dem steigenden Malignitätsgrad des Tumors ab, und ein hoher NAA-Spiegel ist somit mit einer guten Prognose verbunden [43]. Aus den MRS-Ergebnissen dieser Arbeit war NAA in beiden Tumortypen im Vergleich zum gegenüberliegenden gesunden Hirngewebe deutlich reduziert (siehe Abb. 30). Allerdings war der Rückgang des NAA-Spiegels im Tumor 21A3 (IDH1mut) geringer, da die Neuronen hauptsächlich durch Tumorzellen ersetzt wurden, während das NAA-Signal im Tumor 21A7 (IDH1wt) stark abfiel, was auf eine Nekrose im Tumor zurückzuführen ist.

Gesamtcreatin (*total creatine*, tCr)

Das Creatin-Peak wird bei 3,02 ppm detektiert und stellt einen zusammengesetzten Peak dar, der hauptsächlich aus Creatin und Phosphocreatin besteht. Creatin gilt als Marker für den Energiestoffwechsel und wird hauptsächlich aus Aminosäuren in Niere und Leber synthetisiert, bevor es über die Blutgefäße zu Geweben und Organen transportiert wird [43]. Die Rolle von Cr bei der Diagnose von Hirnerkrankungen ist in der Forschung noch nicht einheitlich festgelegt. Viele Studien verwendeten Cr als Referenzsubstanz zur Berechnung von Metabolit-Verhältnissen wie Cho/Cr, NAA/Cr oder Lactat/Cr, da seine Konzentration im Gehirn relativ stabil war [67] [68]. Einige Autoren wiesen jedoch darauf hin, dass die Cr-Konzentration wie bei anderen Metaboliten je nach Region und Individuum variieren konnte [69]. Die Studie von Isobe et al. berichtete, dass die Cr-Konzentration in hochgradigen Tumoren signifikant niedriger war als in niedriggradigen Tumoren [70]. Die Autoren betonten außerdem, dass eine niedrige Cr-Konzentration der zuverlässigste Indikator für die Malignität von Gliomen war. Die MRS-Ergebnisse in dieser Arbeit zeigten ebenfalls, dass das Cr-Signal im Tumorgewebe im Vergleich zum gesunden Gewebe reduziert war. Zwischen den beiden Tumortypen war der Cr-Abfall im IDH1wt-GBM (21A7) deutlicher als im IDH1mut-GBM (21A3), was auf den erhöhten Energiebedarf in diesem GBM-Subtyp zurückzuführen war.

Gesamtcholin (*total choline*, tCho):

Cholin (Cho) resoniert bei 3,2 ppm. Es handelt sich um einen zusammengesetzten Peak mit Beiträgen von Cholin, Phosphocholin und Glycerophosphocholin. Cholin ist ein Metabolit, der an der Synthese und dem Abbau von Phospholipiden der Zellmembran beteiligt ist und daher als metabolischer Marker für die Dichte und Integrität der Zellmembran gilt [43]. Einige Studien deuteten darauf hin, dass die Cho-Konzentration mit steigendem Malignitätsgrad von Gliomen zunahm, was auf eine erhöhte Zellmembranaktivität im Zuge der Tumorzellproliferation zurückzuführen war [71]. Die Studie von Shimizu et al. zur Korrelation zwischen dem Cholinspiegel und dem histopathologischen Proliferationsindex Ki-67 bei Tumoren mit verschiedenen Malignitätsgraden, einschließlich GBM, zeigte, dass der semiquantitative Cho-Wert nur dann zuverlässig als Prädiktor für die proliferative Aktivität oder Malignität von Gliomen diene, wenn der Tumor in MRT-Bildern homogen erschien [72]. Im Gegensatz dazu wiesen bösartige Tumoren, die aufgrund von Nekrosen, Zysten und Blutungen inhomogen waren, einen niedrigen Cho-Wert auf, während der Ki-67-Index hoch war (>20%). Dies erklärte den Rückgang des Cho-Signals in beiden GBM-Subtypen in dieser Arbeit.

Taurin (Tau) resoniert bei 3,43 ppm.

***myo*-Inositol (*ml*)**

Das *ml*-Signal liegt bei 3,54 ppm. Myo-Inositol kommt hauptsächlich in Gliazellen vor und wird daher als Glia-Marker sowie als Stoffwechsel zur Beobachtung pathologischer Prozesse in Gliazellen angesehen. Es wurde berichtet, dass *ml* eine wichtige Rolle bei der Klassifizierung von Gliomen spielte, wobei ein Anstieg der *ml*-Konzentration umgekehrt proportional zum Malignitätsgrad des Tumors war: Die *ml*-Konzentration war bei niedriggradigen Gliomen (Grad-II-Gliome) erhöht und mit einer guten Prognose assoziiert, während sie bei höhergradigen Tumoren (Grad-III-Gliome und Grad-IV-GBM) abnahm [73].

Verglichen mit dem gegenüberliegenden gesunden Gewebe wiesen die MR-Spektren beider GBM-Subtypen eine reduzierte Signalintensität von NAA, tCr, tCho und Tau auf (siehe Abb. 4.4). Der erhöhte Lipid-Peak im IDH1wt-Tumor (Tier 21A7) deutete auf Nekrose hin. Die geringere Signalintensität von *ml* in diesem Subtyp wies zudem auf einen höheren Malignitätsgrad im Vergleich zum IDH1mut-Tumor (Tier 21A3) hin. Insgesamt zeigte IDH1wt ein niedrigeres Stoffwechsellniveau, was auf die Präsenz von Nekrose zurückzuführen ist, die üblicherweise mit niedrigen Metabolitenkonzentrationen einhergeht [66]. Zum Vergleichen der

Metaboliten-Konzentrationen und deren Verhältnissen zwischen Versuchstieren bzw. Studien müssen die MRS-Daten präzise quantifiziert werden.

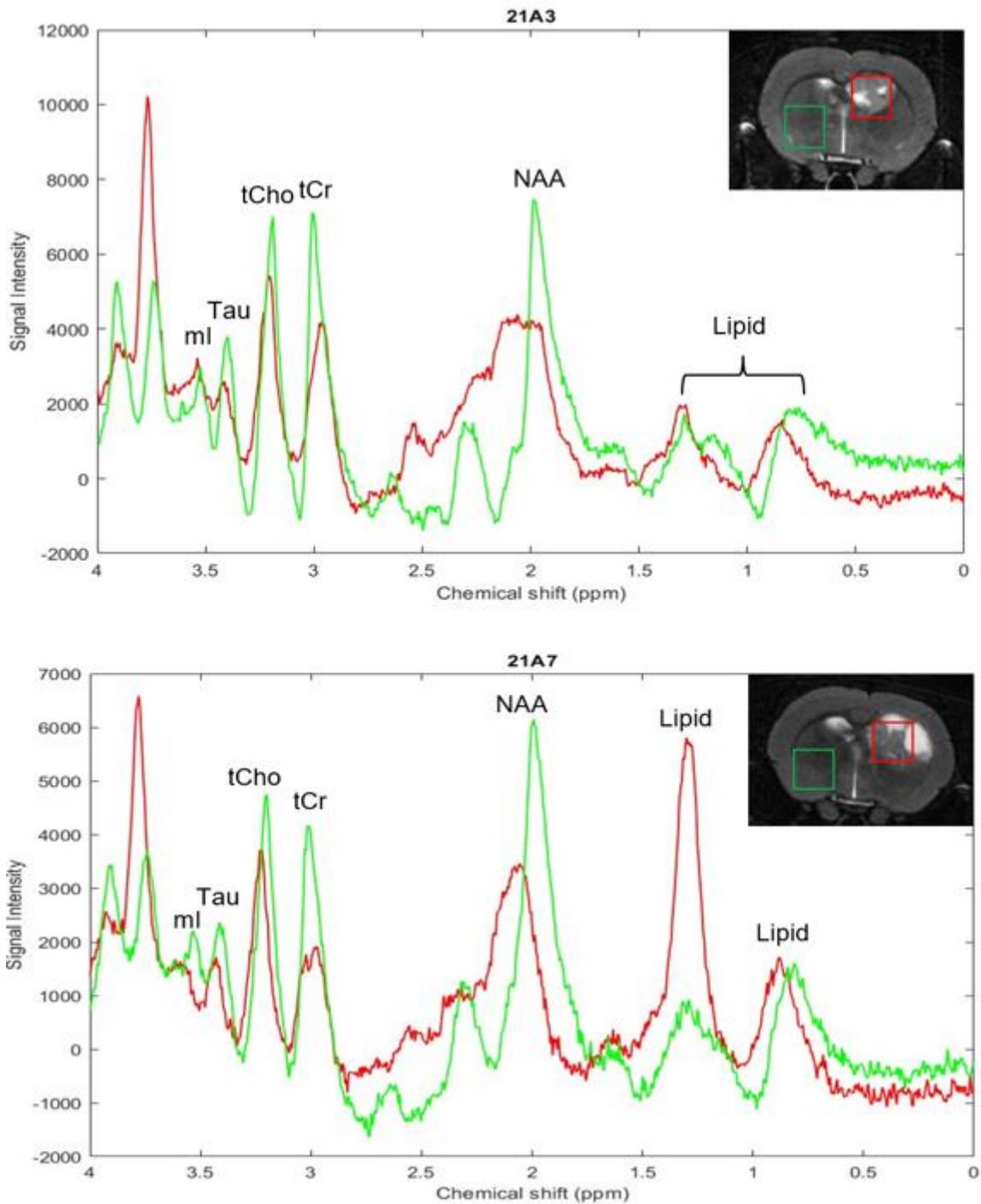


Abbildung 4.4: In-vivo-¹H-MR-Spektren des normalen Hirngewebes (grün) und des Glioblastoms (rot) bei den Ratten 21A3 und 21A7 und T2w-Bilder mit den entsprechenden Voxel.

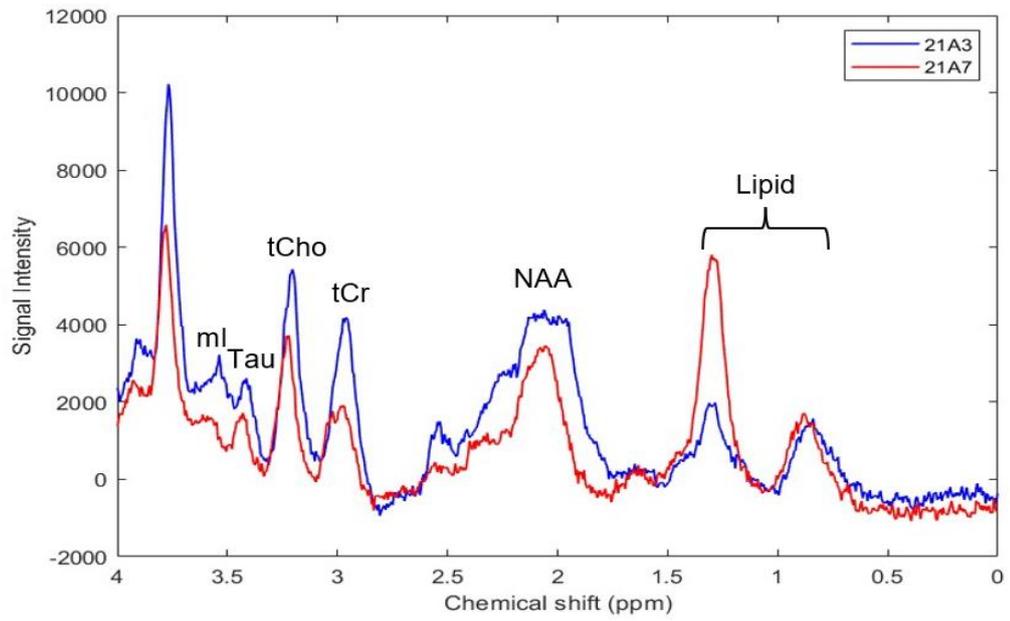


Abbildung 4.5: MR-Spektren zwischen den beiden Tumoren 21A3 (IDH1mut) und 21A7(IDH1wt)

5 Zusammenfassung und Ausblick

Das Glioblastom (GBM) ist der häufigste primäre Hirntumor des zentralen Nervensystems bei Erwachsenen und wird von der WHO als Grad-IV-Tumor eingestuft. GBM wird in zwei Subtypen unterteilt: IDH1-mutierte GBM (IDH1mut) und IDH1-Wildtyp-GBM (IDH1wt). Patienten mit IDH1mut haben eine längere Überlebenszeit und sprechen besser auf Therapien an als Patienten mit IDH1wt. Die Bestimmung des IDH1-Mutationsstatus spielt daher eine wichtige Rolle in der Prognose und der Behandlungsplanung von GBM-Patienten. Ziel dieser Arbeit ist es, ein nicht invasives multimodales MRT-Verfahren in Kombination mit MRS zu etablieren, um bildgebende Biomarker der IDH1-Mutation zu bestimmen.

Ein charakteristisches Merkmal von GBM ist die intensive Angiogenese. Dies führt zur Bildung von neuen Blutgefäßen mit anormaler Struktur, was eine unregelmäßige Durchblutung zur Folge hat. Bereiche mit unzureichender Mikrozirkulation fördern die Entstehung von Nekrose. Darüber hinaus ist die Blut-Hirn-Schranke in diesen neuentstandenen Gefäßen oft gestört, was zu erhöhter Gefäßpermeabilität führt. Basierend auf diesen Merkmalen wurde ein multimodales MRT-Bildgebungsprotokoll entwickelt, das T2-gewichtete Bilder (T2w), T1-gewichtete Bilder mit Kontrastmittelgabe (T1w-Gd), T2- und K_{trans} -Maps in Kombination mit MRS umfasst. Dieses Verfahren wurde mit einem 7-Tesla-Kleintier-MRT-Scanner an orthotopen Rattenmodellen durchgeführt, die mit humanen U-251MG-GBM-Zelllinien implantiert wurden. In den T2w-Bildern wurden die Tumore als hyperintense Bereiche im Vergleich zum umliegenden gesunden Gewebe dargestellt. Die T1w-Gd-Bilder hingegen dienen der qualitativen Beurteilung von Tumorbereichen mit einer gestörten Blut-Hirn-Schranke (BHS). Gadolinium (Gd)-basierte Kontrastmittel verkürzen die T1-Relaxationszeit und verstärken dadurch die Signalintensität in den betroffenen Gewebebereichen, sodass in den T1w-Gd-Bildern Bereiche mit gestörter BHS heller (signalverstärkt) erscheinen. In den T2w- und T1w-Gd-Bildern erschien der IDH1mut-Tumor relativ homogen, kleiner und mit geringerer Kontrastmittelaufnahme als der IDH1wt-Tumor. Allerdings war der Kontrast im T1w-Gd-Bild niedrig, was zu einer Überlappung zwischen dem Tumor und den Ventrikelräumen führte. Die T2-Relaxationszeit ist ein charakteristischer Parameter für jeden Gewebetyp. Der T2-Wert erhöht sich, wenn der Gehalt an freiem Wasser im Gewebe steigt, wie etwa bei Angiogenese, vasogenem Ödem aufgrund einer gestörten BHS oder bei der Bildung nekrotischer Bereiche. Die T2-Map ermöglicht die Quantifizierung der T2-Werte in der Gewebe-ROI, wobei diese Werte als Farben dargestellt werden. Mittels der Multi-Slice-Multi-Echo-Sequenz wurde eine Reihe von Echo-Bildern zu verschiedenen TE-Zeitpunkten erfasst. Durch pixelweise Analyse wurden die Signalintensitäten in Abhängigkeit von TE mit einem monoexponentiellen Zerfallsmodell angepasst, um die T2-Werte zu

schätzen. Die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse zeigten, dass der mittlere T2-Wert in beiden Tumortypen signifikant höher war als im gesunden Gewebe; der IDH1mut-Tumor wies einen niedrigeren mittleren T2-Wert im Vergleich zum IDH1wt-Tumor auf (64 ms gegenüber 77 ms). Zur Quantifizierung der Permeabilität der BHS wurde die T1w-DCE-MRT angewendet. Bei dieser Methode wurde eine Serie dynamischer T1w-Bilder vor und nach der Kontrastmittelgabe mittels einer schnellen 2D-FLASH-Sequenz mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung aufgenommen, wodurch die Aufnahme und Ausscheidung des Kontrastmittels (Pharmakokinetik des Tracers) erfasst wurden. Die aus der T1w-Bildsequenz extrahierte Signalintensitätskurve wurde in eine Konzentrationskurve der Arterie (AIF) und der Tumor-ROI umgewandelt und anschließend mit dem Tofts-Modell angepasst, um den K_{trans} -Wert zu schätzen. Dieser Wert wurde zur Bewertung der Leckage der BHS genutzt. In dieser Arbeit war die DCE-Analyse nicht erfolgreich in der Bereitstellung eines präzisen K_{trans} -Wertes, was sich in einer schlechten Anpassung des Tofts-Modells an die DCE-MRT-Daten widerspiegelt ($R^2 < 0,7$). Einige Faktoren wurden als Ursachen für die unzureichende Datenanpassung angesehen und sollten in zukünftigen Untersuchungen berücksichtigt werden. Einige Maßnahmen zur Verbesserung der Ergebnisse umfassen die Durchführung einer T1-Mapping-Sequenz vor der DCE-Messung, die Durchführung des dynamischen Scans während der Kontrastmittelgabe sowie die Überprüfung der Genauigkeit der r_1 -Relaxivität.

Neben der quantitativen und qualitativen Bewertung des Tumor-Mikrovaskulatur mittels MRT-Bildern trägt die Analyse der Metaboliten durch die Magnetresonanzspektroskopie (MRS) zu dem besseren Verständnis der biochemischen Eigenschaften des Tumors bei. Die MRS-Daten wurden mittels der Single-Voxel-Spektroskopie und der PRESS-Pulssequenz erfasst, wobei die Ergebnisse die mittlere Signalintensität des gesamten ausgewählten Voxels darstellten. Zu den detektierten Metaboliten im Spektrum gehörten Lipide, NAA, tCr, tCho, Tau und ml. Im IDH1wt-Tumor zeigte sich der Lipid-Peak mit erhöhter Signalintensität, was auf das Vorhandensein von Nekrose hinwies. Dies führte zu einer niedrigen Signalintensität aller Metaboliten im IDH1wt-Tumor. Zur Berechnung des Verhältnisses zwischen den Metaboliten und zum Vergleich der Ergebnisse zwischen Tiermodellen und Studien sollte in Zukunft die Signalintensität durch eine Modellanpassung in Konzentrationen umgewandelt werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein multimodales MRT-Verfahren in einer Pilotstudie mit jeweils vier Ratten pro Tumormutation getestet. Die angewendeten und ausgewerteten Verfahren umfassen T2w-Bilder, T1w-Gd-Bilder, T2-Maps, K_{trans} -Maps und MRS. Obwohl die Studie wertvolle Einblicke in die Bildgebung von IDH1-mutierten und IDH1-Wildtyp-Glioblastomen lieferte, sind die Ergebnisse aufgrund von Limitierungen in der experimentellen Versuchsdurchführung, der geringen Stichprobengröße und den damit verbundenen statistischen Einschränkungen begrenzt. Die Datenauswertung dieser Pilotstudie bildet jedoch eine solide Grundlage

für eine umfassendere Hauptstudie, die die Limitationen adressieren und den Nutzen des Verfahrens weiter evaluieren soll.

Literaturverzeichnis

- [1] Q. T. Ostrom, G. Cioffi, K. Waite, C. Kruchko und J. S. Barnholtz-Sloan, „CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2014-2018,“ *Neuro Oncol*, Bd. 23, Nr. 12 Suppl 2, pp. iii1-iii105, 5 10 2021.
- [2] B. M. Alexander und T. F. Cloughesy, „Adult Glioblastoma,“ *J Clin Oncol*, Bd. 35, Nr. 21, pp. 2402-2409, 2017.
- [3] D. N. Louis, A. Perry, G. Reifenberger, A. v. Deimling, D. Figarella-Branger, W. K. Cavenee, H. Ohgaki, O. D. Wiestler, P. Kleihues und D. W. Ellison, „The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary,“ *Acta Neuropathol*, Bd. 131, Nr. 6, pp. 803-820, 2016.
- [4] H. Ding, Y. Huang, Z. Li, S. Li, Q. Chen, C. Xie und Y. Zhong, „Prediction of IDH Status Through MRI Features and Enlightened Reflection on the Delineation of Target Volume in Low-Grade Gliomas,“ *Technol Cancer Res Treat*, Bd. 18, 2019.
- [5] C. Badve und S. Kanekar, „Radiogenomics of Gliomas,“ *Radiologic Clinics of North America*, pp. 441-455, 2021.
- [6] M. Smits und M. J. v. d. Bent, „Imaging Correlates of Adult Glioma Genotypes,“ *Radiology*, Bd. 284, Nr. 2, pp. 316-331, 2017.
- [7] A. F. Tamimi und M. Juweid, „Epidemiology and Outcome of Glioblastoma,“ in *Glioblastoma*, S. D. Vleeschouwer, Hrsg., Brisbane, Codon Publications, 2017.
- [8] M. Zhang, G. Ye, J. Li und Y. Wang, „Recent advance in molecular angiogenesis in glioblastoma: the challenge and hope for anti-angiogenic therapy,“ *Brain Tumor Pathol*, Bd. 32, pp. 229-236, 2015.
- [9] M. Adam, „Journal Onkologie,“ MedTriX GmbH, 10 06 2022. [Online]. Available: <https://www.journalonko.de/thema/lesen/glioblastom>. [Zugriff am 02 08 2024].
- [10] S. Najafi, S. Esmaeili, H. Zhaleh und Y. Rahmati, „The role of IDH1 mutation on gene expression in glioblastoma,“ *Informatics in Medicine Unlocked*, Bd. 28, 2022.
- [11] Q. T. Ostrom, M. Price, C. Neff, G. Cioffi, K. A. Waite, C. Kruchko und J. S. Barnholtz-Sloan, „CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2015-2019,“ *Neuro Oncol*, Bd. 24, pp. v1-v95, 2022.
- [12] J. Zappi, „Die Bedeutung der IDH1 Mutation für das Outcome von Patienten mit sekundärem Glioblastom behandelt in der Klinik für Neurochirurgie Frankfurt am Main,“ 2016. [Online]. Available: <https://publikationen.ub.uni-frankfurt.de/opus4/frontdoor/deliver/index/docId/43112/file/Zappi.pdf>. [Zugriff am 02 08 2024].

- [13] J. L. Izquierdo-Garcia, P. Viswnath, P. Eriksson, M. M. Chaumeil, R. O. Pieper, J. J. Phillips und S. M. Ronen, „Metabolic Reprogramming in Mutant IDH1 Glioma Cells,“ *PLoS One*, 23 02 2015.
- [14] D. Parsons, S. Jones, X. Zhang, J. C.-H. Lin, R. J. Leary, P. Angenendt, P. Mankoo, H. Carter, I.-M. Siu und e. al., „An Integrated Genomic Analysis of Human Glioblastoma Multiforme,“ *Science*, 26 09 2008.
- [15] „IDH-Mutationen,“ [Online]. Available: <https://midh.de/>. [Zugriff am 05 08 2024].
- [16] T. Watanabe, S. Nobusawa, P. Kleihues und H. Ohgaki, „IDH1 Mutations Are Early Events in the Development of Astrocytomas and Oligodendrogliomas,“ *Am J Pathol*, Bd. 174, Nr. 4, p. 1149–1153, 04 2009.
- [17] H. Yan, D. Parsons, G. Jin, R. McLendon, A. Rasheed, W. Yuan und e. al., „IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas,“ *N Engl J Med*, Bd. 360, Nr. 8, pp. 765-773, 19 02 2009.
- [18] K. Ichimura, D. M. Pearson, S. Kocialkowski, L. Bäcklund, R. Chan, D. T. W. Jones und V. Collins, „IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas,“ *Neuro Oncol*, Bd. 11, Nr. 4, pp. 341-347, 08 2009.
- [19] J. Shi, H. Zuo, L. Ni, L. Xia und e. al., „An IDH1 mutation inhibits growth of glioma cells via GSH depletion and ROS generation,“ *Neurol Sci*, Bd. 35, Nr. 6, pp. 839-845, 2014.
- [20] A. Lai, S. Kharbanda, W. B. Pope und e. al., „Evidence for sequenced molecular evolution of IDH1 mutant glioblastoma from a distinct cell of origin,“ *J Clin Oncol*, Bd. 29, Nr. 34, pp. 4482-4490, 24 10 2011.
- [21] A. N. Tran, A. Lai, S. Li, W. B. Pope, S. Teixeira, R. J. Harris, D. C. Woodworth, P. L. Nghiemphu, T. F. Cloughesy und B. M. Ellingson, „Increased sensitivity to radiochemotherapy in IDH1 mutant glioblastoma as demonstrated by serial quantitative MR volumetry,“ *Neuro Oncol*, Bd. 16, Nr. 3, pp. 414-20, 03 2014.
- [22] D. Weishaupt, V. D. Köchli und B. Marincek, *Wie funktioniert MRI?, Eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanztomographie*, 7 Hrsg., Berlin, Heidelberg: Springer, 2014.
- [23] A. Hendrix und J. Krempe, *Magnete, Spins und Resonanzen: Eine Einführung in die Grundlagen der Magnetresonanztomographie*, Erlangen: Siemens AG Medical Solutions, 2003.
- [24] M. Gaeta, K. Galletta, M. Cavallaro, E. Mormina, M. T. Cannizzaro, L. R. M. Lanzafame, T. D'Angelo, A. Blandino, S. L. Vinci und F. Granata, „T1 relaxation: Chemo-physical fundamentals of magnetic resonance imaging and clinical applications,“ *Insights Imaging*, Bd. 15, p. 200, 2024.
- [25] W. D. Rooney, G. Johnson, X. Li, E. R. Cohen, S.-G. Kim, K. Ugurbil und C. S. Jr, „Magnetic field and tissue dependencies of human brain longitudinal 1H₂O relaxation in vivo,“ *Magn Reson Med*, Bd. 57, Nr. 2, pp. 308-318, 2007.
- [26] Bruker BioSpin MRI GmbH (Hrsg.), *ParaVision 6.0.1, Operating Manual. Version 001*, Rudolf Plank-Str. 23, 76275 Ettlingen, Deutschland: Bruker BioSpin MRI GmbH, 2015.

- [27] A. D. Elster, „What is Fast (Turbo) Spin Echo imaging?“, [Online]. Available: <https://mriquestions.com/what-is-fsetse.html>. [Zugriff am 22 10 2024].
- [28] A. Jackson, D. L. Buckley und G. J. M. Parker, *Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Oncology*, Springer, 2005.
- [29] G. J. Parker und A. R. Padhani, „Quantitative MRI of the Brain: Measuring Changes Caused by Disease,“ in *T1-W DCE-MRI: T1-Weighted Dynamic Contrast-Enhanced MRI*, UK, Wiley, 2003, pp. 341-364.
- [30] A. Conti, H. A. S. Kamimura, A. Novell, A. Duggento und N. Toschi, „Magnetic Resonance Methods for Focused Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening,“ *Frontiers in Physics*, Bd. 8, 2020.
- [31] A. Conti, H. A. S. Kamimura, A. Novell, A. Duggento und N. Toschi, „Magnetic Resonance Methods for Focused Ultrasound-Induced Blood-Brain Barrier Opening,“ *frontiers*, Bd. 8, p. 547674, 2020.
- [32] I. M. Noebauer-Humann, P. Szomolanyi, V. Juras, O. Kraff, M. E. Ladd und S. Trattnig, „Gadolinium-based magnetic resonance contrast agents at 7 Tesla: in vitro T1 relaxivities in human blood plasma,“ *Invest Radiology*, Bd. 45, Nr. 9, pp. 554-558, 2010.
- [33] A. D. Elster, „DCE Parameters: What quantitative parameters can be extracted from the DCE data?,“ [Online]. Available: <https://mriquestions.com/dce-tissue-parameters.html>. [Zugriff am 23 10 2024].
- [34] A. Murphy, „Contrast phases,“ 10 03 2023. [Online]. Available: <https://radiopaedia.org/articles/contrast-phases?lang=us>. [Zugriff am 03 10 2024].
- [35] P. S. Tofts, G. Brix, D. L. Buckley, J. L. Evelhoch, E. Henderson, M. V. Knopp, H. B. Larsson, T. Y. Lee, N. A. Mayr, G. J. Parker, R. E. Port, J. Taylor und R. M. Weisskoff, „Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI of a diffusable tracer: standardized quantities and symbols,“ *J Magn Reson Imaging*, Bd. 10, Nr. 3, pp. 223-32, 1999.
- [36] S. P. Sourbron und D. L. Buckley, „On the scope and interpretation of the Tofts models for DCE-MRI,“ *Wiley Online Library*, Bd. 66, Nr. 3, pp. 735-745, 2011.
- [37] P. S. Tofts und A. G. Kernmode, „Measurement of the blood-brain barrier permeability and leakage space using dynamic MR imaging. 1. Fundamental concepts,“ *Magn Reson Med.*, Bd. 17, Nr. 2, pp. 357-67, 1991.
- [38] „PMOD Base Functionality Introduction: MRI Signal to Concentration,“ PMOD Technologies LLC, [Online]. Available: https://doc.pmod.com/pbas/pbas.html?pbas_external_pmmrsignal2concentration.html. [Zugriff am 24 10 2024].
- [39] D. M. McGrath, D. P. Bradley, J. L. Tessier, T. Lacey, C. J. Taylor und G. J. M. Parker, „Comparison of model-based arterial input functions for dynamic contrast-enhanced MRI in tumor bearing rats,“ *Magn Reson Med.*, Bd. 61, Nr. 5, pp. 1173-84, 2009.

- [40] D. Balvay, Y. Ponvianne, M. Claudon und C. A. Cuenod, „Arterial input function: Relevance of eleven analytical models in DCE-MRI studies,“ *IEEE Xplore*, pp. 600-603, 2008.
- [41] B. Lanz, A. Abaei, O. Braissant, I.-Y. Choi, C. Cudalbu, P.-G. Henry, R. Gruetter, F. Kara, K. Kantarci, P. Lee, N. W. Lutz, M. Marjańska, V. Mlynárik und V. Rasche, „Magnetic resonance spectroscopy in the rodent brain: Experts' consensus recommendations,“ *NMR Biomed.*, 2020.
- [42] J. Valk und M. S. d. Knaap, „Magnetic Resonance Spectroscopy, Basic Principles, and Application in Myelin Disorders,“ in *Magnetic Resonance of Myelin, Myelination, and Myelin Disorders.*, Berlin, Heidelberg, Springer, 1989.
- [43] M. Bulik, R. Jancalek, J. Vanicek, A. Skoch und M. Mechl, „Potential of MR spectroscopy for assessment of glioma grading,“ *Clinical Neurology and Neurosurgery*, Bd. 115, Nr. 2, pp. 146-153, 2013.
- [44] L. Schröder und P. Bachert, „Magnetresonanzspektroskopie,“ *Die Radiologie*, Bd. 43, Nr. 12, pp. 1113-1128, 2003.
- [45] A. D. Elster, „Single vs Multi-Voxel: How do you choose between a single and multi-voxel technique?,“ ELSTER LLC, [Online]. Available: <https://mriquestions.com/single-v-multi-voxel.html>. [Zugriff am 24 10 2024].
- [46] J. M. Tognarelli, M. Dawood, M. I. Shariff, Grover, V. PB, M. M. Crossey, I. J. Cox, S. D. Taylor-Robinson und M. J. McPhail, „Magnetic Resonance Spectroscopy: Principles and Techniques: Lessons for Clinicians,“ *J Clin Exp Hepatol*, Bd. 5, Nr. 4, pp. 320-8, 2015.
- [47] J. M. Tognarelli, M. Dawood, M. I. Shariff, V. P. Grover, M. M. Crossey, I. J. Cox, S. D. Taylor-Robinson und M. J. McPhail, „Magnetic Resonance Spectroscopy: Principles and Techniques: Lessons for Clinicians,“ *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, Bd. 5, Nr. 4, pp. 320-328, 2015.
- [48] M. v. d. Graaf, „In vivo magnetic resonance spectroscopy: basic methodology and clinical applications,“ *Eur Biophys J.*, Bd. 39, Nr. 4, pp. 527-40, 2010.
- [49] T. Salzillo, J. Hu, L. Nguyen, N. Whiting, J. Lee, J. Weygand, P. Dutta, S. Pudakalakatti, N. Z. Millward, S. Gammon, F. Lang, A. Heimberger und P. Bhattacharya, „Interrogating Metabolism in Brain Cancer,“ *Magn Reson Imaging Clin N*, Bd. 24, Nr. 4, pp. 687-703, 2016.
- [50] M. G. S. Consortium, R. H. Waterston, K. Lindblad-Toh, E. Birney, J. Rogers, J. F. Abril, P. Agarwal und e. alian, „Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome,“ *Nature*, Bd. 420, Nr. 6915, pp. 520-62, 2002.
- [51] K. Dettmar, „Vergleichende Etablierung und Charakterisierung eines orthotopen Kolonkarzinom-Xenograft-Modells,“ 2003. [Online]. Available: <https://edoc.ub.uni-muenchen.de/1046/>. [Zugriff am 24 10 2024].
- [52] StudySmarter, „Diagnostic Medical Image Processing - Exam,“ StudySmarter GmbH, 2024. [Online]. Available: <https://www.studysmarter.de/universitaeten/universitaet->

erlangen-nurnberg/informatik-master-of-science/diagnostic-medical-image-processing/diagnostic-medical-image-processing-exam/. [Zugriff am 26 10 2024].

- [53] M. McCormick, „DICOM Rescale Intercept / Rescale Slope and ITK,“ 6 10 2014. [Online]. Available: <https://www.kitware.com/dicom-rescale-intercept-rescale-slope-and-itk/>. [Zugriff am 26 10 2024].
- [54] L. Shi, D. Wang, W. Liu, K. Fang, Yi-Xiang, J. Wang, W. Huang und A. T. Ahuja, „Automatic Detection of Arterial Input Function in Dynamic Contrast Enhanced MRI Based on Affinity Propagation Clustering,“ *J. Magn. Reson. Imaging*, Bd. 39, p. 1327–1337, 2014.
- [55] N. Arias-Ramos, C. Vieira, R. Pérez-Carro und P. López-Larrubia, „Integrative Magnetic Resonance Imaging and Metabolomic Characterization of a Glioblastoma Rat Model,“ *Brain Sci.*, Bd. 14, Nr. 5, p. 409, 2024.
- [56] M. Inglese, K. L. Ordidge, L. Honeyfield, T. D. Barwick, E. O. Aboagye, A. D. Waldman und M. Grech-Sollars, „Reliability of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging data in primary brain tumours: a comparison of Tofts and shutter speed models,“ *Neuroradiology*, Bd. 61, Nr. 12, pp. 1375-1386, 2019.
- [57] Y. Hu, Y. Chen, J. Wang, J. J. Kang, D. D. Shen und Z. Z. Jia, „Non-Invasive Estimation of Glioma IDH1 Mutation and VEGF Expression by Histogram Analysis of Dynamic Contrast-Enhanced MRI,“ *Front Oncol.*, Bd. 10, p. 593102, 2020.
- [58] H. T. Lu, W. Xing, Y. W. Zhang, H. P. Qin, R. H. Wu und J. L. Ding, „The value of DCE-MRI in predicting IDH gene mutation of high-grade gliomas,“ *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, Bd. 99, Nr. 39, pp. 3105-3109, 2019.
- [59] A. Hilario, A. Hernandez-Lain, J. M. Sepulveda, A. Lagares, A. Perez-Nuñez und A. Ramos, „Perfusion MRI grading diffuse gliomas: Impact of permeability parameters on molecular biomarkers and survival,“ *Neurocirugía*, Bd. 30, Nr. 1, pp. 11-18, 2019.
- [60] A. D. Elster, „DCE Parameters to Images: How do calculated DCE parameters relate to patterns of enhancement we see on clinical images?,“ ELSTER LLC, 2024. [Online]. Available: <https://mriquestions.com/parameters-to-images.html>. [Zugriff am 28 10 2024].
- [61] T. A. M. Egeland, Jon-Vidar Gaustad, K. Galappathi und E. K. Rofstad, „Magnetic resonance imaging of tumor necrosis,“ *Acta Oncol*, Bd. 50, Nr. 3, pp. 427-34, 2011.
- [62] S. Bhaduri, C. Lesbats, J. Sharkey, C. L. Kelly, S. Mukherjee, A. Taylor, E. J. Delikatny, S. G. Kim und H. Poptani, „Assessing Tumour Haemodynamic Heterogeneity and Response to Choline Kinase Inhibition Using Clustered Dynamic Contrast Enhanced MRI Parameters in Rodent Models of Glioblastoma,“ *Cancers (Basel)*, Bd. 14, Nr. 5, p. 1223, 2022.
- [63] H. Nakamura, M. Doi, T. Suzuki, Y. Yoshida, M. Hoshikawa, M. Uchida, Y. Tanaka, M. Takagi und Y. Nakajima, „The Significance of Lactate and Lipid Peaks for Predicting Primary Neuroepithelial Tumor Grade with Proton MR Spectroscopy,“ *Magn Reson Med Sci.*, Bd. 17, Nr. 3, p. 238–243, 2017.

- [64] E. J. Delikatny, S. Chawla, D.-J. Leung und H. Poptani, „MR-Visible Lipids and the Tumor Microenvironment,“ *NMR Biomed.*, Bd. 24, Nr. 6, p. 592–611, 2011.
- [65] F. Howe, S. Barton, S. Cudlip, M. Stubbs, D. Saunders, M. Murphy, P. Wilkins, K. Opstad, V. Doyle, M. McLean, B. Bell und J. Griffiths, „Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy,“ *Magnetic Resonance in Medicine*, Bd. 49, Nr. 2, pp. 223-232, 2003.
- [66] A. Horská und P. B. Barker, „Imaging of Brain Tumors: MR Spectroscopy and Metabolic Imaging,“ *Neuroimaging Clin N Am*, Bd. 20, Nr. 3, p. 293–310, 2010.
- [67] M. Toyooka, H. Kimura, H. Uematsu, Y. Kawamura, H. Takeuchi und H. Itoh, „Tissue characterization of glioma by proton magnetic resonance spectroscopy and perfusion-weighted magnetic resonance imaging: glioma grading and histological correlation,“ *Clin Imaging*, Bd. 32, Nr. 4, pp. 251-8, 2008.
- [68] S. Y. Meng Law 1, H. Wang, J. S. Babb, G. Johnson, S. Cha, E. A. Knopp und D. Zagzag, „Glioma grading: sensitivity, specificity, and predictive values of perfusion MR imaging and proton MR spectroscopic imaging compared with conventional MR imaging,“ *AJNR Am J Neuroradiol*, Bd. 24, Nr. 10, pp. 1989-98, 2003.
- [69] J. Urenjak, S. R. Williams, D. G. Gadian und M. Noble, „Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy unambiguously identifies different neural cell types,“ *J Neurosci*, Bd. 13, Nr. 3, pp. 981-9, 1993.
- [70] T. Isobe, A. Matsumura, I. Anno, T. Yoshizawa, Y. Nagatomo, Y. Itai und T. Nose, „Quantification of cerebral metabolites in glioma patients with proton MR spectroscopy using T2 relaxation time correction,“ *Magn Reson Imaging*, Bd. 20, Nr. 4, pp. 343-9, 2002.
- [71] I. Aprile, M. Muti, C. Torni und P. Fiaschini, „High-Grade Cerebral Glioma Characterization: Usefulness of MR Spectroscopy and Perfusion Imaging Associated Evaluation,“ *The Neuroradiology Journal*, Bd. 25, Nr. 1, pp. 57-66, 2012.
- [72] H. Shimizu, T. Kumabe, R. Shirane und T. Yoshimoto, „Correlation between choline level measured by proton MR spectroscopy and Ki-67 labeling index in gliomas,“ *AJNR Am J Neuroradiol*, Bd. 21, Nr. 4, pp. 659-65, 2000.
- [73] A. Verma, I. Kumar, N. Verma, P. Aggarwal und R. Ojha, „Magnetic resonance spectroscopy - Revisiting the biochemical and molecular milieu of brain tumors,“ *BBA Clin*, Bd. 12, Nr. 5, pp. 170-8, 2016.

A Anhang

A.1 MATLAB-Skript zur Berechnung der T2-Map

```
% 9,5 min calculation time for a 256 x 256 pixel T2 map from 10 echo images
% Input Parameters
% animal number
animalnumb = 'A3';
% path
path = 'D:\Matlab\Projekte\GBM HZL Rat
20210630\HZL_Rat_Brain_Tumor_June2021_HZL_21A3_29d_2021063__E4_P1';
% echo images of one slice to analyse
nFramesStart = 101; % first echo image of one slice
nFramesOfOneSlice = 10; % number of echo images of one slice

% calculated parameters
nFramesEnd = nFramesStart + nFramesOfOneSlice - 1; % last echo image of the same slice
% filename of the first file
OOstr = sprintf('%03d', nFramesStart);
startfile = [path '\MRIm' OOstr];
% size of calculated T2 map
ROIcolsStart = 1;
ROIcolsEnd = 256;
ROIrowsStart = 1;
ROIrowsEnd = 256;

% Accessing image resolution from DICOM start file
info = dicominfo(startfile);
nRows = info.Rows;
nCols = info.Columns;
date = info.StudyDate;

% Calculate number of different TE values per slice
TEnumb = 1 + nFramesEnd - nFramesStart;

% Clear all matrices and figures of the previous slice
clear U I T2 B;
close all;

% Create 3D matrix to read in all intensities of a one slice image stack
I = zeros(nRows, nCols, TEnumb);

% Create I-corresponding help-matrix to get rid of exceeding dimensions
U = zeros(nRows, nCols, TEnumb);

% Create matrix to save TE values
TE = zeros(TEnumb,1);

% Read intensities of one slice image stack into 3D matrices I and U respectively
for p = nFramesStart:nFramesEnd
    Iistr = sprintf('%03d', p);
    filename = [path '\MRIm' Iistr];
    U(:, :, p) = dicomread(filename);
    h = p - nFramesStart + 1; % to count z-levels of 3D matrix from 1 to 10
    I(:, :, h) = U(:, :, p);
end
```

```

    % extract TE value of each image
    info = dicominfo(filename);
    TE(h,1) = info.EchoTime;
end

% Create 2D matrix for the calculated T2 times
T2 = zeros(nRows, nCols);

% Create 2D matrix to read in intensities along the z-axis of I for one
% fixed r,c-position in I (position changes in each iteration step)
S = zeros(TEnumb,1);

% Iterate through each pixel in the ROI to calculate the T2 value
for r = ROIrowsStart:ROIrowsEnd
    for c = ROIcolsStart:ROIcolsEnd
        % Collect all intensities in position (r,c) along the z-axis of I (different TE
        values)
        for dim = 1:h
            S(dim,1) = I(r,c,dim);
        end

        % Exponential one-term fit function to extract T2 time
        modelfun = @(b,x) b(1) .* exp(-x ./ b(2));
        SSECF = @(b) sum((S - modelfun(b, TE)).^2);
        options = optimset('MaxFunEvals',10000000, 'MaxIter', 10000000);

        % Finding parameters S0 and T2 of the fit function
        B = fminsearch(SSECF, [1; 1], options);

        % Extracting T2 time from best fit function
        T2(r,c) = B(2);
    end
end

% Plotting T2 times as a color-scaled map
figure;
colormap('jet');
clims = [0 100]; % set color limits
imagesc(T2, clims); % image with scaled colors
c = colorbar;
c.Label.String = 'T2 [ms]'; % add label to colorbar
xlabel('pixel');
ylabel('pixel');
title(['T2 map - animal - ' num2str(animallnumb) '- slice ' num2str(nFramesEnd/10)]);
grid minor;

% Create a polygon ROI for the tumor
disp('select a region for the tumor ROI');
h_tumor = drawpolygon('color', 'r');
wait(h_tumor);

% Create a mask for the tumor ROI
roiMask_tumor = createMask(h_tumor);
roiData_tumor = T2(roiMask_tumor);

% Calculate and display the mean value of the T2 within the tumor ROI
meanValue_tumor = mean(roiData_tumor(:));
disp(['Mean T2 value within the selected tumor region: ', num2str(meanValue_tumor)]);

```

```

% Create a polygon ROI for the healthy tissue
disp('select a region for the healthy tissue ROI');
h_healthy = drawpolygon('color', 'b');
wait(h_healthy);

% Create a mask for the healthy tissue ROI
roiMask_healthy = createMask(h_healthy);
roiData_healthy = T2(roiMask_healthy);

% Calculate and display the mean value of the T2 within the healthy tissue ROI
meanValue_healthy = mean(roiData_healthy(:));
disp(['Mean T2 value within the selected healthy tissue region: ',
num2str(meanValue_healthy)]);

```

A.2 Mittelwert der T2-Werte für den Tumor und das gesunde Gewebe bei Versuchstieren

Tiere	Schicht	Tumor	gesundes Gewebe
21A1	8	71.71	53.11
	9	79.42	49.67
	10	82.67	50.68
	11	74.89	53.83
	12	76.32	53.92
	13	83.05	54.77
	14	78.17	55.67
	15	75.45	56.93
	16	74.98	56.87
	17	69.45	56.88
	18	77.44	55.97
	Mittelwert	76.69	54.39
21A3	12	66.48	52.76
	13	64.51	52.65
	14	61.96	53.64
	Mittelwert	64.32	53.01

Tabelle 0.1: Der mittlere T2-Wert jedes Versuchstiers für gesundes Gewebe und Tumorgewebe in Sekunden wurde aus den T2-Werten der einzelnen Schichten berechnet.

A.3 MATLAB-Skript zur Berechnung der spezifischen Relaxivität r_1 des Kontrastmittels

```

clear all;
close all;

% Specify the path to the CSV file
filename = 'D:\Matlab\Projekte\Phantom\Phantom2\Phantom2.csv';

% Read the CSV file into a table
data = readtable(filename);

% Extract SI values for each concentration
SI_0mM = data.Mean1; % Mean1 for 0 mM
SI_0.25mM = data.Mean2; % Mean2 for 0.25 mM
SI_0.5mM = data.Mean3; % Mean3 for 0.5 mM
SI_0.75mM = data.Mean4; % Mean4 for 0.75 mM
SI_1mM = data.Mean5; % Mean5 for 1 mM

% Combine them into a cell array
SI = {SI_0mM, SI_0.25mM, SI_0.5mM, SI_0.75mM, SI_1mM};

% Model function, where x is TR and a and b are the parameters to fit
fitModel = fittype('a * (1 - exp(-x / b))', 'independent', 'x', 'coefficients', {'a', 'b'});
initialGuess = [100, 1000]; % Initial guess for the parameters [SI0, T1]
fitOptions = fitoptions('Method', 'NonlinearLeastSquares', 'StartPoint', initialGuess);

% Markers for each concentration
markers = {'+', 'o', '^', 's', '*'};

% Colors for the plots
colors = lines(5);

% Create a figure for the plots
figure;
hold on;

% Initialize an array to store T1 values for each concentration
T1_values = zeros(length(SI), 1);
TR = [5500, 3000, 1500, 800, 400, 200];

% Plotting data and fitting curves
for i = 1:length(SI)
    currentSI = SI{i}(:);

    % Fit the model to the data using non-linear curve fitting
    [fitResult, gof] = fit(TR(:), currentSI, fitModel, fitOptions);

    % Store the T1 value
    T1_values(i) = fitResult.b;

    % Generate fitted SI values for a smooth curve
    TR_fit = linspace(min(TR), max(TR), 1000);
    SI_fit = fitResult.a * (1 - exp(-TR_fit ./ fitResult.b));

    % Plot original data points
    plot(TR, currentSI, markers{i}, 'Color', colors(i,:), 'MarkerSize', 8, 'Linewidth', 1.5,
'DisplayName', sprintf('c = %.2f mM Data', (i-1)*0.25));

    % Plot fitting curve

```

```

    plot(TR_fit, SI_fit, '-', 'Color', colors(i,:), 'Linewidth', 2, 'HandleVisibility','off');
end

xlabel('Repetitionszeit (TR) [ms]');
ylabel('Signalintensität (a.u)');
legend('show', 'Location', 'best');
grid on;
hold off;

% Display T1 values for each concentration
disp('T1 values for each concentration (ms):');
for i = 1:length(T1_values)
    fprintf('Concentration %.2f mM: T1 = %.2f ms\n', (i-1)*0.25, T1_values(i));
end

% Define the concentrations in mmol/L
concentrations = [0.00, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00];

% Convert T1 values to seconds for the calculation of R1
T1_values_s = T1_values / 1000;

% Calculate the relaxation rate R1 = 1/T1
R1 = 1 ./ T1_values_s;

% Perform linear regression to find the slope (r1)
coefficients = polyfit(concentrations, R1, 1);
slope = coefficients(1); % Relaxivity (r1)

% Plot R1 vs. concentration
figure;
plot(concentrations, R1, 'o', 'MarkerSize', 8, 'Color', 'r', 'Linewidth', 2);
xlabel('Gd-Konzentration [mM]');
ylabel('Relaxationsrate R1 [1/s]');

% Overlay the linear fit
hold on;
fit_x = linspace(min(concentrations), max(concentrations), 100);
fit_y = polyval(coefficients, fit_x);
plot(fit_x, fit_y, 'b-', 'Linewidth', 2);
legend('gemessene Daten', 'Anpassungskurve', 'Location', 'best');
grid on;
hold off;
saveas(gcf, 'R1_C_Kurve.png');

% Display the relaxivity (r1)
fprintf('The relaxivity (r1) of Gadovist is: %.2f [1/(mM*s)]\n', slope);

```

A.4 Die Ergebnisse aus dem MATLAB-Skript A.3

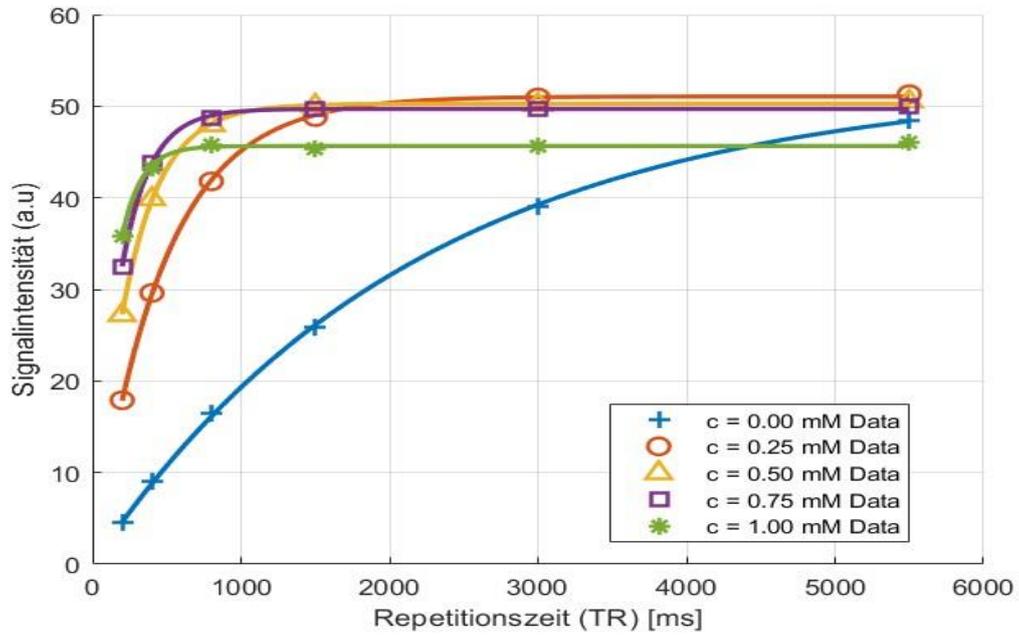


Abbildung 0.1: Beispielhafte Kurvenanpassung der Signalintensitäten für unterschiedliche Konzentrationen mithilfe der Methode der nichtlinearen kleinsten Quadrate

Konzentration [mM]	0	0,25	0,5	0,75	1
T_1 [ms]	2201,88	465,03	255,14	188,2	131,01

Tabelle 0.2: beispielhafte T_1 -Werten für unterschiedliche Konzentrationen

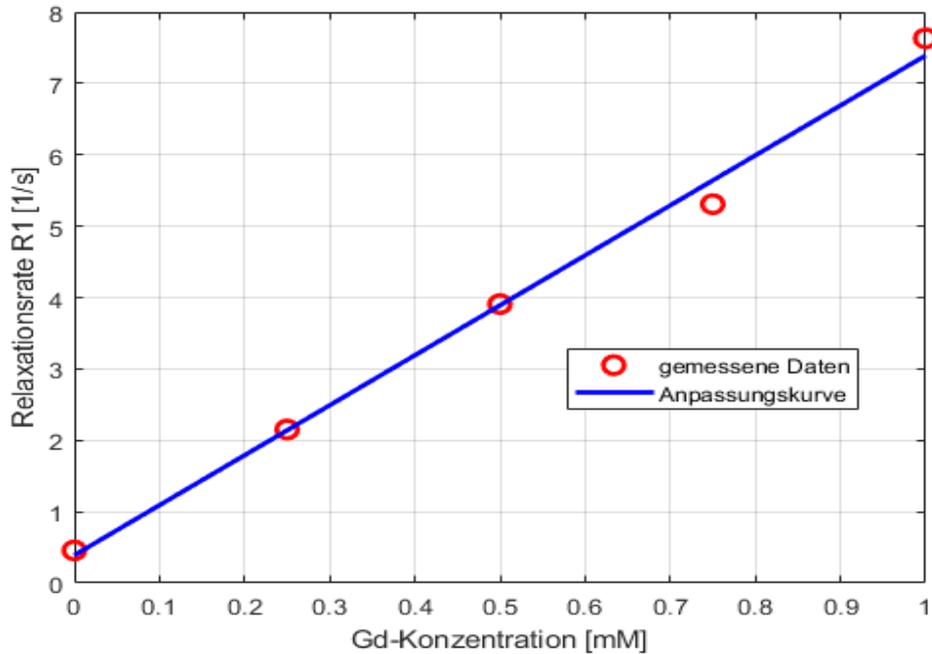


Abbildung 0.2: Beispielhafte grafische Darstellung der linearen Regression zwischen Relaxationsrate R_1 und der Gd-Konzentration

Messung	Relaxivität r_1 [$\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$]
1	8.15
2	7.01
3	6.74
Mittelwert	7.3

Tabelle 0.3: die berechneten r_1 -Werte aus drei Messungen für Gadovist®

A.5 MATLAB-Skript zum Sortieren von DCE-Bildern nach Schichten

```
clear all
close all

%animal number
animalnum='21A3';

% Define folder path
folderE7 = 'D:\Matlab\Projekte\GBM HZL Rat
20210630\HZL_Rat_Brain_Tumor_June2021_HZL_21A3_29d_2021063__E7_P1';
folderE8 = 'D:\Matlab\Projekte\GBM HZL Rat
20210630\HZL_Rat_Brain_Tumor_June2021_HZL_21A3_29d_2021063__E8_P1';
folderE9 = 'D:\Matlab\Projekte\GBM HZL Rat
20210630\HZL_Rat_Brain_Tumor_June2021_HZL_21A3_29d_2021063__E9_P1';

%List all files from folder
filesE7 = dir(fullfile(folderE7, '*.dcm'));
```

```

filesE8 = dir(fullfile(folderE8, '*.dcm'));
filesE9 = dir(fullfile(folderE9, '*.dcm'));

%Extract files for each slice
slice1Files = [filesE7(1:4:end); filesE8(1:4:end); filesE9(1:4:end)]; %List of files
associated with Slice 1
slice2Files = [ filesE7(2:4:end); filesE8(2:4:end); filesE9(2:4:end)]; %List of files
associated with Slice 2
slice3Files = [ filesE7(3:4:end); filesE8(3:4:end); filesE9(3:4:end)]; %List of files
associated with Slice 3
slice4Files = [ filesE7(4:4:end); filesE8(4:4:end); filesE9(4:4:end)]; %List of files
associated with Slice 4

% Directory to save slices
saveDirBase = 'D:\Matlab\Projekte\21A1_bis_21A7\21A3\Slices';

% For each slice, create a folder and save files
slices = {slice1Files, slice2Files, slice3Files, slice4Files};
fileCounter = 1;
for i = 1:length(slices)
    saveDir = fullfile(saveDirBase, ['Slice' num2str(i)]);
    if ~exist(saveDir, 'dir')
        mkdir(saveDir);
    end

    for j = 1:length(slices{i})
        dcmImage = dicomread(fullfile(slices{i}(j).folder, slices{i}(j).name));
        dcmInfo = dicominfo(fullfile(slices{i}(j).folder, slices{i}(j).name));
        newFileName = sprintf('MRIm%03d.dcm', fileCounter);
        fileCounter = fileCounter + 1;
        saveFileName = fullfile(saveDir, newFileName);
        dicomwrite(dcmImage, saveFileName, dcmInfo, 'CreateMode', 'Copy');
    end
end
end

```

A.6 MATLAB-Skript zur Glättung der DCE-Bilddatensätze mit dem Gauß-Filter

```

% Define the input directory path where DICOM images are stored
inputDir = 'D:\Matlab\Projekte\21A1_bis_21A7\21A4\Slices\Slice4';

% Define the output directory path where the smoothed images will be saved
outputDir = 'D:\Matlab\Projekte\21A1_bis_21A7\21A4\smoothed slices\Slice4';

if ~exist(outputDir, 'dir')
    mkdir(outputDir);
end
dicomFiles = dir(fullfile(inputDir, '*.dcm'));
sigma = 1;

% Loop over each DICOM file
for k = 1:length(dicomFiles)
    dicomFilePath = fullfile(inputDir, dicomFiles(k).name);
    img = dicomread(dicomFilePath);
    info = dicominfo(dicomFilePath);
    smoothed_img = imgaussfilt(img, sigma);
    outputFile = fullfile(outputDir, dicomFiles(k).name);

```

```

dicomwrite(smoothed_img, outputFile, info, 'CreateMode', 'Copy');
fprintf('Processed %d of %d: %s\n', k, length(dicomFiles), dicomFiles(k).name);
end
fprintf('All images have been smoothed and saved to %s.\n', outputDir);

```

A.7 MATLAB-Skript zur Erstellung der DCE-Signalintensitätskurve

```

clear all;
close all;

folderPath = 'D:\Matlab\Projekte\21A1_bis_21A7\21A7\smoothed_slices\slice1';
% Get all DICOM files in the folder
dcmFiles = dir(fullfile(folderPath, '*.dcm'));
numImages = numel(dcmFiles);
if numImages == 0
    error('No DICOM files found in the selected folder.');
```

```

end

% Sort files by name (just in case they are not in order)
[~, fileIdx] = sort({dcmFiles.name});
dcmFiles = dcmFiles(fileIdx);

% Loop through the DICOM files and read each image
for i = 1:numImages
    fileName = fullfile(folderPath, dcmFiles(i).name);
    image = dicomread(fileName);
    info = dicominfo(fileName);
    if i == 1
        [rows, cols] = size(image);
        allImages = zeros(rows, cols, numImages);
    end

    rescaleSlope = info.RescaleSlope;
    rescaleIntercept = info.RescaleIntercept;
    image = double(image) * rescaleSlope + rescaleIntercept;

    allImages(:, :, i) = image;
end

% Initialize arrays to store signal intensities
signalBackground = zeros(1, numImages);
signalTumor = zeros(1, numImages);
signalHealthy = zeros(1, numImages);

% Define colors for each pixel type
colorTumor = 'r'; % Red for tumor
colorHealthy = 'g'; % Green for healthy tissue
colorBackground = 'b'; % Blue for background

% Display the selected image and wait for the user to click on a pixel
ImagePath = fullfile(folderPath, dcmFiles(24).name);
Image = dicomread(ImagePath);
hFig = figure;
imshow(Image, []);

```

```

title('Select a pixel');

% Define marker size for points on the image
markerSize = 20;

% Convert timePoints from seconds to minutes
timeInterval = 3.1; % Time interval in seconds
timePoints = (0:(numImages-1)) * timeInterval;
timePoints_min = timePoints / 60;

% User selects three pixels and plots them with the defined colors
for k = 1:3
    [x, y] = ginput(1);
    x = round(x);
    y = round(y);

    if k == 1
        plotColor = colorTumor;
    elseif k == 2
        plotColor = colorHealthy;
    else
        plotColor = colorBackground;
    end

    % Plot and hold the points on the image
    hold on;
    plot(x, y, [plotColor '.'], 'MarkerSize', markerSize);

    % Extract the signal intensities for the selected pixel
    for t = 1:numImages
        if k == 1
            signalTumor(t) = allImages(y, x, t);
        elseif k == 2
            signalHealthy(t) = allImages(y, x, t);
        else
            signalBackground(t) = allImages(y, x, t);
        end
    end
end

% Save the image with the selected pixels
saveas(hFig, 'Selected_Pixels_Image.png');

% Define marker size for points on the plot
markerSizePlot = 16;

% Plot the pixel intensity points
hPlotFig = figure;
plot(timePoints_min, signalTumor, [colorTumor '.'], 'DisplayName', 'Hirntumor', 'MarkerSize',
markerSizePlot);
hold on;
plot(timePoints_min, signalHealthy, [colorHealthy '.'], 'DisplayName', 'gesundes Hirngewebe',
'MarkerSize', markerSizePlot);
plot(timePoints_min, signalBackground, [colorBackground '.'], 'DisplayName', 'Hintergrund',
'MarkerSize', markerSizePlot);
hold off;
xlabel('Zeit [min]');
ylabel('Signalintensität');

```

```

Legend('Location', 'southoutside', 'Orientation', 'horizontal');
set(hPlotFig, 'Position', [100, 100, 700, 500]);

% Save the plot of the pixel intensity curves
saveas(hPlotFig, 'Pixel_Intensity_Time_Curves.png');

```

A.8 MATLAB-Skript zur Berechnung der AIF

```

clear all;
close all;

% Set the folder path to the slice folder
folderPath = 'D:\Matlab\Projekte\21A1_bis_21A7\21A3\smoothed_slices\slice3';

% Get all DICOM files in the folder
dcmFiles = dir(fullfile(folderPath, '*.dcm'));
numImages = numel(dcmFiles);

if numImages == 0
    error('No DICOM files found in the selected folder.');
```

end

```

% Sort files by name (just in case they are not in order)
[~, fileIdx] = sort({dcmFiles.name});
dcmFiles = dcmFiles(fileIdx);

% Choose the image to let the user select the ROI
firstImagePath = fullfile(folderPath, dcmFiles(24).name);
Image = dicomread(firstImagePath);
hFig = figure;
imshow(Image, []);
title('Select a Region of Interest (ROI)');
zoom on;
pause;
h = drawrectangle;
wait(h);
zoom off;

% Get the coordinates of the selected ROI
position = h.Position;
x1 = round(position(1));
y1 = round(position(2));
width = round(position(3));
height = round(position(4));
x2 = x1 + width - 1;
y2 = y1 + height - 1;

% Using fixed T10 for all pixels within blood plasma
T10_ROI = 2300 / 1000;
R10_ROI = 1 ./ T10_ROI; % [s^-1]

% Initialize matrices to hold signal intensities and concentration values
S_all = zeros(height, width, numImages);
C_b_all = zeros(height, width, numImages);
C_p_all = zeros(height, width, numImages);

```

```

% Loop through all DICOM files to get the signal intensity
for i = 1:numImages
    % Read each DICOM image
    filePath = fullfile(folderPath, dcmFiles(i).name);
    img = dicomread(filePath);
    info = dicominfo(filePath);

    % Extract DICOM metadata
    TR_DCE = info.RepetitionTime * 1e-3;
    alpha_DCE = deg2rad(info.FlipAngle);
    rescaleSlope = info.RescaleSlope;
    rescaleIntercept = info.RescaleIntercept;

    % Extract pixel values for the ROI
    raw_pixel_value = double(img(y1:y2, x1:x2));
    S_all(:, :, i) = raw_pixel_value * rescaleSlope + rescaleIntercept;
end

% Calculate average S0 from pre-contrast images only
numPreContrastImages = 12; % Number of pre-contrast images
avg_S0 = mean(S_all(:, :, 1:numPreContrastImages), 3);

% Calculate concentration for all images
r1 = 7.3; % Relaxivity [1/(mM*s)]
Hct = 0.44; % Hematocrit value

% Calculate M0 for each pixel in the ROI
M0 = avg_S0 .* (1 - cos(alpha_DCE) .* exp(-TR_DCE ./ T10_ROI)) ./ (sin(alpha_DCE) .* (1 - exp(-TR_DCE ./ T10_ROI)));
for t = 13:numImages
    A = (S_all(:, :, t) - avg_S0) ./ (M0 .* sin(alpha_DCE));
    B = (1 - exp(-TR_DCE ./ T10_ROI)) ./ ...
        (1 - (exp(-TR_DCE ./ T10_ROI) .* cos(alpha_DCE)));
    R1_t = -(1/TR_DCE) * log((1 - A - B) ./ (1 - (A + B) * cos(alpha_DCE))); % [s]
    T1_t = 1 ./ R1_t;
    C_b_all(:, :, t) = (R1_t - R10_ROI) / r1; % [mM]
    C_p_all(:, :, t) = C_b_all(:, :, t) / (1 - Hct);
end

% Convert timePoints from seconds to minutes
timeInterval = 3.1; % Time interval in seconds
timePoints = (0:(numImages-1)) * timeInterval;
timePoints_min = timePoints / 60;

% Plot C_p(t) over time for each pixel in the ROI and fit the hybrid model
hPlotFig = figure;
sgtitle('Hybrid model');
initialParams = [0.1, 1, 0.1, 0.1, 0.01, 0.62]; % Initial parameter guesses
options = optimset('Display', 'off', 'TolFun', 1e-8, 'TolX', 1e-8);

for i = 1:height
    for j = 1:width
        Cp_pixel = squeeze(C_p_all(i, j, :));
        % Define the objective function for fitting
        objectiveFunction = @(params) sum((Cp_pixel - hybridFunction(params, timePoints_min)).^2);
    end
end

```

```

    % Perform the non-linear fitting
    [bestParams, resnorm] = fminsearch(objectiveFunction, initialParams, options);

    % Calculate the fitted AIF using the best parameters
    Cp_fit = hybridFunction(bestParams, timePoints_min);

    % Plot the fitted AIF against the measured C_p(t) for each pixel
    subplot(height, width, (i-1)*width + j);
    plot(timePoints_min, Cp_pixel, 'b-', 'DisplayName', 'Measured C_p(t)');
    hold on;
    plot(timePoints_min, Cp_fit, 'r-', 'DisplayName', 'Fitted AIF');
    xlabel('Time (minutes)');
    ylabel('C_p(t) (mM)');
    title(sprintf('Pixel (%d, %d)', y1 + i - 1, x1 + j - 1));
    hold off;
end
end

% Hybrid function
function Cp_fit = hybridFunction(params, t)
    A = params(1);
    b = params(2);
    c1 = params(3);
    d = params(4);
    c2 = params(5);
    t0 = params(6);

    % Hybrid function
    Cp_fit = A * ((t - t0).^b) .* (exp(-c1 * (t - t0)) + d * exp(-c2 * (t - t0)));
    Cp_fit(t <= t0) = 0; % Ensure the function is zero for t <= t0
end

```

A.9 Matlab-Skript zur Erstellung von K_{trans} -Map mittels *Standard Tofts Model*

```

clear all;
close all;

% %The first part: Calculating AIF
% Set the folder path to the slice folder
folderPath = 'D:\Matlab\Projekte\21A1_bis_21A7\21A3\smoothed_slices\slice4';

% Get all DICOM files in the folder
dcmFiles = dir(fullfile(folderPath, '*.dcm'));
numImages = numel(dcmFiles);

if numImages == 0
    error('No DICOM files found in the selected folder.');
```

```

end

% sort files by name (just in case they are not in order)
 [~, fileIdx] = sort({dcmFiles.name});
dcmFiles = dcmFiles(fileIdx);

% Read the first image to let the user select the ROI
firstImagePath = fullfile(folderPath, dcmFiles(24).name);

```

```

Image = dicomread(firstImagePath);

% Manually input the pixel coordinates for AIF
y = 44;
x = 97;

% Using fixed T10 for all pixels within blood plasma
T10_ROI = 2300 / 1000; % Convert T10 from milliseconds to seconds
R10_ROI = 1 ./ T10_ROI; % [s^-1]

% Initialize matrices to hold signal intensities and concentration values
S_all = zeros(1, numImages);
C_b_all = zeros(1, numImages);
C_p_all = zeros(1, numImages);

% Loop through all DICOM files to get the signal intensity at (x, y)
for i = 1:numImages
    % Read each DICOM image
    filePath = fullfile(folderPath, dcmFiles(i).name);
    img = dicomread(filePath);
    info = dicominfo(filePath);

    % Extract DICOM metadata
    TR_DCE = info.RepetitionTime * 1e-3;
    alpha_DCE = deg2rad(info.FlipAngle);
    rescaleSlope = info.RescaleSlope;
    rescaleIntercept = info.RescaleIntercept;

    % Extract pixel value at (x, y)
    raw_pixel_value = double(img(y, x));
    S_all(i) = raw_pixel_value * rescaleSlope + rescaleIntercept;
end

% Calculate average S0 from pre-contrast images only
numPreContrastImages = 12; % Number of pre-contrast images
avg_S0 = mean(S_all(1:numPreContrastImages));

% Calculate concentration for all images
r1 = 7.3; % Relaxivity [1/(mM*s)]
Hct = 0.44; % Hematocrit value

% Calculate M0 for the selected pixel
M0 = avg_S0 * (1 - cos(alpha_DCE) * exp(-TR_DCE / T10_ROI)) / (sin(alpha_DCE) * (1 - exp(-
TR_DCE / T10_ROI)));

for t = 13:numImages
    A = (S_all(t) - avg_S0) / (M0 * sin(alpha_DCE));
    B = (1 - exp(-TR_DCE / T10_ROI)) / (1 - exp(-TR_DCE / T10_ROI) * cos(alpha_DCE));
    R1_t = -(1 / TR_DCE) * log((1 - A - B) / (1 - (A + B) * cos(alpha_DCE))); % [s]
    T1_t = 1 / R1_t;
    C_b_all(t) = (R1_t - R10_ROI) / r1; % [mM]
    C_p_all(t) = C_b_all(t) / (1 - Hct);
end

% Convert timePoints from seconds to minutes
timeInterval = 3.1; % Time interval in seconds
timePoints = (0:(numImages-1)) * timeInterval;
timePoints_min = timePoints / 60;

```

```

% Plot C_p(t) over time and fit the hybrid model
hPlotFig = figure;
initialParams = [0.1, 1, 0.1, 0.1, 0.01, 0.62]; % Initial parameter guesses
options = optimset('Display', 'off', 'TolFun', 1e-8, 'TolX', 1e-8);

% Define the pixel-specific C_p(t)
Cp_pixel = squeeze(C_p_all(:));

% Define the objective function for fitting
objectiveFunction = @(params) sum((Cp_pixel - hybridFunction(params, timePoints_min)).^2);

% Perform the non-linear fitting
[bestParams, resnorm] = fminsearch(objectiveFunction, initialParams, options);

% Calculate the fitted AIF using the best parameters
Cp_fit = hybridFunction(bestParams, timePoints_min);

% Plot the fitted AIF against the measured C_p(t)
plot(timePoints_min, Cp_pixel, 'b-', 'DisplayName', 'Measured C_p(t)');
hold on;
plot(timePoints_min, Cp_fit, 'r-', 'DisplayName', 'Fitted AIF');
xlabel('Time (minutes)');
ylabel('C_p(t) (mM)');
title(sprintf('Pixel (%d, %d)', y, x));
legend('Measured', 'Fitted');
hold off;

%% The second part: Ktrans map
% Set the folder path to the slice folder
folderPath = 'D:\Matlab\Projekte\21A1_bis_21A7\21A7\smoothed_slices\slice2';

% Get all DICOM files in the folder
dcmFiles = dir(fullfile(folderPath, '*.dcm'));
numImages = numel(dcmFiles);

if numImages == 0
    error('No DICOM files found in the selected folder.');
```

```

end

% Sort files by name (just in case they are not in order)
[~, fileIdx] = sort({dcmFiles.name});
dcmFiles = dcmFiles(fileIdx);

% Read the first image to let the user select the ROI
firstImagePath = fullfile(folderPath, dcmFiles(13).name);
Image = dicomread(firstImagePath);
hFig = figure;
imshow(Image, []);
title('Select a Region of Interest (ROI)');
h = drawrectangle;
wait(h);

% Get the coordinates of the selected ROI
position = h.Position;
x1 = round(position(1));

```

```

y1 = round(position(2));
width = round(position(3));
height = round(position(4));
x2 = x1 + width - 1;
y2 = y1 + height - 1;

% Using fixed T10 for all tissue pixels within ROI
T10_ROI = 2500 / 1000; % Convert T10 from milliseconds to seconds
R10_ROI = 1 ./ T10_ROI; % [s^-1]

% Initialize matrices to hold signal intensities and concentration values
S_all = zeros(height, width, numImages);
C_t_all = zeros(height, width, numImages);

% Loop through all DICOM files to get the signal intensity
for i = 1:numImages
    % Read each DICOM image
    filePath = fullfile(folderPath, dcmFiles(i).name);
    img = dicomread(filePath);
    info = dicominfo(filePath);

    % Extract DICOM metadata
    TR_DCE = info.RepetitionTime * 1e-3;
    alpha_DCE = deg2rad(info.FlipAngle);
    rescaleSlope = info.RescaleSlope;
    rescaleIntercept = info.RescaleIntercept;

    % Extract pixel values for the ROI
    raw_pixel_value = double(img(y1:y2, x1:x2));
    S_all(:, :, i) = raw_pixel_value * rescaleSlope + rescaleIntercept;
end

% Calculate average S0 from pre-contrast images only
numPreContrastImages = 12; % Number of pre-contrast images
avg_S0 = mean(S_all(:, :, 1:numPreContrastImages), 3);

% Calculate M0 for each pixel in the ROI
M0 = avg_S0 .* (1 - cos(alpha_DCE) .* exp(-TR_DCE ./ T10_ROI)) ./ (sin(alpha_DCE) .* (1 - exp(-TR_DCE ./ T10_ROI)));
for t = 13:numImages
    A = (S_all(:, :, t) - avg_S0) ./ (M0 .* sin(alpha_DCE));
    B = (1 - exp(-TR_DCE ./ T10_ROI)) ./ ...
        (1 - (exp(-TR_DCE ./ T10_ROI) .* cos(alpha_DCE)));
    R1_t = -(1/TR_DCE) * log((1 - A - B) ./ (1 - (A + B) * cos(alpha_DCE))); % [s]
    T1_t = 1 ./ R1_t;
    C_t_all(:, :, t) = (R1_t - R10_ROI) / r1; % [mM]
end

% Initialize Ktrans map
Ktrans_map = nan(height, width);

% Fit the concentration curve of CA in tissue using the standard Tofts model
initialParams = [0.1, 0.01]; % Initial parameter guesses for Ktrans and ve
options = optimset('Display', 'off', 'TolFun', 1e-8, 'To1X', 1e-8);

for i = 1:height
    for j = 1:width

```

```

        Ct_pixel = squeeze(C_t_all(i, j, :));
        % Define the objective function for fitting
        objectiveFunction = @(params) sum((Ct_pixel - standardToftsModel(params,
timePoints_min, Cp_fit)).^2);
        % Perform the non-linear fitting
        [bestParams, resnorm] = fminsearch(objectiveFunction, initialParams, options);

        % Extract the fitted Ktrans
        Ktrans_map(i, j) = bestParams(1);
    end
end

% Display the Ktrans map
figure;
colormap('jet')
clims = [0 0.3]; %set color limits
imagesc(Ktrans_map,clims)
c = colorbar;
c.Label.String = 'Ktrans [min^-1]';
xlabel('pixel')
ylabel('pixel')
title('Ktrans Map');
grid minor
axis equal;

% Hybrid function definition
function Cp_fit = hybridFunction(params, t)
    A = params(1);
    b = params(2);
    c1 = params(3);
    d = params(4);
    c2 = params(5);
    t0 = params(6);

    % Hybrid function
    Cp_fit = A * ((t - t0).^b) .* (exp(-c1 * (t - t0)) + d * exp(-c2 * (t - t0)));
    Cp_fit(t <= t0) = 0; % Ensure the function is zero for t <= t0
end

% Standard Tofts model function
function Ct_fit = standardToftsModel(params, t, Cp)
    Ktrans = params(1);
    ve = params(2);
    kep = Ktrans / ve;
    dt = t(2) - t(1); % Time interval between points
    exp_decay = exp(-kep * t);
    conv_result = conv(Cp, exp_decay) * dt;
    conv_result = conv_result(1:length(t));
    Ct_fit = Ktrans * conv_result;
end

```

A.10 MATLAB-Skript zur Visualisierung des MR-Spektrums

```

% Read the Data
filename_tumor =
'D:\Matlab\Projekte\Spektroskopie\20210706_133813_HZL_Rat_Brain_Tumor_June2021_1_11_3.txt';
filename_normal =
'D:\Matlab\Projekte\Spektroskopie\20210706_133813_HZL_Rat_Brain_Tumor_June2021_1_11_4.txt';
opts = detectImportOptions(filename_tumor, 'FileType', 'text', 'CommentStyle', '#');
data_tumor = readmatrix(filename_tumor, opts);
data_normal = readmatrix(filename_normal, opts);

% Parse Spectral Range Information
left_ppm = 9.997606722736666;
right_ppm = -0.4971847561336988;
num_points = 1957;

% Calculate Frequency Range and Scale
ppm_range = linspace(left_ppm, right_ppm, num_points);

% Filter the data for the range 0 ppm to 4.0 ppm
mask = ppm_range >= 0 & ppm_range <= 4.0;
ppm_filtered = ppm_range(mask);
data_tumor_filtered = data_tumor(mask);
data_normal_filtered = data_normal(mask);

% Plot the Data
plot(ppm_filtered, data_tumor_filtered, 'r', 'Linewidth', 1, 'DisplayName', 'Tumor Tissue');
hold on;
plot(ppm_filtered, data_normal_filtered, 'g', 'Linewidth', 1, 'DisplayName', 'Normal Tissue');
hold off;

xlabel('Chemical shift (ppm)');
ylabel('Signal Intensity');
title('21A7');
set(gca, 'XDir', 'reverse'); % Often the chemical shift axis is reversed

```



Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit in allen Teilen selbstständig angefertigt und keine anderen als die in der Arbeit angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe, und dass die Arbeit in gleicher oder ähnlicher Form in noch keiner anderen Prüfung vorgelegen hat. Mir ist bewusst, dass ich Autor/in der vorliegenden Arbeit bin und volle Verantwortung für den Text trage.



Ich erkläre, dass ich wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken – dazu gehören auch Internetquellen – übernommene Inhalte als solche kenntlich gemacht und die entsprechenden Quellen angegeben habe.



Mir ist bewusst, dass meine Arbeit auf Plagiate überprüft werden kann. Mir ist bekannt, dass es sich bei der Abgabe eines Plagiats um ein schweres akademisches Fehlverhalten handelt und dass Täuschungen nach der für mich gültigen Prüfungsordnung geahndet werden.



Zusätzlich versichere ich, dass ich auf künstlicher Intelligenz (KI) basierende Werkzeuge nur in Absprache mit den Prüfern verwendet habe. Dabei stand meine eigene geistige Leistung im Vordergrund, und ich habe jederzeit den Prozess steuernd bearbeitet.



Diese Werkzeuge habe ich im Quellenverzeichnis in der Rubrik „Übersicht verwendeter Hilfsmittel“ mit ihrem Produktnamen und einer Übersicht des im Rahmen dieser Prüfungs-/Studienarbeit genutzten Funktionsumfangs unter Angabe der Textstelle in der Arbeit vollständig aufgeführt.



Ich versichere, dass ich keine KI-basierten Tools verwendet habe, deren Nutzung die Prüfer explizit schriftlich ausgeschlossen haben. Ich bin mir bewusst, dass die Verwendung von Texten oder anderen Inhalten und Produkten, die durch KI-basierte Tools generiert wurden, keine Garantie für deren Qualität darstellt.



Ich verantworte die Übernahme jeglicher von mir verwendeter maschinell generierter Passagen vollumfänglich selbst und trage die Verantwortung für eventuell durch die KI generierte fehlerhafte oder verzerrte Inhalte, fehlerhafte Referenzen, Verstöße gegen das Datenschutz- und Urheberrecht oder Plagiate.



Zwickau, den 31. 10. 2024

Ort, Datum

Unterschrift

