

Abteilung für Hämatologie und Onkologie  
Medizinische Klinik II  
des Zentrums für Innere Medizin  
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Direktor: Prof. Dr. med. D. K. Hossfeld

**Positronen-Emissions-Tomographie in der  
Diagnostik von Rezidiven des R1H-Tumors  
der Ratte nach fraktionierter  
Bestrahlung**

Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg  
vorgelegt

von

Barbara Seegers  
aus Hamburg

Hamburg 2004

Angenommen vom Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg am: 17.02.2005

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs  
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, die/der Vorsitzende/r: PD Dr. M. de Wit  
Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: PD Dr. S. Klutmann  
Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: Prof. Dr. C. Lohmann

## Verzeichnis der Abkürzungen

BGO	Wismutgermanat
C.I.	Konfidenzintervall
cm	Centimeter
cm <sup>3</sup>	Kubikcentimeter
(μ)Ci	(Mikro-)Curie
Cu	Kupfer
FDG	<sup>18</sup> Fluor-Desoxy-Glukose
FHA	Fokus-Haut-Abstand
FWHM	Halbwertsbreite (engl. Full width at half maximum)
Gy	Gray
i.m.	intramuskulär
i.p.	intraperitoneal
(k)eV	(Kilo)-Elektronenvolt
kVp	Kilo-Volt-Potential
(M)Bq	(Mega-)Becquerel
min	Minuten
mm	Milimeter
NPW	negativer prädiktiver Wert
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PPW	positiver prädiktiver Wert
ROC	Receiver Operating Characteristics
ROI	Region of Interest
SEM	Standardfehler des Mittelwerts (Standard error of the mean)
SUV	Standardized Uptake Value
TCD50%	Tumor Control Dose 50%

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>7</b>
1.1	GRUNDLAGEN DER PET .....	7
1.2	PET IN DER ONKOLOGIE .....	9
1.3	ZIELSETZUNG DER VORLIEGENDEN ARBEIT.....	10
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>12</b>
2.1	TUMOR-WIRT-SYSTEM.....	12
2.1.1	VERSUCHSTIERE .....	12
2.1.2	TUMORTRANSPLANTATION .....	12
2.1.3	VOLUMETRIE .....	13
2.1.4	WACHSTUMSKURVEN.....	14
2.1.5	WACHSTUMSVERZÖGERUNG .....	15
2.1.6	STARTVOLUMINA .....	16
2.1.7	STRAHLENTHERAPIE .....	16
2.2	POSITRONEN-EMISSIONS-TOMOGRAPHIE (PET).....	17
2.2.1	PET-SCANNER.....	17
2.2.2	UNTERSUCHUNGSFREQUENZ UND -ZEITRAUM.....	17
2.2.3	UNTERSUCHUNGSABLAUF .....	19
2.2.4	18FLUOR-DESOXY-GLUKOSE (FDG) .....	19
2.2.5	FDG-APPLIKATION .....	20
2.2.6	PET-BEFUNDUNG .....	21
2.3	DIAGNOSTISCHE PARAMETER.....	23
2.4	UNTERSUCHUNG DER BEFUNDERVERIABILITÄT .....	24
2.4.1	Kappa-Koeffizient .....	24
2.5	RECEIVER OPERATING CHARACTERISTICS (ROC) .....	25
2.6	ENDPUNKTE .....	27
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>28</b>
3.1	THERAPIEANSPRECHEN .....	28
3.2	ÜBERLEBENSZEIT .....	28
3.3	VOLUMETRIE .....	28
3.4	VERLAUF WÄHREND THERAPIE .....	28
3.5	VERLAUF NACH THERAPIEENDE.....	29

3.5.1	LOKAL KONTROLLIERTE TUMOREN .....	29
3.5.2	REZIDIVTUMOREN .....	29
3.6	VERGLEICH DER WACHSTUMSKURVEN .....	31
3.7	BEFUNDUNG MITTELS PET .....	32
3.8	PET VOR THERAPIEBEGINN.....	32
3.9	PET WÄHREND STRAHLENTHERAPIE.....	32
3.10	PET ALS THERAPIEKONTROLLE .....	33
3.10.1	PET BEI LOKAL KONTROLLIERTEN TUMOREN .....	33
3.10.2	PET BEI TUMORREZIDIVEN.....	33
3.11	KORRELATION DER PET-BEFUNDE MIT DEN TUMORVOLUMINA.....	34
3.12	ZEITVORTEIL BEIM REZIDIVNACHWEIS DURCH PET .....	36
3.13	RECEIVER OPERATING CHARACTERISTICS (ROC) .....	37
3.13.1	OPTIMALER UNTERSUCHUNGSZEITPUNKT .....	37
3.13.2	OPTIMALES TUMORVOLUMEN .....	38
3.13.3	OPTIMALE NACHWEISGRENZE FÜR REZIDIVE .....	40
3.14	BEFUNDERVERIABILITÄT.....	41
3.14.1	INTRA-INDIVIDUELLE BEFUNDERVERIABILITÄT .....	41
3.14.2	INTER-INDIVIDUELLE BEFUNDERVERIABILITÄT .....	44
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>46</b>
4.1	AUSWAHL DES TUMORMODELLS .....	46
4.2	MANUELLE TUMORVOLUMENMESSUNG .....	46
4.3	TUMORENTWICKLUNG WÄHREND DER STRAHLENTHERAPIE .....	46
4.4	EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE PET .....	47
4.4.1	EINFLUSS DER NARKOSE WÄHREND DER PET .....	47
4.4.2	EINFLUSS DES VERWENDETEN PET-SCANNERS .....	47
4.4.3	EINFLUSS DES GLUKOSESPIEGELS AUF DIE FDG-AKKUMULATION.....	48
4.4.4	KINETIK DER FDG-AUFNAHME NACH SUBKUTANER INJEKTION .....	48
4.5	PET NACH STRAHLENTHERAPIE .....	49
4.5.1	ZEITPUNKT DER PET NACH STRAHLENTHERAPIE .....	50
4.5.2	POTENTIELLE EINFLÜSSE DER STRAHLENTHERAPIE AUF DIE FDG- ANREICHERUNG	50
4.6	GRÖßENABHÄNGIGKEIT DES REZIDIVNACHWEISES.....	51
4.7	VISUELLE BEWERTUNGSSKALA UND REPRODUZIERBARKEIT .....	52
4.8	NUTZEN DER ROC-ANALYSEN .....	53
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>54</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>56</b>

<b>7</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>60</b>
7.1	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	60
7.2	TABELLENVERZEICHNIS.....	61
7.3	FORMELVERZEICHNIS .....	61
7.4	ABBILDUNGEN .....	62
7.4.1	LOKALREZIDIVE .....	63
7.4.2	LOKALE KONTROLLEN.....	67
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF</b> .....	<b>70</b>

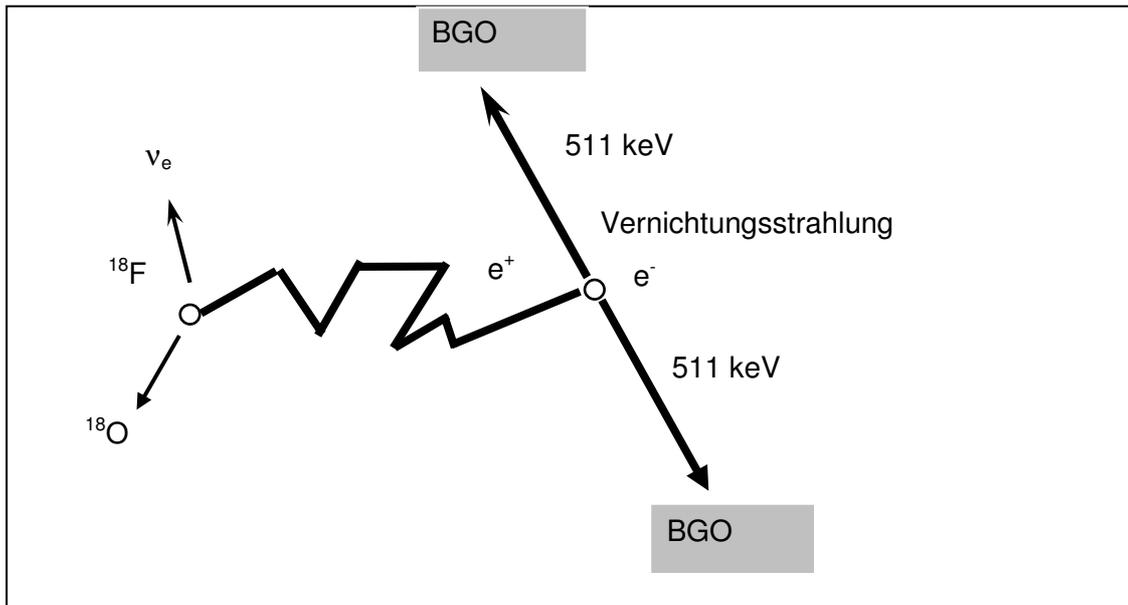
## **1. Einleitung**

Die Anwendung von bildgebenden Verfahren spielt in der Diagnose, Therapieplanung und Verlaufskontrolle von malignen Tumoren eine entscheidende Rolle. Die routinemäßig angewandten Verfahren, wie z.B. Computertomographie (CT), Kernspintomographie (MRT) und Ultraschall liefern ausschließlich morphologische Informationen. Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist ein Verfahren, das darüber hinaus Auskunft über die funktionelle Aktivität der untersuchten Gewebe in vivo geben kann und dadurch eine wertvolle Ergänzung darstellt.

### **1.1 Grundlagen der PET**

Die PET ermöglicht auf nicht-invasivem Weg Einblicke in die Stoffwechselfvorgänge des Körpers. Dies ist mit Hilfe kurzlebiger, Positronen emittierender Atome möglich, dazu gehören insbesondere  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{18}\text{F}$ . Es handelt sich hierbei um essentielle Elemente, welche an vielfältigen biologischen Prozessen beteiligt sind. Verbindet man diese so genannten Radionuklide mit spezifischen Trägerstoffen, wie z.B. Glukose so lässt sich deren Akkumulation und Verstoffwechslung im Organismus darstellen.

Das mit dem Radionuklid markierte Molekül, der so genannte Tracer, wird in den Organismus eingebracht, wo es sich verteilt. Entsprechend der Halbwertszeit des Nuklids zerfällt es und setzt dabei Positronen frei. Diese Positronen stoßen nach ein bis drei Millimeter im Gewebe mit einem Elektron zusammen. Beide zerfallen dabei in zwei  $\gamma$ -Quanten, die mit einer Energie von 511 KeV in einem Winkel von ca. 180 Grad auseinanderstreben (Abb. 1). Die dabei entstehende so genannte Vernichtungsstrahlung kann in dem ringförmig angeordneten Koinzidenz-Detektor-System, dem PET-Scanner registriert werden. Aus den gewonnenen Daten können Schnittbilder berechnet werden, die die räumliche Verteilung des jeweiligen Radionuklids im Gewebe darstellen. Die Positronen-Emissions-Tomographie ist damit ein bildgebendes Verfahren, welches es ermöglicht, die Interaktionen der verwendeten radioaktiv markierten Substanzen mit den körpereigenen biologischen Prozessen abzubilden [44].



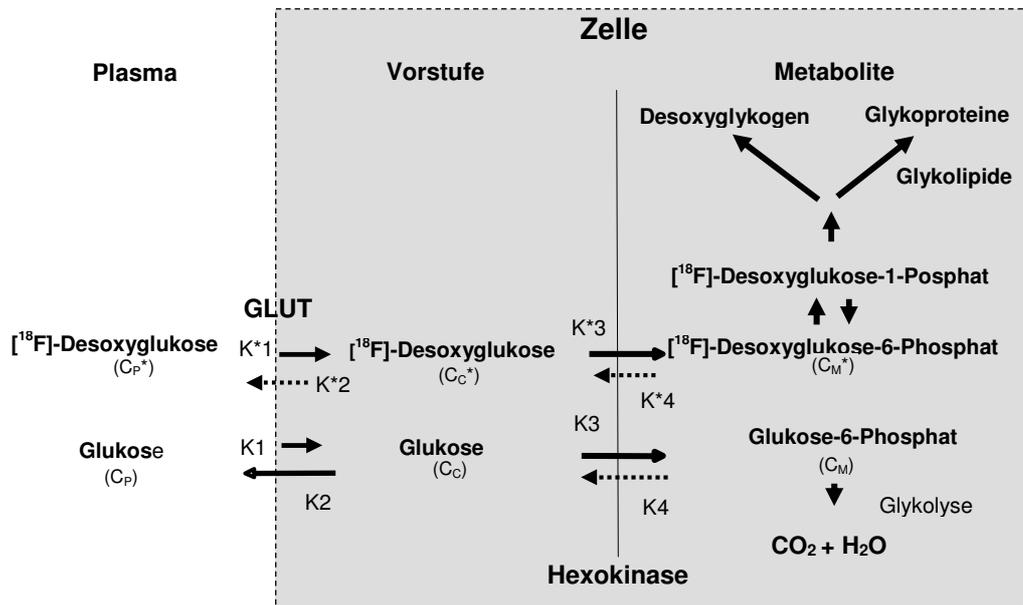
**Abbildung 1** Schema zur Entstehung der Vernichtungsstrahlung nach Zusammenprall eines Positrons mit einem Elektron

Durch die Freisetzung eines Positrons aus dem Kern des 18-Fluor ( $^{18}\text{F}$ ) und Kollision dieses Positrons mit einem Elektron entsteht die Vernichtungsstrahlung mit Photonen von 511 keV. Diese Vernichtungsstrahlung kann in den Kristallen des Detektorrings aus Wismutgermanat nachgewiesen werden.

keV = Kiloelektronenvolt, BGO = Wismutgermanat (modif. nach [15])

Ein häufig verwendeter Tracer ist die  $^{18}\text{F}$ -Fluor-Desoxy-Glukose (FDG). FDG ist ein Glukoseanalogon, welches auf synthetischem Weg gewonnen wird. In einem Teilchenbeschleuniger (Zyklotron) wird das Radionuklid  $^{18}\text{F}$  hergestellt und anschließend an das Glukoseanalogon 2-Desoxy-Glukose gekoppelt. Das dabei entstandene FDG hat eine Halbwertszeit von ca. 110 min. FDG wird in der Regel intravenös verabreicht und verteilt sich über den Blutkreislauf im Körper. Die Aufnahme von FDG in die Zelle erfolgt über den Transportmechanismus der Glukose. Nach der Phosphorylierung des FDG durch Hexokinase (oder Glukokinase) ist die weitere Metabolisierung des FDG-6-Phosphat unterbrochen, da diesem Molekül an der C2-Ringposition ein Sauerstoffmolekül fehlt. Für den nächsten Schritt in der Glykolyse (Phosphoglukoisomerasereaktion) stellt FDG-6-Phosphat kein Substrat mehr dar [58]. Die anschließende Ausschleusung des FDG aus der Zelle kann nur durch die sehr viel langsamere Dephosphorylierung erfolgen (Abb. 2). Die Geschwindigkeit des FDG-Abbaus in der Zelle hängt vom Vorhandensein des Enzyms Glukose-6-phosphatase ab [21], welches in verschiedenen Geweben in unterschiedlicher Konzentration vorliegt. Organe, wie Leber oder Nieren sind reich an Glukose-6-phosphatase, hier wird das FDG-6-Phosphat schnell wieder abgebaut. In Organen, die einen hohen Glukoseumsatz und eine niedrige Glukose-6-phosphatase-Aktivität haben, wie z.B. Herz, Gehirn, aber auch Tumorgewebe kommt es zu einer Anreicherung des FDG-6-Phosphats in der Zelle, dem so genannten "metabolic trapping" [11]. Diese

verstärkte Anreicherung lässt sich mit Hilfe des PET-Scanners nachweisen und stellt somit eine Methode zum Tumornachweis und zur Verlaufskontrolle dar [12].



**Abbildung 2** Intrazellulärer Metabolismus von Glukose und FDG

FDG wird analog zur Glukose in die Zelle eingeschleust und verstoffwechselt, es liegen jedoch unterschiedliche kinetische Konstanten vor. FDG-6-Phosphat stellt für die Glykolyse kein Substrat dar. Der Abbau erfolgt über die sehr viel langsamere Dephosphorylierung (modif. nach [9]).

$C_p$  = Konzentration im Plasma  
 $K$  = kinetische Konstante  
 $*$  =  $^{18}\text{F}$ -markierte Substanz

$C_c$  = Konzentration in der Zelle  
 $C_M$  = Konzentration der Metaboliten  
 GLUT = Glukosetransporter

## 1.2 PET in der Onkologie

Aufgrund der oben genannten Eigenschaften hat die Positronen-Emissions-Tomographie in weiten Teilen der Medizin zunehmend an Bedeutung gewonnen. Neben dem Einsatz in der Neurologie/ Psychiatrie und Kardiologie findet die PET insbesondere in der Onkologie ein breites Anwendungsgebiet.

Grundlage hierfür ist die schon 1931 von Otto Warburg [57] gemachte Beobachtung, dass maligne Tumoren im Vergleich zum Normalgewebe eine erheblich gesteigerte Glykolyse aufweisen. Bereits 1963 konnten Sweeny et al. zeigen, dass eine Zunahme der Tumorstadiumsrate mit einer Steigerung der Glykolyse korrespondiert [54]. Weiterhin gibt es Hinweise dafür, dass es an der Membran von Tumorzellen zu einem gesteigerten Transport von Glukose in die Zelle kommt [49]. Mit Hilfe der FDG lässt sich diese gesteigerte Glukoseaufnahme quantifizieren [48]. Darüber hinaus konnte Di Chiro eine Korrelation zwischen der Menge der verstoffwechselten Glukose und der Aggressivität des Tumorgewebes nachweisen [19]. Im klinischen Alltag hat die Positronen-Emissions-

Tomographie ihren Nutzen sowohl im Nachweis von Primärtumoren ([10], [53]) als auch in der Differenzierung von gutartigem zu bösartigem Gewebe, wie z.B. bei Lymphknoten in der Lunge [18] vielfach bewiesen. Darüber hinaus ist es eine Methode, um vitale Tumorzellen von nekrotischem oder fibrotischem Gewebe unterscheiden zu können, z.B. in der Nachsorge von Lymphomen [16] oder zum Auffinden von okkulten Metastasen [20].

Durch eine Vielzahl therapeutischer Methoden (Chemotherapie, Strahlentherapie, Operation) kann ein großer Teil der soliden Tumoren in der Onkologie behandelt werden. Nach dem Erreichen einer kompletten Remission kommt es bei vielen Tumoren jedoch im Verlauf zu einem Tumorrezidiv. Mit Hilfe bildgebender Verfahren gelingt im Laufe der Zeit ein Rezidivnachweis, aber im Hinblick auf erneute therapeutische Interventionen wäre ein frühestmöglicher Rezidivnachweis wünschenswert. Ausgehend von der Annahme, dass eine Zunahme im Glukosestoffwechsel des Tumors früher nachweisbar ist, als die Zunahme des Tumolvolumens, wäre die Positronen-Emissions-Tomographie eine Methode, die im Vergleich zu anderen Verfahren einen früheren Tumor-/ Rezidivnachweis ermöglicht.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, inwieweit spezifische Therapieformen, wie z.B. die Strahlentherapie Einfluss auf die Aussagefähigkeit der Positronen-Emissions-Tomographie in der Verlaufskontrolle haben. Kommt es durch die Therapie zu Veränderungen im Gewebestoffwechsel, z.B. durch entzündliche Reaktionen, welche die FDG-Aufnahme beeinflussen?

Obwohl es bisher erst wenige Daten über den günstigsten Zeitpunkt einer PET-Untersuchung nach abgeschlossener Therapie gibt, besteht ein allgemeiner Konsens darin, dass PET zwei bis drei Wochen nach Chemotherapie, aber erst ca. drei Monate nach einer Strahlentherapie zu zuverlässigen Ergebnissen führt. Genaue Studien bezüglich des optimalen Zeitpunktes der PET-Untersuchung nach Strahlentherapie liegen jedoch z.Zt. noch nicht vor. Trotz der umfangreichen Forschungsaktivität im Bereich der Positronen-Emissions-Tomographie gibt es somit immer noch viele ungeklärte Fragen.

### **1.3 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit**

Ziel der vorliegenden Arbeit war zunächst die Etablierung eines Tumormodells für PET-Untersuchungen. Es galt ein experimentelles System zu schaffen, anhand dessen die Eignung der PET für die Therapiekontrolle nach fraktionierter Strahlentherapie an einem experimentellen Weichteiltumormodell (R1H-Tumor) (s. Kap. 2.1.) der Ratte untersucht

werden kann. Hierzu war die Entwicklung einer Bewertungsskala als Verlaufskontrolle für dieses Tumormodell erforderlich. Darüber hinaus sollte untersucht werden, welchen Einfluss 1. die Tumorgröße und 2. der Zeitpunkt der PET-Untersuchung nach Strahlentherapie auf die Aussagefähigkeit der Positronen-Emissions-Tomographie hat.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Tumor-Wirt-System**

Die Untersuchung wurde am experimentellen Tumorsystem des Rhabdomyosarkoms R1H der Ratte durchgeführt. Der R1H-Tumor ist ein, in der Grundlagenforschung der Krebstherapie, etabliertes experimentelles Tumorsystem ([1], [2], [3], [13], [26], [55]).

Beim R1H-Tumormodell handelt sich um eine stabile Zelllinie, die auf der Basis des R1-Tumors entwickelt wurde [28]. Dieses Tumor-Wirt-System zeigt keine spezifische Immunogenität ([45], [61]). Die Tumorverdoppelungszeit beträgt vier Tage bei einer Tumorgröße von  $1,6 \pm 0,2 \text{ cm}^3$ . Der Zellzyklus des R1H-Tumors dauert 17,6 Stunden und der Anteil der klonogenen Zellen im Tumorgewebe liegt bei etwa 55%. Die mitotische Aktivität des Tumors ist hoch und der Tumor ist von einer bindegewebigen Pseudokapsel umgeben [28].

#### **2.1.1 Versuchstiere**

Als Versuchstiere wurden männliche Albinoratten des Inzuchtstammes WAG/Rij H eingesetzt. Die Tiere waren zum Zeitpunkt der Untersuchung ca. 14 - 16 Wochen alt. Die Tiere wurden im Tierstall des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf unter üblichen Bedingungen gehalten. Die Raumtemperatur betrug im Mittel  $23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ , die relative Luftfeuchtigkeit lag bei  $55\% \pm 5\%$ . Die Tiere hatten freien Zugang zu Futter und Wasser und wurden in einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 12 h gehalten. Die Durchführung der Tierexperimente war von der Behörde für Arbeit, Gesundheit und Soziales der Hansestadt Hamburg genehmigt worden.

#### **2.1.2 Tumortransplantation**

Die Tumortransplantation erfolgte, wenn die Tiere ein Ausgangsgewicht von ca. 200 g erreicht hatten. Die Narkose der Tiere erfolgte bei Tumortransplantation, sowie bei allen während der Studie erforderlichen Narkosen gewichtsbezogen mit Ketaminhydrochlorid (6mg/ kg, Ketavit<sup>®</sup> Fa. Parke-Davis/ 100 mg/ml Lösung) und Xylazin (50 mg/ kg, Rompun<sup>®</sup>Fa. Bayer/ 2% Lösung). Die Medikamente wurden intramuskulär jeweils in die hintere Beinmuskulatur verabreicht.

Für die Tumortransplantation wurden aus dem ca. drei Wochen alten Tumor eines Spendertieres kleine Würfel präpariert. Bis zur Implantation wurde das gewonnene Gewebe in

einer sterilen Petrischale auf, mit physiologischer Kochsalzlösung, befeuchtetem Mull gelagert. Nachdem das Tumorgewebe von bindegewebigem Material und Nekrosen gereinigt worden war, wurde das ca. 1 mm<sup>3</sup> große Tumorstückchen unter sterilen Bedingungen in eine präparierte Tasche in die linke Flanke unterhalb des Rippenbogens implantiert. Durch die Position des Tumors unterhalb des Rippenbogens konnte eine spätere Mitbestrahlung der Lunge und des Rückenmarks weitestgehend vermieden werden. Etwa drei Wochen nach der Implantation wurden die Tumoren einer strahlentherapeutischen Behandlung zugeführt.

### 2.1.3 Volumetrie

Nach der Implantation wuchsen die Tumoren in Form von derben ellipsoiden Knoten heran. Aufgrund der subkutanen Lage im Bereich der linken Flanke und der Verschieblichkeit auf der Muskulatur konnte das Tumorwachstum direkt verfolgt werden. Die Tumoren wurden zweimal wöchentlich mit Hilfe einer Schublehre (Fa. Mauser) ausgemessen. Das Tumolvolumen wurde unter der Annahme, dass es sich bei den Tumoren um sogenannte Rotationsellipsoide handelt, die durch zwei senkrecht aufeinander stehende Achsen definiert sind [27], mit Hilfe folgender Formel berechnet:

$$V_T = (a - 2d) \times (b - 2d)^2 \times \pi / 6 \quad [1]$$

Für:  $a \geq b$

*a*: großer Durchmesser  
*b*: kleiner Durchmesser  
*d*: Hautdicke

#### Formel 1 Formel zur Berechnung des Tumolvolumens

Da die Haut bei der Tumorausmessung doppelt erfasst in die Messung eingeht, wurde das Volumen entsprechend korrigiert. Die untere Grenze der Messbarkeit der Tumorachsen war bei einer Achslänge von 5 mm erreicht. Ein Ausmessen kleinerer Tumoren war nicht mehr möglich. In diesen Fällen wurden die Tumoren mit Hilfe einer qualitativen Skalierung als „eben noch tastbar“, „tastbar“, „gut tastbar“ und „fast messbar“ beurteilt. Um den jeweiligen Tastbefund ein entsprechendes Tumolvolumen zuordnen zu können, wurden jeweils fünf bzw. sechs Tumoren bei entsprechender Größe exstirpiert und deren Gewicht mit Hilfe einer Analysewaage bestimmt. Aus den einzelnen Messwerten wurden die Mittelwerte berechnet (Tab. 1).

**Tabelle 1 Korrelation von Tumorgewicht und Tastbefund**

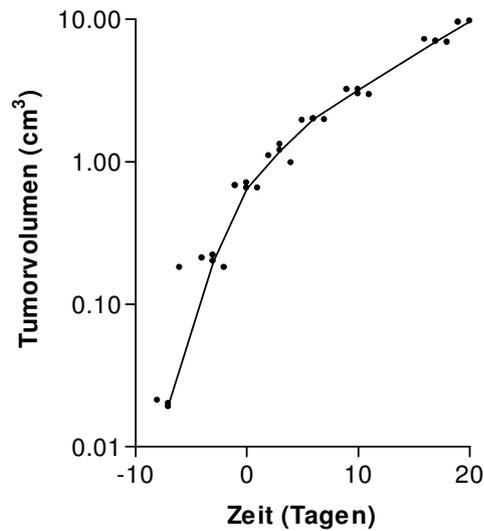
Korrelation der quantitativen Skalierung von kleinen, mit der Schublehre nicht mehr messbaren Tumoren und deren tatsächliches Gewicht

<b>Tastbefund</b>	<b>Gewicht (g) Mittelwert (<math>\pm</math> SEM)</b>
fast messbarer Tumor	0,22 $\pm$ 0,02
gut tastbarer Tumor	0,2 $\pm$ 0,04
tastbarer Tumor	0,09 $\pm$ 0,02
eben noch tastbarer Tumor	0,02 $\pm$ 0,01

Der Befund „tastbarer Tumor“ entspricht einem tatsächlichen Volumen von  $0,09 \text{ cm}^3$ . Aus den zweimal wöchentlich bestimmten Volumina wurden Tumorwachstumskurven erstellt. Nicht tastbaren Tumoren wurde ein Volumen von  $0,01 \text{ cm}^3$  zugewiesen. Ein Rezidiv wurde bei dem kleinsten, sicher als tastbaren Tumor zu wertenden Befund von  $0,09 \text{ cm}^3$  diagnostiziert. Aufgrund langjähriger Erfahrungen mit diesem experimentellen Tumorsystem ist bekannt, dass bei Erreichen eines Volumens von  $0,09 \text{ cm}^3$  mit Sicherheit ein Rezidiv des Tumors vorliegt [15].

#### **2.1.4 Wachstumskurven**

Anhand der Tumorumfänge vor, während und nach der Therapie wurden Tumorwachstumskurven erstellt. Dabei wurde das Tumorumfang logarithmisch als Funktion der Zeit nach Behandlungsbeginn aufgetragen. Als Nullpunkt wird der Zeitpunkt unmittelbar vor Therapiestart gewählt. Das Wachstum eines unbehandelten Tumors wurde von Steel [50] mit Hilfe einer Gompertz-Funktion beschrieben. In Abbildung 3 ist exemplarisch die Wachstumskurve von unbehandelten R1H-Tumoren abgebildet. Nach einem anfangs exponentiellen Wachstum verlangsamt sich die Wachstumsgeschwindigkeit des Tumors allmählich. Dies führt zu einer Krümmung der Wachstumskurve und wird durch die im Verlauf zunehmende Unterversorgung des Tumors mit Nährstoffen und Sauerstoff erklärt.

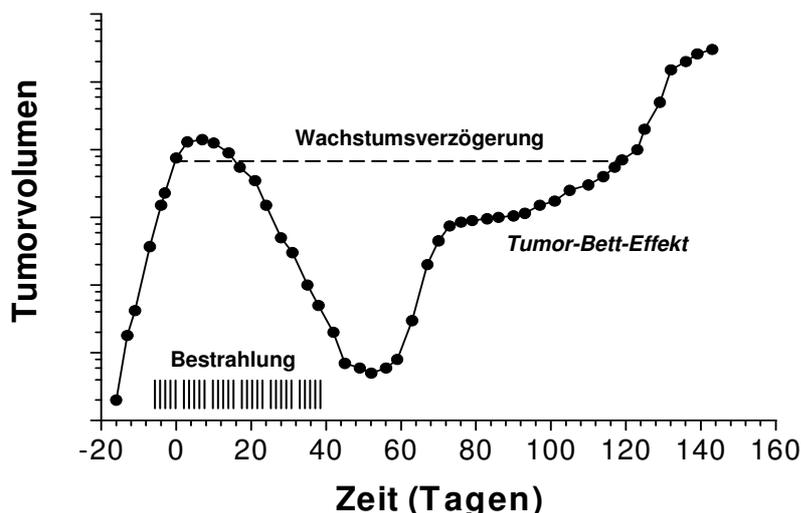


**Abbildung 3 Standardwachstumskurve der R1H-Tumoren**

Das Wachstum des R1H-Tumors in  $\text{cm}^3$  wurde halblogarithmisch gegen die Zeit in Tagen aufgetragen. Nach einem exponentiellen Anfangswachstum tritt eine Verlangsamung des Wachstums bedingt durch einen Nährstoffmangel auf.

### 2.1.5 Wachstumsverzögerung

Sind nach Abschluss der Therapie alle Tumorzellen inaktiviert spricht man von einem „lokal kontrollierten Tumor“ [42]. Ein Rezidiv entsteht, wenn nicht alle Tumorzellen durch die Therapie vernichtet werden konnten. Als Maß für die zeitliche Verzögerung des Tumorzellwachstums nach Therapie, wird die so genannte Wachstumsverzögerung verwendet. Die Zeit, die ein behandelter Tumor im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrolle benötigt, um ein definiertes Volumen zu erreichen, wird als positiver Therapieeffekt gewertet. Das Ausmaß der Wachstumsverzögerung ist in erster Linie abhängig von der therapiebedingten Gewebsschädigung, insbesondere des Gefäßsystems. In der Tumorzellwachstumskurve bildet sich diese Gewebsschädigung in einem Plateau ab, dieses Phänomen wird auch als „Tumor-Bett-Effekt“ bezeichnet. Die für das erneute Aufwachsen des Tumors erforderliche Neovaskularisation schreitet nur sehr langsam voran ( $\sim 0,04 \text{ mm/d}$ ) [61]. Abbildung 4 zeigt eine schematische Darstellung der Wachstumsverzögerung.



**Abbildung 4 Schematische Darstellung der Wachstumsverzögerung**

Die Zeit, die der Tumor nach Therapie benötigt um sein Startvolumen zu erreichen wird als Wachstumsverzögerung bezeichnet. Die Plateauphase ist durch den „Tumor-Bett-Effekt“ bedingt.

## 2.1.6 Startvolumina

Die Startvolumina lagen im Median bei  $0,64 \text{ cm}^3$  (Streubreite  $0,29 - 1,99 \text{ cm}^3$ ). Nach ca. 22 Tagen (Streubreite 15 – 23 Tagen) wurde mit der Therapie begonnen.

## 2.1.7 Strahlentherapie

Aufgrund langjähriger Erfahrung mit diesem Tumormodell war die TCD50% bekannt. Die TCD50% beschreibt die Strahlendosis die erforderlich ist, um bei 50% des gewählten Kollektivs eine lokale Kontrolle der Tumoren zu erreichen. Ziel war es die Strahlendosis zu verwenden, bei der es in etwa gleichen Teilen zu Heilungen und Rezidiven der Tumoren kommt. In Anlehnung an andere Arbeitsgruppen [33], die ebenfalls das R1H-Tumorsystem verwendeten, wurde eine TCD50% von ca. 80 Gy für diese Studie verwendet.

Die Bestrahlung der Tumoren erfolgte mit einer Röntgenröhre der Firma Seifert & Co (ISOVOLT 320) mit 200 keV (13 mA). Die Gesamtdosis von 80 Gy bzw. 85 Gy wurde, in Anlehnung an klinische Bestrahlungsschemata, über einen Zeitraum von sechs Wochen in 30 identischen Fraktionen mit je fünf Fraktionen pro Woche appliziert. Der Fokushautabstand (FHA) lag bei allen Bestrahlungen konstant bei 34,5 cm. Die Dosis pro Fraktion betrug 2,67 bzw. 2,83 Gy bei einer Dosisleistung von 2 Gy pro Minute. Die Tiere wurden für die Dauer der Bestrahlung in einem speziellen Plexiglasgestell fixiert. Das Bestrahlungsfeld wurde dabei durch eine Bleimanschette abgegrenzt. Die Behandlung erfolgte über tangentielle Gegenfelder. Auf eine Anästhesie während der Bestrahlung

wurde verzichtet, da verschiedene Studien ([30], [37]) gezeigt haben, dass es durch die üblichen Narkosemittel zu einer unkontrollierten Änderung der Strahlensensibilität von Tumoren kommen kann.

## **2.2 Positronen-Emissions-Tomographie (PET)**

### **2.2.1 PET-Scanner**

Die Verlaufsuntersuchung der Tiere erfolgte in der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf an einem Vollring-Positronen-Emissions-Tomographen (Siemens/ ECAT-EXAT 921/47, Baujahr 1992). Der Scanner besitzt drei hintereinander angeordnete Ringe mit je 48 Detektorblöcken, so dass ein axiales Gesichtsfeld von 3 cm x 5,4 cm = 16,2 cm<sup>2</sup> simultan untersucht werden kann. Das transaxiale Gesichtsfeld beträgt 56,2 cm<sup>2</sup>. Die physikalische Auflösung im Zentrum beträgt axial und transaxial etwa 5,0 bzw. 6,0 mm Halbwertsbreite (engl. Full width at half maximum, FWHM) bei einer Schichtdicke von 3,4 mm und nimmt zum Rand hin auf ca. 8 mm ab [59]. Zur Kalibrierung des PET-Scanners finden in regelmäßigen Abständen Messungen mit Phantomen und definierten Kugelgrößen statt [22].

### **2.2.2 Untersuchungsfrequenz und -zeitraum**

Die PET-Untersuchung erfolgte nach Erreichen des Startvolumens, vor der ersten fraktionierten Bestrahlung, während der Behandlung einmal pro Woche, sowie nach Abschluss der fraktionierten Bestrahlung noch für mindestens sechs Monate einmal wöchentlich, beziehungsweise bis zur Tötung aufgrund eines Rezidivs (s. Abb. 5).

Für das R1H-Tumorsystem konnte gezeigt werden, dass nach Ablauf von 230 Tagen nach Bestrahlungsbeginn nur noch mit einer Wahrscheinlichkeit von  $p < 0,001$  mit einem Rezidiv gerechnet werden kann [4]. In Anlehnung an diese Studie wurde für die vorliegende Studie eine Nachbeobachtungsphase von 230 Tagen gewählt. Tiere, die bis zu diesem Zeitpunkt kein Rezidiv entwickelt hatten galten als lokal kontrolliert. Das späteste Rezidiv wurde 128. Tag nach Bestrahlungsbeginn beobachtet.

## Versuchsablauf

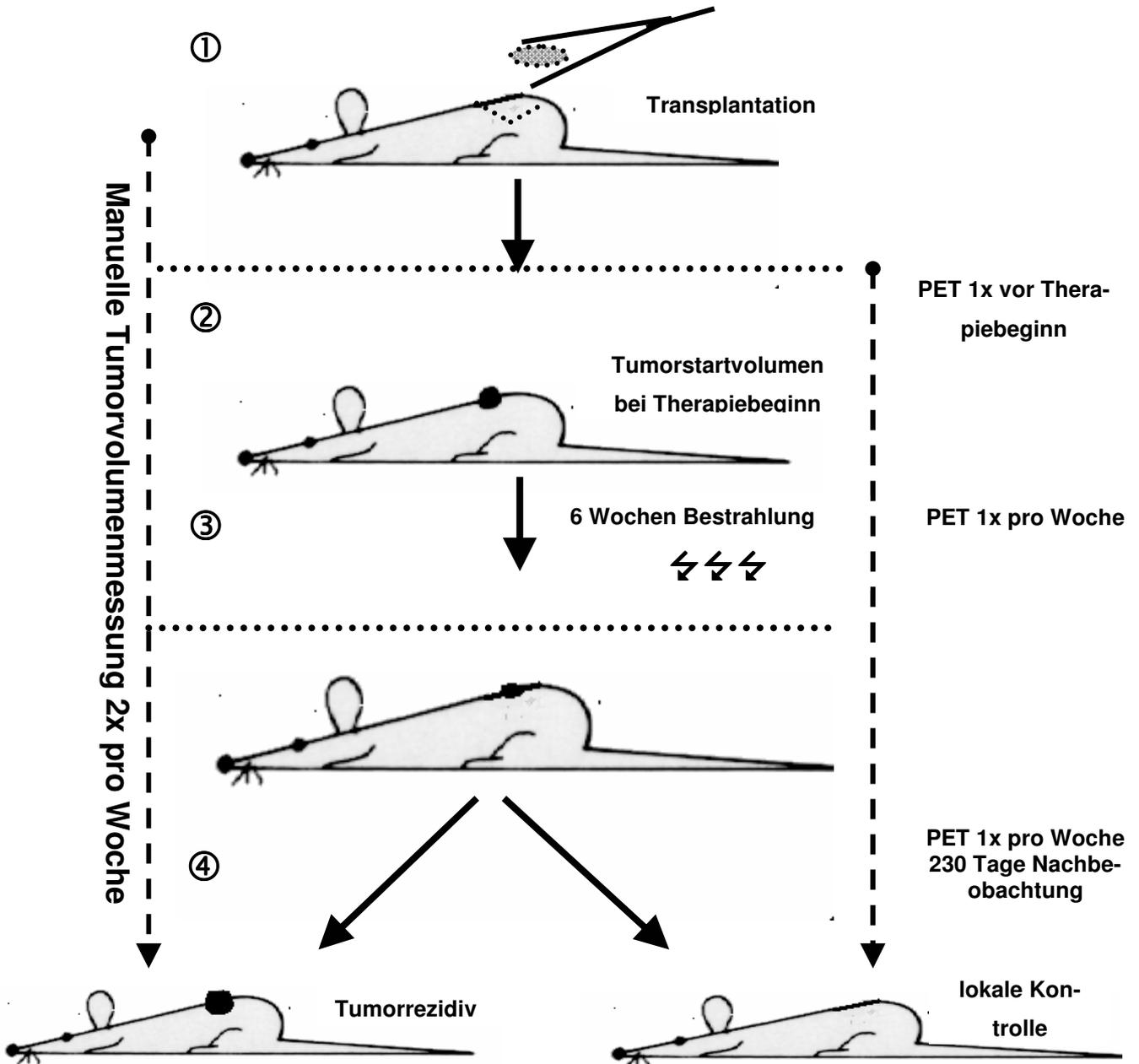


Abbildung 5 Graphische Darstellung des Versuchsablaufs

① Tumortransplantation; im Verlauf zweimal wöchentlich manuelle Messung des Tumolvolumens. ② Nach Erreichen des Tumorstartvolumens erfolgte die erste PET-Untersuchung. ③ Über sechs Wochen fraktionierte Strahlentherapie mit je fünf Fraktionen pro Woche. ④ Im Verlauf einmal wöchentlich PET-Untersuchung bis zum Ende der Nachbeobachtung maximal 230 Tage nach Bestrahlungsbeginn.

### **2.2.3 Untersuchungsablauf**

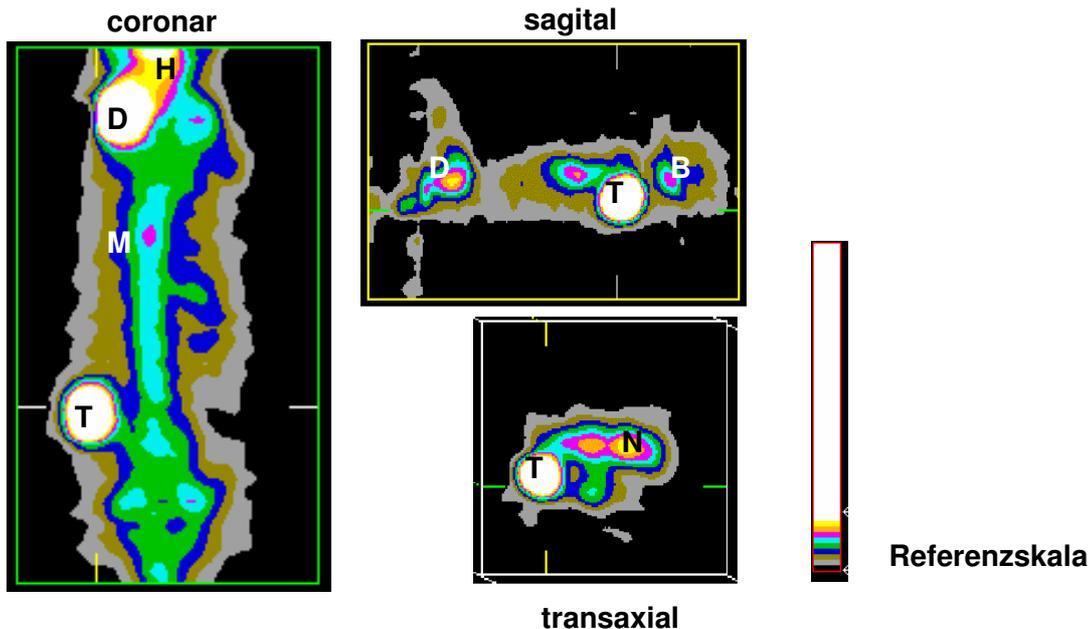
Für die regelmäßigen PET-Untersuchungen in dieser Studie, wurde ein spezielles Plexiglasgestell entwickelt, welches die simultane Untersuchung von bis zu neun Tieren gleichzeitig ermöglichte [8]. Für die Dauer der Untersuchung wurden die Tiere wie oben beschrieben (Kap. 2.1.2.) narkotisiert.

Die Untersuchungsdauer betrug maximal 45 Minuten. Einer 20-minütigen Emissionsaufnahme der FDG-Aktivitätsverteilung folgte, zur Absorptionskorrektur, eine etwa 20-minütige Transmissionsmessung. Zur Rekonstruktion der Daten wurde von Dr. R. Buchert (Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf) ein spezielles Rekonstruktionsprogramm erstellt, das die Auswertung der Bilddaten jedes der neun Tiere einzeln und unabhängig voneinander ermöglicht. Die Aktivitätsverteilung wurde in 47 transaxialen Schnittbildern mit einem Schichtabstand von 3,4 mm in einer 128 x 128 Bildmatrix bei einem Zoom von 6,0 dargestellt.

### **2.2.4 <sup>18</sup>Fluor-Desoxy-Glukose (FDG)**

Als PET-Tracer wurde <sup>18</sup>Fluor-Desoxy-Glukose (FDG) verwendet. Das FDG wurde im Zyklotron der Deutschen Elektronen Synchrotron (DESY) in Hamburg erzeugt. Aufgrund der relativ kurzen Halbwertszeit, von 110 Minuten, muss das FDG täglich neu synthetisiert werden.

Für die optimale Aufnahme des Tracers war ein möglichst niedriger Insulinspiegel und ein herabgesetzter Glukosestoffwechsel des gesunden Gewebes notwendig [40]. Um dies zu erreichen wurde den Tieren mindestens sechs Stunden vor Beginn der PET-Untersuchung das Futter entzogen [15].

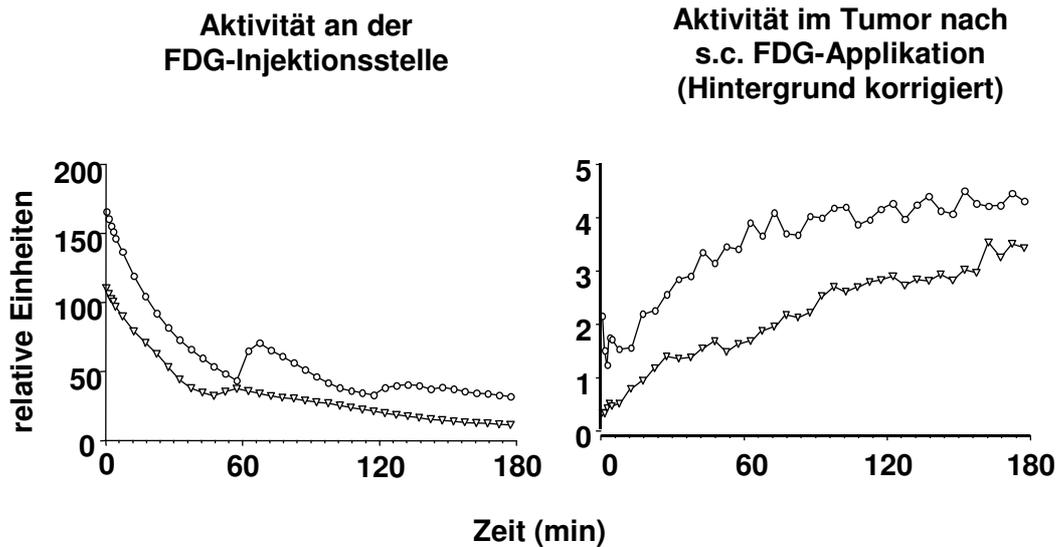


**Abbildung 6** FDG-Anreicherung in der Ratte

Drei Stunden nach subkutaner Injektion von FDG in den Nacken stellt sich die Anreicherung von FDG im subkutanen Depot (D) und im Tumor (T) am stärksten dar. Eine maximale FDG-Anreicherung stellt sich weiß dar (siehe Referenzskala rechts). Eine vermehrte Anreicherung von FDG findet sich darüber hinaus im Gehirn (H), im Herzen (M), in den Nieren (N) und in der Blase (B).

## 2.2.5 FDG-Applikation

Drei Stunden vor Untersuchungsbeginn wurde den Tieren 4,4 – 11,1 MBq (120 – 300  $\mu$ Ci) FDG in einem Volumen von ca. 0,5 – 0,8 ml, subkutan in den Nacken appliziert. In einer dieser Untersuchungen vorausgegangenen methodischen Voruntersuchung [17], wurde die Traceraufnahme nach subkutaner bzw. intravenöser Applikation miteinander verglichen. Eine intravenöse Applikation wäre methodisch optimal, ist aber experimentell im Tiermodell schwer umzusetzen. Die subkutane Applikation ist leichter durchzuführen, Voraussetzung für diese Applikationsform war jedoch eine gleichmäßige Verteilung des Tracers. Im Vergleich beider Applikationsformen zeigte sich, dass es auch bei subkutaner Injektion des Tracers zu einer raschen Abnahme der Aktivität am Injektionsort, bei gleichzeitiger Verteilung des FDG im gesamten Organismus und insbesondere im Tumor kommt (Abb.6 + 7A+B). Im Rahmen von dynamischen Messreihen wurde der geeignete Zeitpunkt der PET-Untersuchung nach subkutaner FDG-Applikation ermittelt. Nach ca. 100 - 180 Minuten hatte die Anreicherung im Tumor nahezu ein Plateau erreicht (Abb. 7 A+B). Der Untersuchungszeitpunkt für die PET wurde für diese Studie auf 180 Minuten nach der Injektion festgelegt.

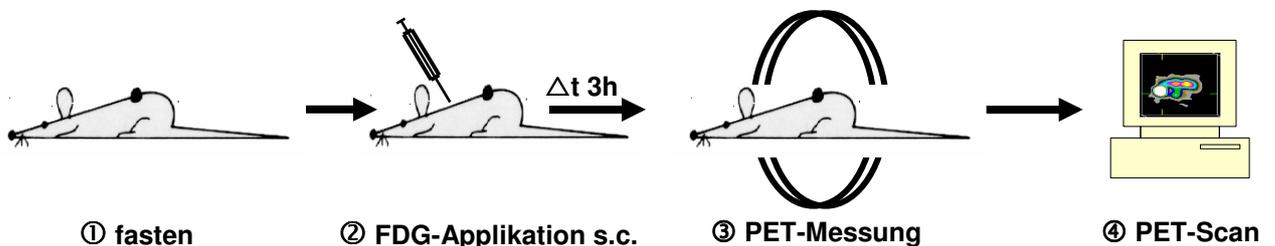


**Abbildung 7 A+B Umverteilung der FDG-Aktivität nach subkutaner Injektion gemessen über die Zeit an der FDG-Injektionsstelle und im Tumor (Abbildung aus [17])**

Die Kurven zeigen den Verlauf der durch FDG freigesetzten Gammastrahlung an der Injektionsstelle bzw. im R1H-Tumor in relativen Einheiten über die Zeit bei jeweils einem Tier mit zwei verschiedenen hohen Injektionsdosen. Nach Injektion nimmt die FDG-Aktivität am Injektionsort ab, parallel dazu nimmt die Aktivität im Tumor langsam zu und nähert sich einem Plateau. Bei höherer Anfangsdosis kommt es auch im Tumorgewebe zu einer verstärkten Anreicherung.

## 2.2.6 PET-Befundung

Wie in Kapitel 1.2. beschrieben reichert Tumorgewebe aufgrund seines erhöhten Glukosemetabolismus vermehrt FDG an. Diese erhöhte FDG-Akkumulation lässt sich in der PET sowohl farblich, als auch räumlich darstellen und weist damit indirekt auf das Vorhandensein eines Tumors hin. Abbildung 8 stellt ein vereinfachtes Schema der Abläufe während der PET-Messung und -Befundung dar.



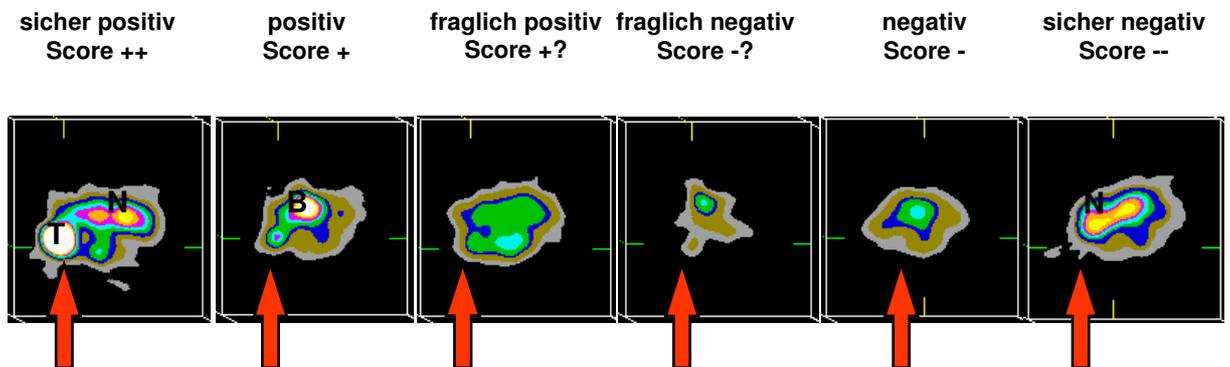
**Abbildung 8 Schema zum Untersuchungsablauf der einzelnen PET-Messungen**

① Nach einem mindestens sechsstündigen Futterentzug erfolgt ② die subkutane FDG-Applikation. Drei Stunden später erfolgt unter Kurznarkose ③ die PET-Messung und anschließend ④ die Befundung der PET-Scans am Computer.

Für die Untersuchung der Tiere mit PET wurde für diese Studie eine spezielle visuelle Bewertungsskala (Tab. 2) entwickelt. Kriterien für die Befundung anhand der Bewertungsskala waren:

1. **die Abgrenzbarkeit des Befundes** zur Umgebung und seine Symmetrie.
2. **Quantitativ**, das Ausmaß der **zentralen Aktivitäts-Anreicherung** in Prozent. Dies drückt sich in der Farbe des Befundes aus, so ist z.B. ein Befund mit maximaler Anreicherung (= 100%) weiß, eine geringe oder keine Aktivität stellt sich grau-schwarz dar.
3. **Ausdehnung in der axialen Ebene**, d.h. bildet sich die Anreicherung in mehreren Schichten ab?
4. **Darstellbarkeit im so genannten „Volume-Tool“**, bei dem sich die Lokalisation der Anreicherung gleichzeitig auf die transaxiale, die coronare und die sagittale Ebene beziehen lässt.

Die Bewertungsskala wurde in sechs Stufen unterteilt, die von einem „sicher positiven“ bis „sicher negativen“ Tumornachweis reichen. In Abbildung 9 sind charakteristische Beispiele für die einzelnen Befunde dargestellt.



**Abbildung 9 Beispiele für die Bewertungsskala zur Identifizierung des R1H-Tumors im PET**

Die Pfeile zeigen die Position, des erwarteten Tumorrezidivs an. Die maximale FDG-Anreicherung stellt sich weiß dar. Für jede Bewertung wurde exemplarisch ein typischer Befund gewählt, der den in der Tabelle 2 genannten Kriterien entspricht. Tumor (T), Blase (B), Nieren (N).

**Tabelle 2 Skala zur visuellen Beurteilung von PET-Befunden**

Anhand der Kriterien, der in dieser Tabelle aufgeführten Bewertungsskala, wurde jeder PET-Befund auf das Vorliegen bzw. den Ausschluss eines Tumors untersucht und entsprechend eingruppiert.

	<b>Sicher positiv</b>	<b>positiv</b>	<b>fraglich positiv</b>	<b>fraglich negativ</b>	<b>negativ</b>	<b>sicher negativ</b>
<b>Score</b>	++	+	+?	-?	-	--
<b>Abgrenzbarkeit</b>	großer, klar abgrenzbarer Befund	kleinerer, nicht so scharf abgrenzbarer Befund	kleiner, unscharf begrenzter Befund	ein, z.B. im Sinne einer Asymmetrie auffälliger Befund	leichte Asymmetrie im Querschnitt	symmetrische Schnittbilder
<b>Anreicherung</b>	zentral maximale Anreicherung (100%)	zentrale Anreicherung weniger stark, ca. 50-60%	zentrale Anreicherung < 50%	zentrale Anreicherung < 50%	im Verhältnis zur Umgebung gleichmäßige Aktivitätsverteilung	im Verhältnis zur Umgebung gleichmäßige Aktivitätsverteilung
<b>Verteilung über die Schichten</b>	In mehreren Schichten darstellbar	In mind. 2-3 Schichten darstellbar	Nur in 1-2 Schichten darstellbar	Nur in 1-2 Schichten darstellbar	entfällt	entfällt
<b>Darstellbarkeit im Volume-Tool</b>	im Volume-Tool eindeutig nachweisbar	im Volume-Tool eindeutig nachweisbar	im Volume-Tool nicht eindeutig darstellbar	im Volume-Tool nicht darstellbar	im Volume-Tool keine Auffälligkeiten	völlig unauffälliges Volume-Tool

## 2.3 Diagnostische Parameter

Die Güte eines diagnostischen Verfahrens wird durch die Parameter 1. Sensitivität, 2. Spezifität, 3. positiver prädiktiver Wert (PPW), 4. negativer prädiktiver Wert (NPW) und 5. die globale Testgenauigkeit bestimmt (siehe Formel 3). Ein positiver Nachweis in der PET mit nachfolgendem Tumorprogress wurde als „richtig positiv“ (rp) gewertet, eine negative Befundung in der PET mit nachfolgendem Progress als „falsch negativ“ (fn), ein

Tumorausschluss im PET mit klinischer Remission im Verlauf als „richtig negativ“ und ein Tumornachweis im PET mit nachfolgender klinischer Remission als „falsch positiv“ (fp).

Definition der oben genannten diagnostischen Parameter:

$$\text{Sensitivität} = \frac{rp}{rp + fn}$$

$$\text{Spezifität} = \frac{rn}{rn + fp}$$

$$\text{PPW} = \frac{rp}{rp + fp}$$

$$\text{NPW} = \frac{rn}{rn + fn}$$

$$\text{Testgenauigkeit} = \frac{rp + rn}{rp + fp + rn + fn}$$

**Formel 2 Diagnostische Parameter**

Die diagnostischen Parameter wurden nach den abgebildeten Formeln errechnet.  
rp = richtig positiv, rn = richtig negativ, fp = falsch positiv, fn = falsch negativ,  
PPW = positiver prädiktiver Wert, NPW = negativer prädiktiver Wert.

## 2.4 Untersuchung der Befundvariabilität

Insgesamt wurden ca. 600 PET-Befunde untersucht. Zur Überprüfung der intra-individuellen, sowie der inter-individuellen Befundvariabilität bei Verwendung der oben angegebenen Scala wurden ca. 200 PET-Befunde erneut verblindet untersucht. D.h. derselbe Untersucher (intra-individuell) musste die PET-Befunde erneut befunden, wobei die Tiernummern und die Untersuchungsnummern unkenntlich gemacht worden waren. Darüber hinaus wurden die Abbildungen von verschiedenen Untersuchern (inter-individuell) befundet. Die Auswertung dieser Befunde auf Konformität der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe des so genannten Kappa-Koeffizienten nach Cohen, der mit SPSS 6.1.3. für Windows® berechnet wurde.

### 2.4.1 Kappa-Koeffizient

Es gibt verschiedene statistische Verfahren, mit denen die Reproduzierbarkeit (Reliabilität) von Untersuchungsbefunden bei Befundung durch verschiedene Untersucher oder

bei Mehrfachbefundungen analysiert werden kann. In der Regel wird bei den meisten dieser Tests, wie z.B. dem McNemar-Test keine „Zufalls-Korrektur“ vorgenommen. Es muss aber davon ausgegangen werden, dass zwei Befunder bei einem gewissen Anteil an Untersuchungen schon rein zufällig den gleichen Befund erheben. Bei der Beurteilung eines Untersuchungsverfahrens zählt jedoch in erster Linie, ob die durch echte Kompetenz bedingte Übereinstimmung den Anteil dieser „Zufallstreffer“ bei der Befundung überschreitet.

Diese kompetenzbedingte Übereinstimmung insbesondere bei diagnostischen Verfahren, die mehr als zwei Kategorien beinhalten, wird mit Hilfe des so genannten Kappa-Koeffizienten nach Cohen bestimmt [34]. Dieses zufallskorrigierte Maß lässt sich in der folgenden Formel darstellen:

$$K = \frac{B - E}{100\% - E}$$

**Formel 3 Ermittlung des zufallskorrigierten K-Koeffizienten nach Cohen**

Vereinfachtes Beispiel für Zweifachbefundungen.  
 $B$  = beobachtete und  $E$  = per Zufall erwartete Übereinstimmungsanteile

Wird eine Übereinstimmung in allen Befundpaaren gefunden, so liegt der beobachtete Übereinstimmungsanteil ( $B$ ) bei 100%, dies entspricht einer maximalen Übereinstimmung mit  $K = 1$ . Entspricht der Übereinstimmungsanteil nur dem rein zufälligen Anteil an konkordanten Befunden, wird also  $B = E$ , so ergibt sich ein Übereinstimmungsanteil von  $K = 0$ . Ist  $K$  negativ, so spricht dies für eine deutliche Diskordanz der verschiedenen Befunder. Dies lässt sich auch auf die Übereinstimmung der Befunde bei wiederholter Befundung durch nur einen Befunder (intra-individuell) anwenden.

Um die Zuverlässigkeit eines diagnostischen Tests besser beurteilen zu können hat Landis die Übereinstimmungsanteile in verschiedene Kategorien unterteilt. Dabei hat er eine Übereinstimmung von  $K > 0,80$  als „fast vollständige Übereinstimmung“,  $0,60 < K < 0,80$  als „starke Übereinstimmung“ und  $0,40 < K < 0,60$  als „mäßige Übereinstimmung“ klassifiziert [35].

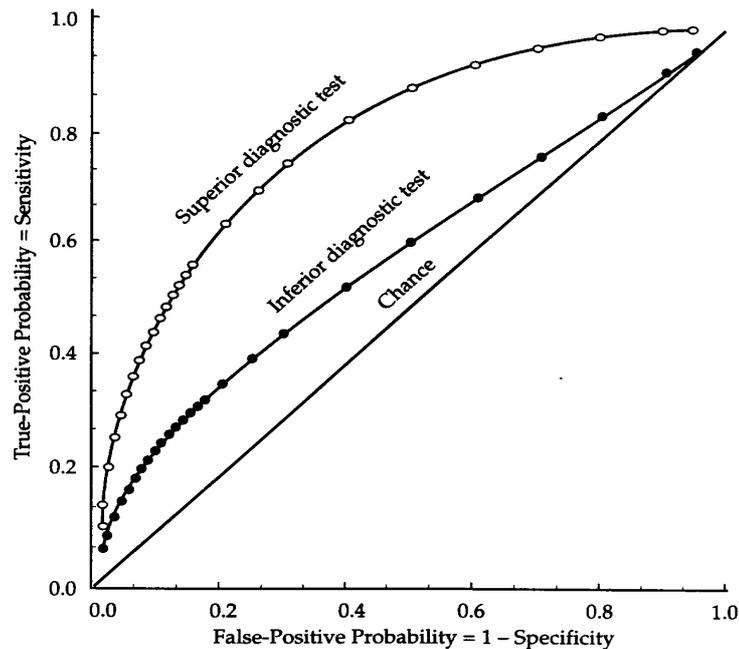
## **2.5 Receiver Operating Characteristics (ROC)**

Die so genannte ROC-Analyse (receiver operating characteristics) ist ein statistisches Verfahren, welches im Rahmen der Evaluation von radiologischen Befunden entwickelt

wurde. Mittlerweile hat dieses Verfahren in weiten Teilen der Medizin und Psychologie Eingang gefunden, um die Güte eines diagnostischen Testes zu bestimmen. Ziel der ROC-Analysen ist es zwischen der Leistungsfähigkeit eines diagnostischen Verfahrens und der Tendenz des Untersuchers einen Befund zu über- bzw. unterschätzen zu differenzieren.

Die in der Regel verwendeten Kriterien Sensitivität und Spezifität messen unabhängig voneinander die Genauigkeit eines Testes. Sollen aber z.B. zwei diagnostische Verfahren verglichen werden und weisen beide Verfahren unterschiedliche Resultate in Bezug auf 1. die Sensitivität, 2. den Anteil der richtig positiven Befunde, 3. die Spezifität und 4. den Anteil der richtig negativen Befunde auf, so ist es schwer die Leistungsfähigkeit der einzelnen Verfahren miteinander zu vergleichen, da die Unterschiede alleine auf einer mehr oder weniger strikten Nachweisgrenze basieren können.

In einer ROC-Analyse entsteht durch eine systematische Veränderung der Nachweisgrenze eine Anzahl von gepaarten Sensitivitäts-/ Spezifitätswerten, welche graphisch, in einer so genannte ROC-Kurve (Abb. 10) dargestellt werden können. Dabei werden die richtig positiven gegen die falsch positiven Werte aufgetragen. Werte, die entlang einer diagonalen Geraden fallen, reflektieren Resultate, die auch zufällig bedingt sein könnten. Je höher die ROC-Kurve über der Diagonalen liegt, desto größer ist die Leistungsfähigkeit des diagnostischen Verfahrens (siehe Abb. 10). Je weiter die Kurve nach oben links verlagert ist, desto geringer ist der Anteil von falsch positiven Befunden im Verhältnis zu richtig positiven Befunden. Entsprechend ist bei einer ROC-Kurve, die in Höhe der Diagonalen oder in Richtung auf die rechte obere Ecke verläuft von einem minderwertigen diagnostischen Verfahren, oder einer zu großzügigen Nachweisgrenze auszugehen [38]. Beim Testvergleich ist der Test mit der größten Fläche unterhalb der ROC-Kurve der diagnostisch bessere Test.



**Abbildung 10 Schematische Darstellung einer ROC-Kurve [38]**

In der Graphik sind die richtig positiven gegen die falsch positiven Werte aufgetragen, hieraus ergibt sich eine charakteristische Kurve für den diagnostischen Test. Die Fläche unterhalb der Kurve ist ein Maß für die Güte und die Leistungsfähigkeit des diagnostischen Verfahrens.

## 2.6 Endpunkte

Als primärer Endpunkt diente in dieser Arbeit die Diagnose eines Rezidivs mittels Volumenbestimmung. Die sichere Diagnose eines Rezidivs setzt die Kenntnis eines entsprechenden Grenzwertes voraus. Aufgrund der langjährigen Erfahrung mit dem verwendeten Tumormodell, war der Rezidivnachweis mittels Volumetrie gesichert, wenn ein Rezidivvolumen von  $\geq 0,09 \text{ cm}^3$  erreicht war. Wenn ein Tumolvolumen die  $0,09 \text{ cm}^3$  nicht unterschritten hat, spricht dies für eine Tumorpersistenz. Für die Diagnose mittels PET wurde der Grenzwert zur sicheren Rezidivdiagnose mit Hilfe der ROC-Analysen definiert (Kap. 3.13.).

### **3 Ergebnisse**

Ziel dieser Arbeit war es, die Aussagekraft der Positronen-Emissions-Tomographie bei der Diagnose von Tumoren und ihren Rezidiven nach fraktionierter Bestrahlung am Beispiel des R1H-Tumors zu untersuchen. Hierzu wurden die PET-Befunde mit der Volumetrie des Tumors verglichen (Kap. 2.1.3.). Im Folgenden werden die Wachstumskurven der Tumoren bzw. der lokalen Kontrollen untersucht und zu den jeweiligen PET-Untersuchungen in Beziehung gesetzt.

#### **3.1 Therapieansprechen**

Insgesamt 25 Tieren wurde ein Tumor transplantiert. Fünf Tiere verstarben z.B. während der Narkose, so dass die Befunde von insgesamt 20 Tieren ausgewertet werden konnten. Von diesen 20 kam es bei zwölf Tieren (60%) zu einem Rezidiv, während acht Tiere (40%) bis zum Ende der Studie sowohl im PET, als auch in der Volumenkontrolle eine lokale Kontrolle aufwiesen.

#### **3.2 Überlebenszeit**

Die mediane Überlebenszeit aller Tiere betrug nach Beginn der sechswöchigen Strahlentherapie 204 Tage (Streubreite 140 - 293 Tage). Die Überlebenszeit der Tiere mit Tumorrezidiv (n=12; Median 189 Tage, Streubreite 140 – 232 Tage) war insgesamt kürzer, da sie bei Erreichen einer Tumorgröße von ca. 15 cm<sup>3</sup>, oder bei Beschwerden aus ethischen Gründen getötet wurden. Bei den Tieren (n=8), mit lokal kontrollierten Tumoren, lag die mediane Überlebenszeit bei 234 Tagen (Streubreite 140 - 293 Tage).

#### **3.3 Volumetrie**

Bei allen 25 Tieren, kam es zu einem Anwachsen der Tumoren. Die Tumorverdopplungszeit lag bei ca. vier Tagen. Zum Zeitpunkt des Therapiebeginns ca. drei Wochen nach Tumorimplantation hatten die Tumoren ein Volumen, das im Median 0,64 cm<sup>3</sup> (Streubreite 0,29 – 1,99 cm<sup>3</sup>) betrug.

#### **3.4 Verlauf während Therapie**

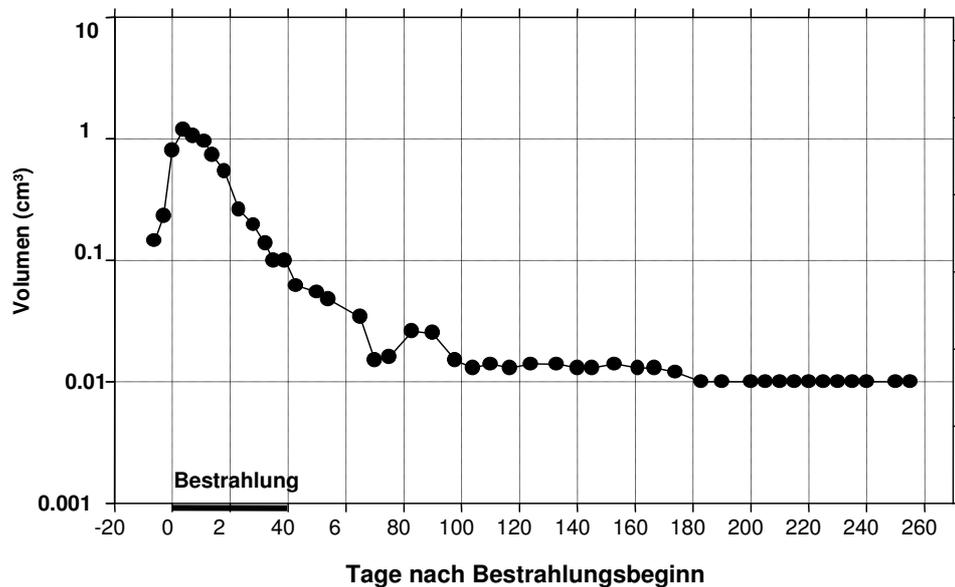
Während der Therapie kam es anfänglich noch zu einer Größenzunahme der Tumoren, das Maximum war am 5. Tag (Streubreite 0 – 12. Tag) nach Therapiebeginn mit einem Volumen von 1,11 cm<sup>3</sup> (Streubreite: 0,56 – 2,04 cm<sup>3</sup>) erreicht. Zwischen Tag 8 und 15 stellte sich bei den meisten Tieren eine Plateauphase im Tumorwachstum ein, die im

Median bei einem Volumen von  $0,84 \text{ cm}^3$  (Streuung:  $0,21 - 2,04 \text{ cm}^3$ ) lag. Ab dem 15. Tag kam es zu einer kontinuierlichen Abnahme der Volumina. Nach 40 Tagen, am Ende der Therapie lag das Tumolvolumen zwischen  $0,02 - 0,09 \text{ cm}^3$  (Median  $0,09 \text{ cm}^3$ ).

### 3.5 Verlauf nach Therapieende

#### 3.5.1 Lokal kontrollierte Tumoren

Bei acht Tieren blieb der Tumor nach Strahlentherapie lokal kontrolliert. Abbildung 11 zeigt exemplarisch die volumetrisch bestimmte Tumorstadiumskurve eines Tieres ohne Tumorrezidiv halblogarithmisch über einen Zeitraum von 260 Tagen.



**Abbildung 11 Tumorstadiumskurve eines lokal kontrollierten Tumors**

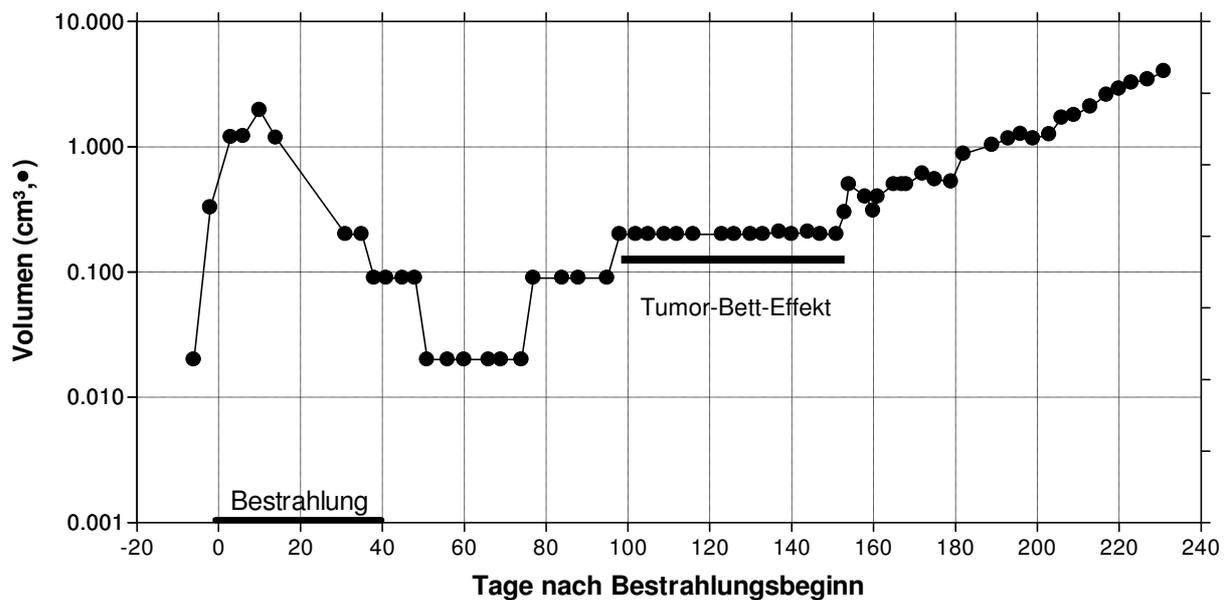
Das errechnete Tumorstadium ist halblogarithmisch gegen die Zeit aufgetragen. Unter Bestrahlung kommt es zunächst noch zu einem weiteren Anwachsen des Tumors. Nach wenigen Tagen zeigt sich jedoch ein kontinuierlicher Abfall des Tumorstadiums bis unterhalb der Nachweisgrenze.

#### 3.5.2 Rezidivtumoren

Nach Strahlentherapie schrumpften zunächst auch die rezidivierenden Tumoren unterhalb der Nachweisgrenze, dann kam es zu einem erneuten Anwachsen der Tumoren. Die Wachstumsgeschwindigkeit der Rezidivtumoren ähnelte der Geschwindigkeit beim Anwachsen der Tumoren vor Therapiebeginn. Nach ca. zwei bis drei Wochen kam es, bedingt durch den in Kapitel 2.1.5 beschriebenen „Tumor-Bett-Effekt“, zu einer Stagnation des Tumorstadiums (s. Abb. 12).

Bei den zwölf Tieren, die ein Tumorrezidiv entwickelten, wurde dies in der volumetrischen Messung im Median nach 77 Tage (Streuung 60. – 128. Tagen) bei einem Volumen > 0,09 cm<sup>3</sup> gesichert. Exemplarisch ist in Abbildung 12 die Wachstumskurve eines Tieres mit Tumorrezidiv dargestellt.

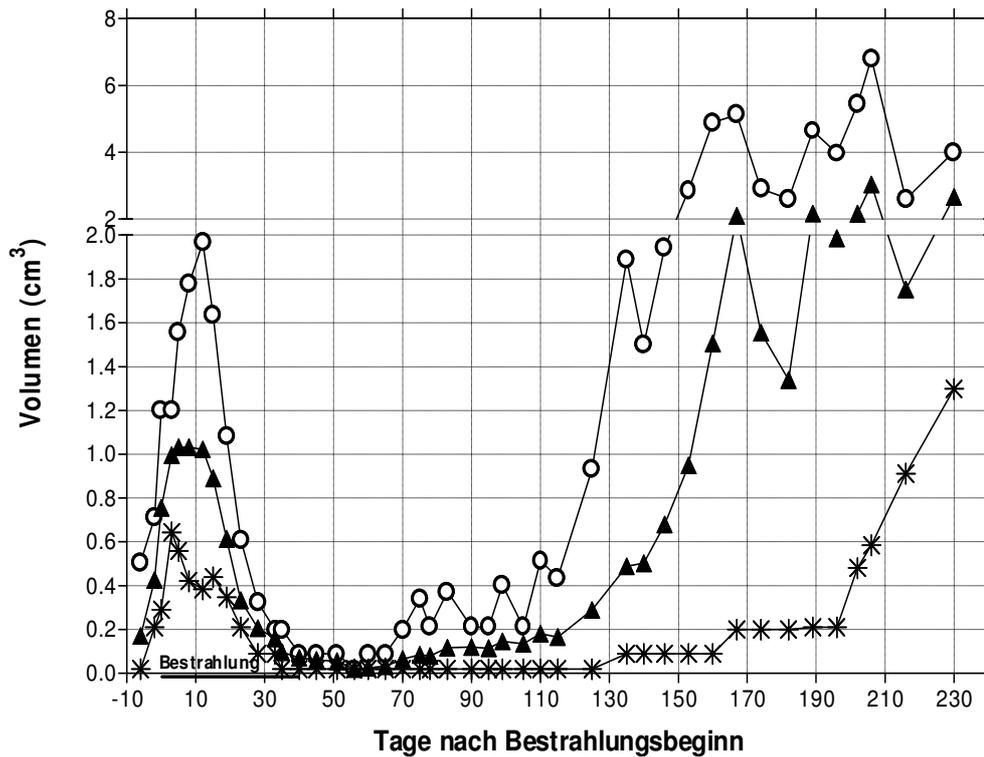
Einige der Rezidive zeigten zwischen dem 80. und dem 140. Tag einen ausgeprägten „Tumor-Bett-Effekt“. Während dieser Zeit kam es zu einer Plateauphase im Größenwachstum der Rezidivtumoren. Nach Überschreiten dieser Phase wuchsen die Tumoren kontinuierlich weiter an.



**Abbildung 12 Tumorwachstumskurve bei einem Tier mit Tumorrezidiv**

Das Tumolvolumen ist halblogarithmisch gegen die Zeit aufgetragen. Unter Therapie wächst der Tumor zunächst noch an und schrumpft dann bis unterhalb der Nachweisgrenze. Um den 80. Tag ist der Tumor erstmals wieder nachweisbar. Die lange Plateauphase in der Größenzunahme entspricht dem „Tumor-Bett-Effekt“

Abbildung 13 stellt eine kumulative Wachstumskurve aller Rezidive dar. Nach 170 Tagen kommt es zu einem Absinken des medianen Tumolvolumens, dies ist durch das Ausscheiden der Tiere mit einem frühen Tumorrezidiv bedingt. Die Kurve der minimalen Tumolvolumina zeigt, dass es bei einigen Tiere zu einem recht langsamen Anwachsen der Tumoren gekommen ist, wahrscheinlich bedingt durch einen ausgeprägten „Tumor-Bett-Effekt“, ab dem 200. Tag kam es dann zu einem sprunghaften Anwachsen der Tumoren.

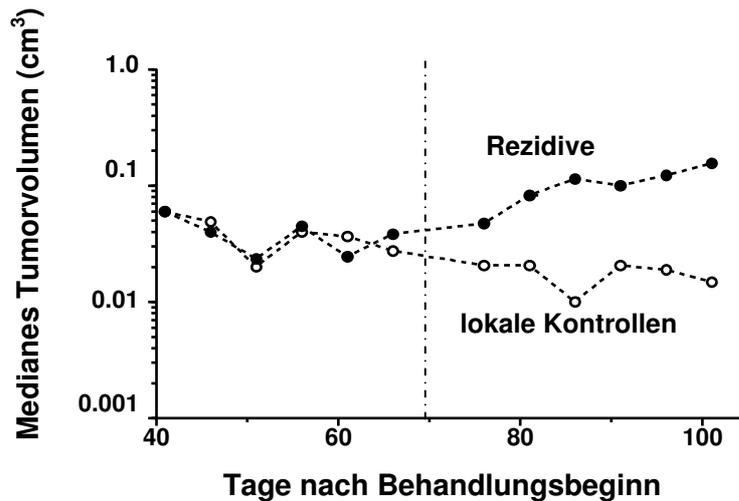


**Abbildung 13 Kumulative Wachstumskurve bei Tumorrezidiv (n = 12)**

Dargestellt sind jeweils das mediane ( $\blacktriangle$ ), das Minimal- ( $*$ ) und das Maximalvolumen (O) vor, während und nach fraktionierter Bestrahlung, aufgetragen gegen die Zeit. Im Verlauf verstarben alle 12 Tiere, dies erklärt die starken Schwankungen insbesondere im Median, da in der Regel die Tiere mit den größeren Tumoren auch früher ausschieden.

### 3.6 Vergleich der Wachstumskurven

Im Vergleich der medianen Wachstumskurven der rezidivierenden und der lokal kontrollierten Tumoren (Abb. 14), zeigt sich, dass bis zum ca. 60. Tag nach Therapiebeginn beide Kurven einen nahezu parallelen Verlauf aufweisen. Ab dem 70. Tag steigt das mediane Volumen der Rezidive kontinuierlich an, während das der lokalen Kontrollen weiter abnimmt.



**Abbildung 14 Vergleich der medianen Wachstumskurven von R1H-Tumoren**

Rezidive (●) wachsen ab dem 60. Tag kontinuierlich an, während die lokalen Kontrollen (○) kontinuierlich weiter schrumpfen.

Nach Ende der Strahlentherapie fand sich bei den meisten Tieren (n=14) noch ein tastbarer Tumor. Bei sechs Tieren lag das Tumolvolumen unterhalb von 0,09 cm<sup>3</sup>, drei von diesen sechs Tieren entwickelten ein Rezidiv.

### 3.7 Befundung mittels PET

### 3.8 PET vor Therapiebeginn

Bei allen untersuchten Tieren gelang vor Therapiebeginn ein sicherer Tumornachweis mittels PET, dabei erhielten alle Tiere die Beurteilung „sicher positiv“ (Score „++“), also den höchst möglichen Score für den Tumornachweis, welcher als Ausdruck einer intensiven FDG-Anreicherung im Tumorgewebe zu werten ist.

### 3.9 PET während Strahlentherapie

Die Befundung der PET-Untersuchungen erfolgte mit der in Kapitel 2.2.6. eingeführten visuellen Bewertungsskala. Bis zum 20. Tag nach Therapiebeginn wurde der Tumor bei allen Tieren sicher nachgewiesen. Am 20. Tag kommt es in der Bewertung erstmals zur Vergabe der Beurteilung „positiv“ (Score „+“; n= 6) und „fraglich positiv“ (Score „+?“; n=1), im Median lag die Beurteilung bei „sicher positiv“.

Im weiteren Verlauf der Therapie kommt es zu einer deutlichen Verringerung, sowohl der FDG-Anreicherung im Tumorgewebe, als auch der Abgrenzbarkeit des Tumors gegenüber dem umliegenden Gewebe. Nach 43 Tagen, am Ende der Therapie wurde nur in einem Fall ein „positiver“ Tumornachweis erbracht. Neun Tiere hatten einen „fraglich po-

sitiven“ Befund, bei den verbleibenden zehn Tieren ließ sich kein Tumor mehr nachweisen. Aus einem negativen PET-Befund am Ende der Strahlentherapie ließ sich keine Aussage über eine andauernde lokale Kontrolle der Tumoren treffen, da es bei acht dieser Tiere im Verlauf zu einem Rezidiv kam.

### **3.10 PET als Therapiekontrolle**

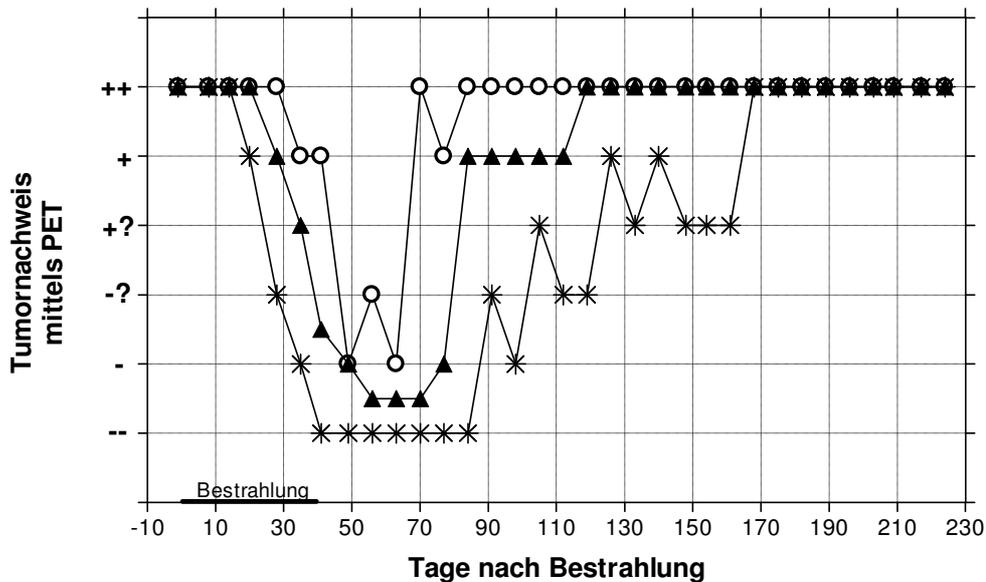
#### **3.10.1 PET bei lokal kontrollierten Tumoren**

Bei den Tieren mit lokal kontrollierten Tumoren ließ sich bei sieben von acht Tieren ab dem 34. Tag nach Therapiebeginn im PET kein Wert über „fraglich negativ“ mehr nachweisen (Score  $\leq$  „-?“). Bei einem Tier (Nr. 18 siehe Anhang) fanden sich bei Therapieende und im Verlauf am 70. und am 98. Tag „fraglich positive“ Befunde (Score „+?“). Im weiteren Verlauf blieb dieses Tier jedoch bis zum Tag 288 nach Therapiebeginn in der Volumetrie und der PET-Untersuchung rezidivfrei.

#### **3.10.2 PET bei Tumorrezidiven**

Bei den Tieren mit Tumorrezidiv ließ sich noch bei fünf von zwölf Tieren bei Therapieende eine FDG-Ansammlung im PET nachweisen (Score  $\geq$  „+?“). Bei allen Tieren war die Befundung im Verlauf jedoch negativ. Tumorrezidive ließen sich im PET erstmals zwischen dem 69. – 117. Tag nach Therapiebeginn nachweisen (Median 85 Tage). Bei vereinzelten Tieren kam es noch bis zum 162. Tag zu „fraglich positiven“ Befunden (Score „+?“). Erst nach dieser Zeit waren alle Rezidive sicher nachweisbar. Der früheste sichere Tumornachweis gelang bereits am 70. Tag nach Therapiebeginn, das am spätesten nachweisbare Rezidiv war erst ab dem 90. Tag zu erkennen. Ein falsch positiver PET-Befund wurde zu keinem Zeitpunkt erhoben. Bei fünf von sechs Tieren mit einem persistierenden FDG-Nachweis bei Therapieende entwickelte sich ein Tumorrezidiv, obwohl es bei all diesen Tieren im Verlauf mindestens einmal zu einem negativen Befund im PET gekommen war. Das bedeutet, dass ein FDG-Nachweis im PET bei Therapieende, mit einer hohen Rate von Tumorrezidiven im Verlauf verbunden war.

Abbildung 15 stellt graphisch die kumulativen PET-Befunde der Tiere mit Tumorrezidiv vor, während und nach der Strahlentherapie dar.

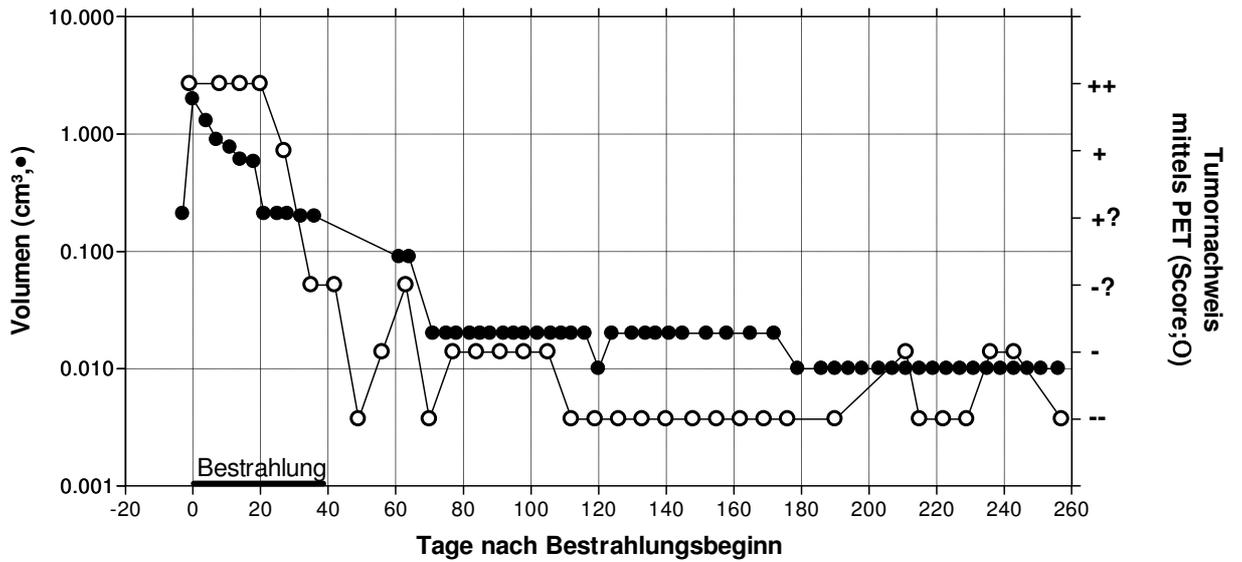


**Abbildung 15 Tumornachweis mittels PET bei Tieren mit Tumorrezidiv nach Strahlentherapie (n=12)**

Als Bewertungsgrundlage wurde die in Tabelle 2 (Kap. 2.2.6.) gezeigte Bewertungsskala verwendet. Dargestellt sind jeweils der Median (▲), sowie der Minimal- (\*)- und der Maximalwert (○). („++“ = „sicher positiv“, „+“ = „positiv“, „+?“ = „fraglich positiv“, „-?“ = „fraglich negativ“, „-“ = „negativ“, „--“ = „sicher negativ“).

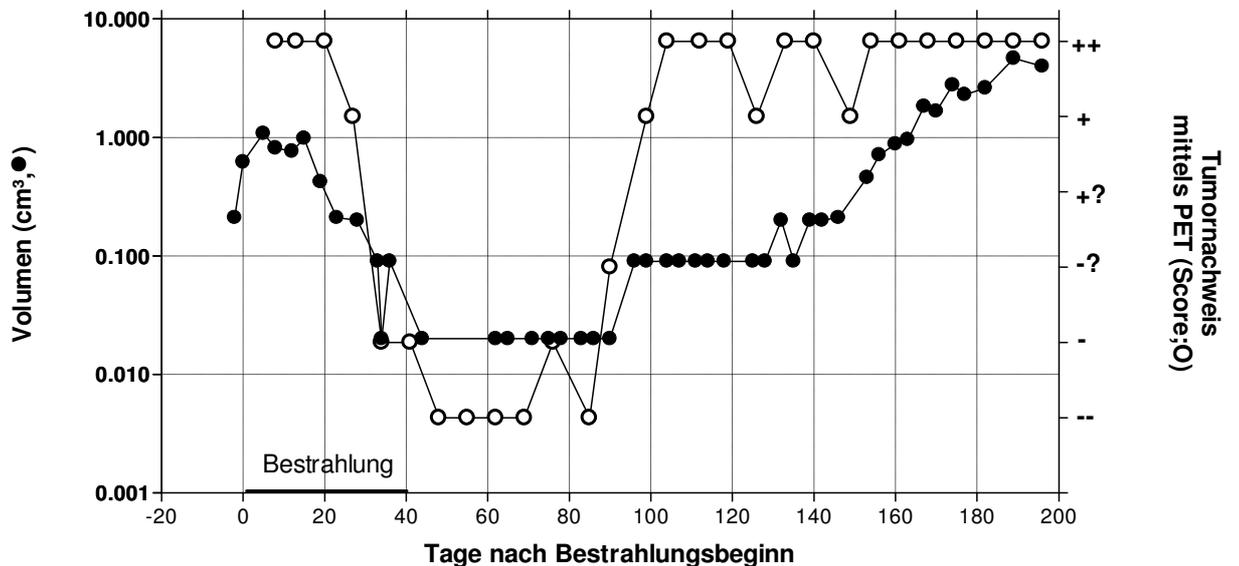
### 3.11 Korrelation der PET-Befunde mit den Tumorumlumina

Zur Beantwortung der Frage welche Methode den früheren Tumornachweis ermöglicht, wurden für jedes Tier die gemessenen Tumorumlumina den PET-Befunden sowohl tabellarisch, als auch graphisch gegenübergestellt (siehe Anhang). Es wurde jeweils der Zeitpunkt bestimmt, an dem anhand der im PET gemessenen FDG-Anreicherung bzw. in der Volumetrie ein Rezidivnachweis erfolgte. Die Wachstumskurven der Tumoren und die Kurven der skalierten PET-Befunde verlaufen weitestgehend parallel, eine Abnahme des Tumorummens nach Bestrahlung findet ihre Entsprechung in negativen PET-Befundungen. Die Abbildungen 16 und 17 zeigen exemplarisch je ein repräsentatives Beispiel für einen lokal kontrollierten Tumor (Abb. 16) und für ein Tumorrezidiv (Abb. 17). Dargestellt ist die Entwicklung des Tumorummens (●) und der skalierten PET-Befunde (○) vor, während und nach Therapiebeginn.



**Abbildung 16 Vergleich der Tumolvolumina und der PET-Befunde bei einem Tier mit lokal kontrolliertem Befund**

Exemplarische Darstellung eines Tieres mit lokal kontrolliertem Befund. Das Tumolvolumen (●) und die mittels PET (O) nachgewiesene FDG-Anreicherung im Tumor sind halblogarithmisch über die Zeit dargestellt. Das Volumen sinkt bis auf 0,01 cm<sup>3</sup> ab, bei negativen („-“ oder „-“) Befunden im PET.

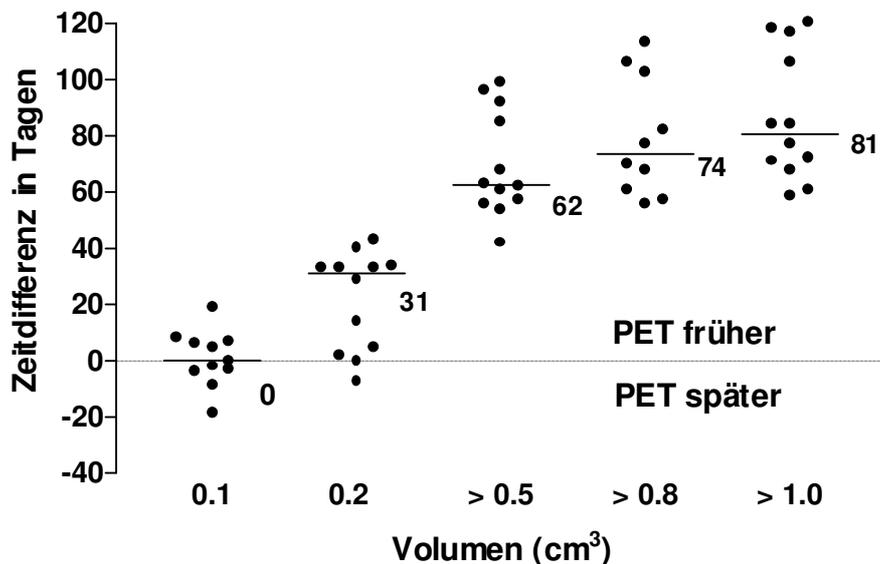


**Abbildung 17 Vergleich der Tumolvolumina und der PET-Befunde bei einem Tier mit Tumorrezidiv**

Exemplarische Darstellung eines Tieres mit Tumorrezidiv. Das Tumolvolumen (●) und die skalierten PET-Befunde (O) als Ausdruck der FDG-Anreicherung im Tumor, sind halblogarithmisch über die Zeit dargestellt.

### 3.12 Zeitvorteil beim Rezidivnachweis durch PET

Im Hinblick auf die Frage, ob durch die FDG-Messung im PET ein Tumornachweis früher als durch eine Bestimmung der Volumenzunahme gelingt, wurden die PET-Befunde erneut in Beziehung zu den gemessenen Tumorumfängen gesetzt. Hierzu wurde jeweils der Zeitpunkt des frühesten Rezidivnachweises durch PET im Vergleich zur Volumetrie bestimmt. Als Nachweisgrenze im PET diente, abgeleitet aus den Ergebnissen aus den ROC-Analysen (Kap. 3.13.), die Bewertung „fraglich positiv“ (+?). Darüber hinaus wurden die positiven PET-Befunde zu verschiedenen definierten Tumorumfängen (0,1, 0,2, >0,5, >0,8 und >1,0 cm<sup>3</sup>) in Beziehung gesetzt. Für die einzelnen Volumina wurde die Zeitdifferenz zwischen dem sicheren Tumornachweis im PET und dem Erreichen des jeweiligen Tumorumfanges in Tagen berechnet (s. Abb. 18).



**Abbildung 18** Zeitdifferenz in Tagen zwischen dem Tumornachweis durch PET und dem Erreichen der jeweiligen Tumorumfänge

Verschiedene Tumorumfänge (0,1, 0,2, > 0,5, > 0,8 und >1,0 cm<sup>3</sup>) wurden mit dem Zeitpunkt des Rezidivnachweises im PET in Beziehung gesetzt. Oberhalb der gestrichelten Linie erfolgte der Rezidivnachweis im PET früher, unterhalb der Linie später, als durch die Volumenbestimmung. Die Balken kennzeichnen den Median (Nachweisgrenze PET „fraglich positiv“ (+?)).

Anmerkung: Bei einem Tier schrumpfte der Tumor nicht unter 0,1 cm<sup>3</sup> aus diesem Grund zeigt die Abbildung bei 0,1 cm<sup>3</sup> nur elf Datenpunkte.

Alle Datenpunkte oberhalb der gestrichelten Linie zeigen individuelle Tumorzidive, die mittels PET früher, als durch die Volumenmessung nachweisbar waren. Bei einem Endpunkt vom 0,1 cm<sup>3</sup> (Ø ca. 5 mm) war weder für die PET, noch für die Volumenbestimmung (Median 0 Tage; Streubreite: PET 19 Tage später - PET 19 Tage früher als Volumetrie) ein Vorteil festzustellen. Ab einem Grenzwert von 0,2 cm<sup>3</sup> (Ø ca. 7 mm) gelingt bei einem Median von 31 Tagen (Streubreite: 7 - 43 Tage) in der PET bereits ein deutlich

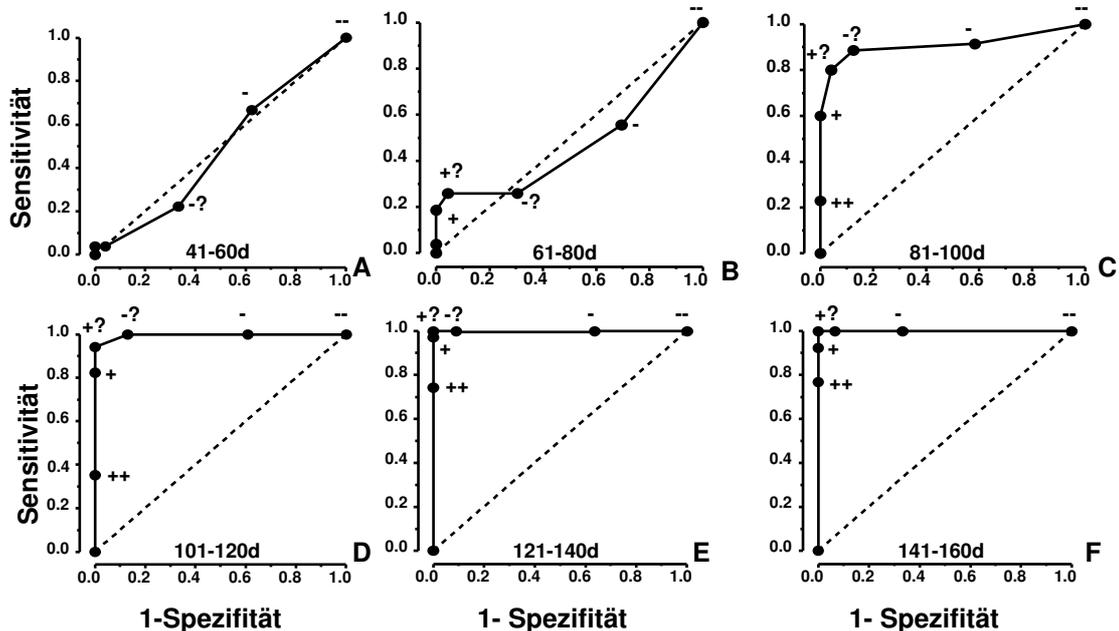
früherer Rezidivnachweis, als durch die Volumetrie. Diese Tendenz setzt sich bei steigenden Volumina fort und erreicht bei einem Endpunkt von  $>1,0 \text{ cm}^3$  im Median einen Zeitvorteil von 81 Tagen (Streubreite: 59 - 120 Tage). Damit zeigte die PET, nach fraktionierter Bestrahlung ab einem Grenzvolumen von  $0,2 \text{ cm}^3$ , gegenüber der Volumetrie einen deutlichen Zeitvorsprung im Rezidivnachweis.

### 3.13 Receiver Operating Characteristics (ROC)

Wie bereits in Kapitel 2.5. erläutert ist die ROC (Receiver Operating Characteristics) eine geeignete Methode, um die Güte eines diagnostischen Testes zu ermitteln, indem sie die Ergebnisse von Sensitivität und Spezifität simultan bewertet.

#### 3.13.1 Optimaler Untersuchungszeitpunkt

Die ROC-Analyse wurde in diesem Fall verwendet, um den optimalen Untersuchungszeitraum und den optimalen Grenzwert des Tumolvolumens für den Tumornachweis zu ermitteln. Zu diesem Zweck wurde die Sensitivität gegen die Spezifität der einzelnen Bewertungsscores in einer ROC-Kurve gegeneinander aufgetragen.



**Abbildung 19 A-F ROC-Kurven für den Nachweis von rezidivierenden R1H-Tumoren durch PET bezogen auf den Untersuchungszeitpunkt**

Dargestellt sind in den Graphen A-F jeweils 20-Tage-Intervalle nach Ende der Strahlentherapie. Die Wahrscheinlichkeit für ein richtig positives Ergebnis (Sensitivität) wurde gegen die Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Ergebnisses (1-Spezifität) für die verschiedenen Grenzwerte des PET-Scores (s. Kap. 2.2.6.) aufgetragen. Je weiter sich eine Kurve in die linke obere Ecke verschiebt, desto zuverlässiger ist das Untersuchungsergebnis. Mit zunehmender Dauer nach Therapiebeginn wurde die PET immer aussagekräftiger.

(„++“ = „sicher positiv“, „+“ = „positiv“, „+?“ = „fraglich positiv“,  
 „-?“ = „fraglich negativ“, „-“ = „negativ“, „--“ = „sicher negativ“)

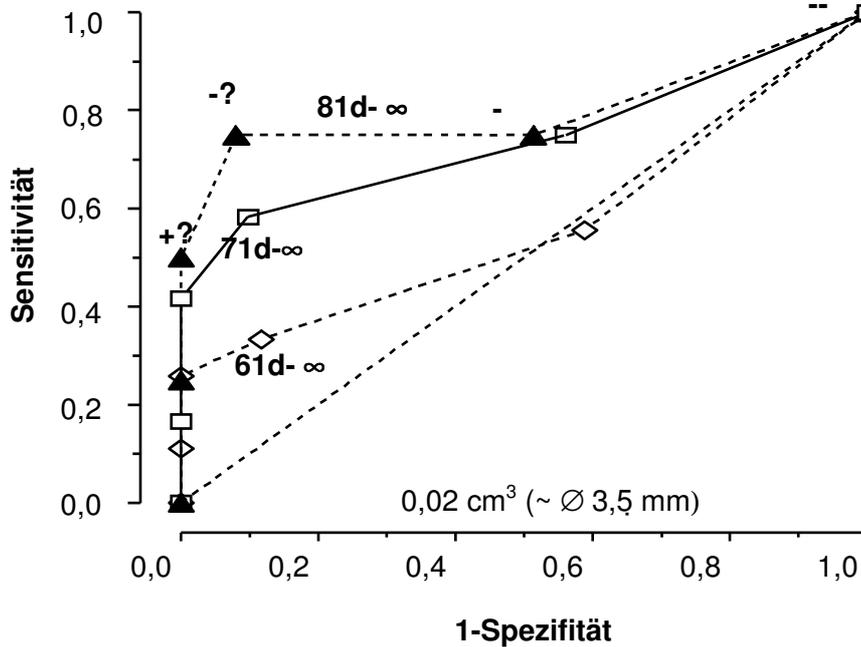
Abbildung 19 A-F zeigt sechs verschiedene ROC-Kurven für den Untersuchungszeitraum vom 41. bis zum 160. Tag, beginnend direkt nach Ende der Strahlentherapie. Jede einzelne Abbildung repräsentiert einen Zeitraum von 20 Tagen. Kurven, die entlang der gestrichelt gezeichneten Diagonalen verlaufen, entsprechen der Zufallswahrscheinlichkeit. Je weiter ein Punkt in der linken oberen Ecke liegt und je größer die Fläche unter der ROC-Kurve wird, desto zuverlässiger ist das Untersuchungsergebnis. Die ROC-Kurven der PET-Untersuchungen, die zwischen dem 41. – 60. Tag (Abbildung 19 A), sowie zwischen dem 61. - 80. Tag (Abbildung 19 B) ausgeführt wurden verlaufen annähernd entlang der Diagonalen. Sie entsprechen zufälligen Befunden und haben folglich keinen diagnostischen Nutzen. Ab dem 81. Tag nach Therapiebeginn stellen sich nahezu perfekte ROC-Kurven dar. Die optimale Bewertungsgrenze für den Tumornachweis ist entsprechend dieser Berechnungen der Befund „fraglich positiv“ (Score „+?“). Dieser Score ermöglicht im Zeitraum vom 81. - 100. Tag in 91,7% und im Zeitraum vom 100. – 120. Tag in 95% richtig positive Befunde, d.h. dass alle Tiere, die einen Score größer oder gleich „+?“ aufwiesen ein Rezidiv ausbildeten. Nur einmalig gab es im Zeitraum 81. – 100. Tag einen falsch positiven Befund (1,6%), bei einem Tier, welches einen Score „+?“ erhielt, im Verlauf aber einen lokal kontrollierten Tumor aufwies. Ab dem 120. Tag lagen in 100% richtig positive Befunde vor.

### 3.13.2 Optimales Tumolvolumen

In einer weiteren ROC-Analyse wurde der Einfluss des Tumolvolumens auf die Genauigkeit der PET überprüft. Für die Analysen wurden Tumolvolumina von  $0,02 \text{ cm}^3$  ( $\varnothing$  ca. 3,5 mm) und  $0,09 \text{ cm}^3$  ( $\varnothing$  ca. 5,8 mm) verwendet. ROC-Analysen für Volumina größer als  $0,09 \text{ cm}^3$  lassen sich nicht berechnen, da die lokal kontrollierten Tumoren nach Therapieende in der Volumetrie nie größer als  $0,09 \text{ cm}^3$  waren. Falsch negative Befunde bei einem Volumen über  $0,09 \text{ cm}^3$  traten nicht auf.

Ab dem 61. Tag nach Therapiebeginn, also 21 Tage nach Therapieende, wurden mit einem Abstand von jeweils zehn Tagen bis zum Ende der Beobachtung drei verschiedene Untersuchungszeiträume gebildet (Abb. 20 + 21). Abbildung 20 zeigt die ROC-Kurve für Rezidive mit einer Größe von  $0,02 \text{ cm}^3$  berechnet für Zeiträume ab dem 61. Tag, sowie ab dem 71. und 81. Tag. Der Nachweis von Tumoren dieser Größe ist somit stark vom Zeitpunkt der Untersuchung abhängig und wird umso sicherer, je später er erfolgt. Untersuchungen ab dem 61. Tag nach Therapiebeginn zeigen eine ROC-Kurve, die nur wenig

besser als die Zufallswahrscheinlichkeit ist. Auch bei PET-Untersuchungen ab dem 71./ 81. Tag ist die Rate, insbesondere der „falsch negativen“ Befunde noch relativ hoch.

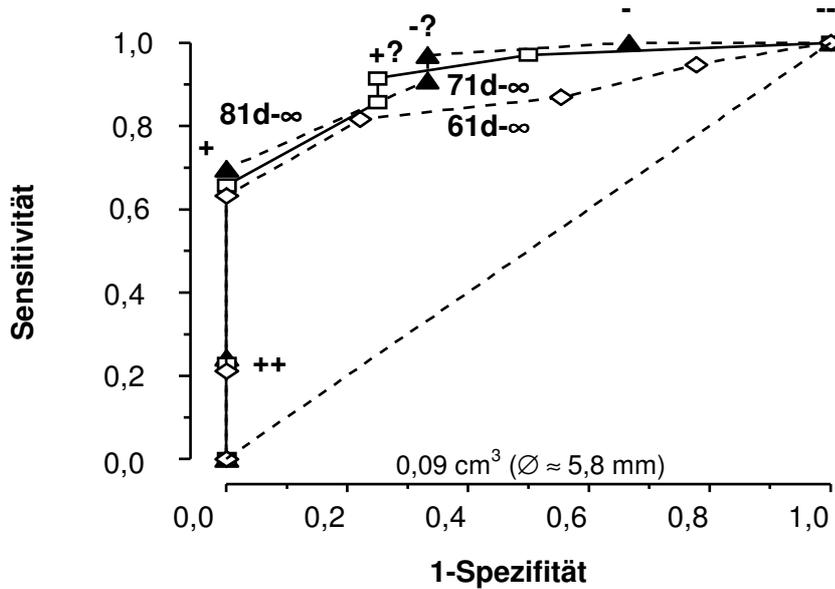


**Abbildung 20** ROC-Kurve rezidivierender R1H-Tumoren mit einem Volumen von  $0,02 \text{ cm}^3$  ( $\sim \varnothing 3,5 \text{ mm}$ ) ab dem 61. Tag nach Strahlentherapie untersucht mit der PET

Die Untersuchungszeiträume wurden ab dem 61. bis zum 81. Tag nach Therapiebeginn jeweils zeitversetzt im Abstand von 10 Tagen gewählt (61. Tag bis  $\infty = \diamond$ , 71. Tag bis  $\infty = \square$ , 81. Tag bis  $\infty = \blacktriangle$ ). Die Wahrscheinlichkeit für ein richtig positives Ergebnis (Sensitivität) wurde gegen die Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Ergebnisses (1-Spezifität) für die verschiedenen Grenzwerte des PET-Scores aufgetragen. Der Nachweis von Rezidivtumoren von  $0,02 \text{ cm}^3$  zeigt eine deutliche Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Untersuchung.

„++“ = „sicher positiv“, „+“ = „positiv“, „+?“ = „fraglich positiv“,  
 „-?“ = „fraglich negativ“, „-“ = „negativ“, „--“ = „sicher negativ“

Analog zu Abbildung 20 zeigt Abbildung 21 die ROC-Kurve für Rezidive von  $0,09 \text{ cm}^3$  berechnet für Zeiträume ab dem 61. Tag. Für Tumorumfänge dieser Größe liefert das PET wesentlich bessere Ergebnisse, dabei spielt der Zeitpunkt der Untersuchung kaum eine Rolle, die ROC-Kurven verlaufen annähernd parallel.



**Abbildung 21** ROC-Kurve rezidivierender R1H-Tumoren von  $0,09 \text{ cm}^3$  ( $\sim \text{Ø } 5,8 \text{ mm}$ ) ab dem 61. Tag nach Strahlentherapie untersucht mit PET

Die Untersuchungszeiträume wurden ab dem 61. bis zum 81. Tag nach Therapiebeginn jeweils zeitversetzt im Abstand von 10 Tagen gewählt (61. Tag bis  $\infty = \diamond$ , 71. Tag bis  $\infty = \square$ , 81. Tag bis  $\infty = \blacktriangle$ ). Die Wahrscheinlichkeit für ein richtig positives Ergebnis (Sensitivität) wurde gegen die Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Ergebnisses (1-Spezifität) für die verschiedenen Grenzwerte des PET-Scores aufgetragen. Der Nachweis von Rezidivvolumen von  $0,09 \text{ cm}^3$  zeigt **keine** Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Untersuchung.

„++“ = „sicher positiv“, „+“ = „positiv“, „+?“ = „fraglich positiv“, „-?“ = „fraglich negativ“, „-“ = „negativ“, „--“ = „sicher negativ“

### 3.13.3 Optimale Nachweisgrenze für Rezidive

Mit Hilfe der oben aufgeführten ROC-Analysen lässt sich für jeden Score des Bewertungsschemas eine Korrelation der Datenpaare von Sensitivität und Spezifität bezogen auf die Größe der Rezidive im PET darstellen. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse aus den Abbildungen 17, 18 und 19 für den Untersuchungszeitraum ab dem 81. Tag noch einmal zusammengefasst.

Verwendet man den Score „fraglich positiv“ (+?) als Grenzwert, so werden bei einem Volumen von  $0,02 \text{ cm}^3$  nur die Hälfte aller Tumoren nachgewiesen (50% Sensitivität). Die Sensitivität steigt mit einem zunehmenden Tumolvolumen, so dass sie bei  $0,09 \text{ cm}^3$  bei 91% liegt und ab  $0,2 \text{ cm}^3$  100% erreicht. Ab einem Volumen von  $0,2 \text{ cm}^3$  ließen sich keine Werte für die Spezifität ermitteln, da lokal kontrollierte Tumoren dieses Volumen nicht erreichen.

**Tabelle 3 Sensitivität und Spezifität der PET-Befunde**

Sensitivität und Spezifität der PET bezogen auf den Endpunkt und das Rezidivvolumen bei einer Untersuchung ab dem 81 Tage nach Therapiebeginn

<b>Endpunkt = fraglich positiv (+?)</b>			
Volumen (cm <sup>3</sup> )	Diameter (mm)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
0,02	3,5	50	100
0,09	5,8	91	67
0,2	7,3	100	--

<b>Endpunkt = positiv (+)</b>			
Volumen (cm <sup>3</sup> )	Diameter (mm)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
0,02	3,5	25	100
0,09	5,8	70	100
0,2	7,3	100	--

Verschiebt man nun den Endpunkt auf „positiv“ (+), als sicheren Tumornachweis, so geht dies bei den Volumina 0,02 und 0,09 cm<sup>3</sup> mit einem Verlust der Sensitivität zugunsten der Spezifität einher.

Aus diesem Grund wurde, für weitere Untersuchungen mit diesem Tumormodell der Score, „fraglich positiv“ (+?) als Grenze zwischen Tumornachweis und Tumorausschluss gewählt.

### **3.14 Befundervariabilität**

#### **3.14.1 Intra-individuelle Befundervariabilität**

Um die Reproduzierbarkeit des verwendeten Bewertungssystems bei ein und demselben Untersucher zu überprüfen, wurde die intra-individuelle Befundervariabilität nach erneuter Blindbefundung anhand des Kappa-Koeffizienten nach Cohen (Kap. 2.4.1.) analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabellen (Tab. 4 – 6) zusammengefasst, in denen die Datenpaare der ersten und zweiten Befundung gegenübergestellt wurden.

Zunächst wurden die Befundungen anhand der sechs Einzelscores miteinander verglichen (Tab. 4). Der Kappa-Koeffizient betrug 0,66 mit einem (95% Konfidenz-Intervall: 0,58 – 0,73). Nach den von Landis entwickelten Kategorien liegt dieser Wert im unteren Bereich der Kategorie „starke Übereinstimmung“ (Tab. 4). Bei Verwendung dieser Gruppierung lag in 74,1% der Befundungen eine Übereinstimmung vor, das heißt in der zweiten Befundung wurde derselbe Score vergeben, wie in der ersten Befundung.

**Tabelle 4 Intra-individuelle Befundervariabilität mit sechs Scores**

Abgebildet ist die Intra-individuelle Befundervariabilität bezogen auf eine Übereinstimmung jedes Einzelscores in Prozent. Die grau getönten Felder zeigen identische Befunde an. Kappa-Koeffizient (nach Cohen) = 0,66 (95% C.I.: 0,58.-0,73).

(„+++“ = „sicher positiv“, „+“ = „positiv“, „+?“ = „fraglich positiv“, „-?“ = „fraglich negativ“, „-“ = „negativ“, „--“ = „sicher negativ“)

**1. Befundung**

2. Befundung	%	-	--	-?	+?	+	++
	-	4,1	2,6	0,5	1,0		
	--	3,6	11,4	3,1	1,0		
	-?	1,6	1,0	3,1			
	+?	0,5	0,5	1,6	6,2		
	+				3,6	10,4	0,5
	++					4,9	38,9

Bei sechs Einzelscores ergibt sich zwangsläufig ein niedriger Kappa-Koeffizient. Relevanter für die Befundung ist eine Gruppierung der Einzelscores in Paare von „positiven“, „fraglichen“ und „negativen“ Befunden (Tab. 5). Dies lässt den Kappa-Koeffizient auf 0,77 (95% Konfidenz-Intervall: 0,70 – 0,85) steigen und liegt damit im oberen Bereich der Kategorie „starke Übereinstimmung“. Ohne Zufallskorrektur sind 87% der Befunde identisch, 54,4% Prozent davon entfallen auf die Beurteilungskategorie „sicher positiv/ positiv“.

**Tabelle 5 Intra-individuelle Befundervariabilität mit drei Scores**

Abgebildet ist die Intra-individuelle Befundervariabilität unter Zusammenfassung der Einzel-Scores zu Paaren in Prozent. Die grau getönten Felder zeigen identische Befunde an. Kappa-Koeffizient (nach Cohen) = 0,77 (95% C.I.: 0,70 -0,85).

„positiv“ = „sicher positiv“ („++“) und „positiv“ („+“);  
 „fraglich“ = „fraglich positiv“ („+?“) und „fraglich negativ“ („-?“);  
 „negativ“ = „negativ“ („-“) und „sicher negativ“ („--“)

**1. Befundung**

<b>2. Befundung</b>	<b>%</b>	<b>„positiv“</b>	<b>„fraglich“</b>	<b>„negativ“</b>
	<b>„positiv“</b>	21,2	6,2	
	<b>„fraglich“</b>	3,1	11,4	
	<b>„negativ“</b>		3,6	54,4

Tabelle 6 zeigt die Zusammenfassung der Einzelscores in zwei Dreiergruppen („positiv“ und „negativ“). Hierbei ergibt sich ein Kappa-Koeffizient von 0,89 (95% Konfidenz-Intervall: 0,83 – 0,94) entsprechend einer „fast vollständigen Übereinstimmung“ nach Landis. In Prozent ausgedrückt liegt bei 94,3 % der Befundungen eine Übereinstimmung vor.

**Tabelle 6 Intra-individuelle Befundervariabilität mit zwei Scores**

Die Einzelscores wurden in Dreiergruppen zusammengefasst. Die grau getönten Felder zeigen identische Befunde an. Kappa-Koeffizient (nach Cohen) = 0,89 (95% C.I.: 0,83 ...0,94).

„positiv“ = „sicher positiv“ („++“), „positiv“ („+“) und „fraglich positiv“ („+?“) ;  
 „negativ“ = „negativ“ („-“), „sicher negativ“ („--“) und „fraglich negativ“ („-?“).

**1. Befundung**

<b>2. Befundung</b>	<b>%</b>	<b>„positiv“</b>	<b>„negativ“</b>
	<b>„positiv“</b>	31,1	3,1
	<b>„negativ“</b>	2,6	63,2

### 3.14.2 Inter-individuelle Befundervariabilität

Im folgenden Abschnitt soll eine Beurteilung der inter-individuellen Variabilität bei der Verwendung des Befundungssystems von verschiedenen Untersuchern erhoben werden. Hierzu wurden 242 PET-Befunde von zwei Untersuchern verblindet ausgewertet. Vergleicht man die Befundung bei Verwendung der Einzelscores (Tab. 7) so ergibt sich ein Kappa-Koeffizient nach Cohen von 0,39 (95% Konfidenz-Intervall: 0,32 – 0,46), dies liegt nach Landis knapp unter der Kategorie „mäßige Übereinstimmung“ ( $K > 0,40 - < 0,60$ ). Nur in 51,6% der Befundungen liegt eine Übereinstimmung vor.

**Tabelle 7 Inter-individuelle Befundervariabilität unter Verwendung von sechs Scores**

Abgebildet ist die Inter-individuelle Befundervariabilität bezogen auf eine Übereinstimmung jedes Einzelscores in Prozent. Die grau getönten Felder zeigen identische Befunde an. Kappa-Koeffizient (nach Cohen) = 0,39 (95% C.I.: 0,32 – 0,46).

(„+++“ = „sicher positiv“ = Score 6; „+“ = „positiv“ = Score 5; „+?“ = „fraglich positiv“ = Score 4; „-?“ = „fraglich negativ“ = Score 3; „-“ = „negativ“ = Score 2; „--“ = „sicher negativ“ = Score 1)

#### 1. Befunder

%	-	--	-?	+?	+	++
-	7,0	12,0	3,7	2,9	0,8	
--	5,0	7,9	3,7	1,7	0,8	
-?		2,1		1,7		
+?	0,8	0,8	1,2	0,8	1,7	
+			0,4	0,8	7,4	7,4
++					0,8	28,5

Analog zur Intra-individuellen Befundung wurden die Scores weiter zusammengefasst. Bei drei Paaren von Scores mit „positiven“, „fraglichen“ und „negativen“ Befunden, verbessert sich der Kappa-Koeffizient auf 0,67 (95% Konfidenz-Intervall: 0,60 – 0,75), dies liegt nach Landis in der Kategorie der „starken Übereinstimmung“ (Tab. 8). In 80,1% der Befundungen liegt dabei eine Übereinstimmung vor.

**Tabelle 8 Inter-individuelle Befundervariabilität mit drei Scores**

Abgebildet ist die Inter-individuelle Befundervariabilität unter Zusammenfassung der Einzel-Scores zu je drei Paaren in Prozent. Die grau getönten Felder zeigen identische Befunde an. Kappa-Koeffizient (nach Cohen) = 0.67 (95% C.I.: 0.60-0.75).

„positiv“ = „sicher positiv“ („++“) und „positiv“ („+“);  
 „fraglich“ = „fraglich positiv“ („+?“) und „fraglich negativ“ („-?“);  
 negativ = „negativ“ „-“ und „sicher negativ“ („--“)

**1. Befunder**

		<b>1. Befunder</b>		
		<b>„positiv“</b>	<b>„fraglich“</b>	<b>„negativ“</b>
<b>2. Befunder</b>	<b>„positiv“</b>	31,8	11,6	1,7
	<b>„fraglich“</b>	3,7	4,1	1,7
	<b>„negativ“</b>		1,2	44,2
	<b>%</b>			

Bei weiterer Zusammenfassung der Scores in nur zwei Gruppen à drei Scores („positiv“ und „negativ“) steigt der Kappa-Koeffizient auf 0,78 (95% Konfidenz-Intervall: 0,69 – 0,86), dies liegt nach Landis in der Kategorie der „starken Übereinstimmung“ an der Grenze zur „vollständigen Übereinstimmung“ (Tab. 9). In 88,8% der Befundungen liegt dabei eine Übereinstimmung vor.

**Tabelle 9 Inter-individuelle Befundervariabilität mit zwei Scores**

Die Einzelscores wurden in Dreiergruppen zusammengefasst. Die grau getönten Felder zeigen identische Befunde an. Kappa-Koeffizient (nach Cohen) = 0.78 (95% C.I.: 0.69 – 0.86).

„positiv“ = „sicher positiv“ („++“), „positiv“ („+“) und „fraglich positiv“ („+?“) ;  
 negativ = „negativ“ „-“, „sicher negativ“ („--“) und „fraglich negativ“ („-?“).

**1. Befunder**

		<b>1. Befunder</b>	
		<b>„positiv“</b>	<b>„negativ“</b>
<b>2. Befunder</b>	<b>„positiv“</b>	41,3	7,9
	<b>„negativ“</b>	3,3	47,5

## **4 Diskussion**

Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Etablierung eines experimentellen Tiermodells, um die Eignung von FDG-PET zur Therapiekontrolle nach Strahlentherapie beim R1H-Tumor der Ratte zu untersuchen. Die Zuverlässigkeit des Tumornachweises durch PET wurde anhand der Sensitivität und die Spezifität der Methode in Abhängigkeit des Untersuchungszeitpunktes nach Therapiebeginn, beziehungsweise der Tumorgroße bestimmt.

### **4.1 Auswahl des Tumormodells**

Ob die Ergebnisse dieser Arbeit auf den klinischen Alltag übertragen werden können, hängt zunächst entscheidend von der Auswahl des Tumormodells ab. Beim verwendeten Tumormodell handelt es sich um ein etabliertes System, welches weitestgehend einem spontan entstandenen Tumor [51] ähnelt. Der Tumor ist nicht immunogen [61]. Es handelt sich allerdings um einen subkutan implantierten Tumor, der nicht spontan gewachsen ist und somit nicht, das einem „normalen“ Tumor entsprechende Mikromilieu, mit der entsprechenden Gefäßversorgung aufweist. Hierdurch kann es unter Umständen zu Unterschieden im Ansprechen auf die Strahlentherapie und in der FDG-Akkumulation kommen. Diese Einflüsse scheinen aber vernachlässigbar zu sein, da andere Arbeiten [60] zeigen konnten, dass die FDG-Anreicherung bei transplantierten Tumoren, der von natürlich gewachsenen Tumoren entspricht. Der R1H-Tumor zeigt eine FDG-Anreicherung, wie sie auch bei vielen humanen Tumoren beobachtet wird und ist somit ein geeignetes Tumormodell.

### **4.2 Manuelle Tumolvolumenmessung**

Die Tumorgroße war in diesem Modell erst ab ca. 5 mm mit der Schublehre messbar. Die Größe kleinerer Tumoren wurde palpatorisch abgeschätzt und das Volumen anhand einer für dieses Modell entwickelten Eichkurve bestimmt. Werte ab einem Volumen größer  $0,2 \text{ cm}^3$  wurden ausgemessen, kleinere Volumina sind das Ergebnis von Schätzungen. Aus diesem Grund kommt es zu einer sprunghaften Änderung der Volumina von  $0,02$  auf  $0,9$  bzw.  $0,2 \text{ cm}^3$ , während es sich normalerweise um stetig wachsende Tumoren handelt.

### **4.3 Tumorentwicklung während der Strahlentherapie**

Noch bis ca. zum 5. Tag nach Beginn der Strahlentherapie nahmen die Tumoren an Größe zu. Erst ab dem 15. Tag kam es zu einer kontinuierlichen Abnahme der Tumolvolumina in der manuellen Messung. Auch in der PET lässt sich noch bis zum 20. Tag nach

Therapiebeginn der Tumor bei allen Tieren sicher nachweisen. Dies erklärt sich wahrscheinlich durch die Tatsache, dass es nach Therapiebeginn nicht zum sofortigen Zelltod kommt. Die Zellen durchlaufen noch ein oder mehrere Zellteilungen ehe es dann zum Zelltod ([32]) kommt. Die FDG-Anreicherung im PET nimmt jedoch deutlich später, als das gemessene Tumolvolumen ab. Dies deutet entweder auf einen aktiven Metabolismus der noch vitalen Tumorzellen oder auf inflammatorische Vorgänge im bestrahlten Areal hin. Dieses Phänomen tritt in abnehmender Intensität noch bis zum Ende der Strahlentherapie, 43 Tage nach Therapiebeginn auf. Bei der Hälfte der Tiere bestand zu diesem Zeitpunkt immer noch ein fraglich positiver (+?) Befund.

## **4.4 Einflussfaktoren auf die PET**

### **4.4.1 Einfluss der Narkose während der PET**

Auf eine Narkose der Tiere während der Strahlentherapie wurde, wie eingangs beschrieben verzichtet (Kap. 2.1.7.), da verschiedene Studien ([29], [37]) zeigen konnten, dass es durch die üblichen Narkosemittel zu einer unkontrollierten Änderung der Strahlensensibilität von Tumoren kommen kann. Auch zum Zeitpunkt der subkutanen FDG-Injektion waren die Tiere nicht narkotisiert. Erst drei Stunden nach FDG-Injektion war für die PET-Aufnahmen selbst eine Narkose der Tiere erforderlich. Grundsätzlich verlangsamen Narkotika das Tumorwachstum bereits bei unbehandelten Tieren in geringem Umfang [62], da die Narkotika jedoch erst unter Therapie und bei sämtlichen Tieren gleichermaßen zum Einsatz kamen, erscheint ein möglicher Effekt vernachlässigbar. Auch eine Beeinflussung der FDG-Anreicherung im Tumor durch die Narkotika ist aufgrund des Zeitintervalls von drei Stunden zwischen FDG-Injektion und PET-Aufnahme unwahrscheinlich.

### **4.4.2 Einfluss des verwendeten PET-Scanners**

In der vorliegenden Studie wurde ein für den Menschen entwickelter konventioneller Ganzkörper-PET-Scanner verwendet. Die physikalische Auflösung dieses Scanners beträgt im Zentrum axial und transaxial etwa 5,0 bzw. 6,0 mm Halbwertsbreite (engl. Full width at half maximum, FWHM) bei einer Schichtdicke von 3,4 mm und nimmt zum Rand hin auf ca. 8 mm ab [59]. Die Tumornachweisgrenze dieses Scanners liegt somit bei ca. 7 – 8 mm, kann jedoch bei starker Aufnahme des Tracers durch den Tumor auch niedriger sein. Der eingesetzte Scanner entspricht damit dem gängigen Standard in der Humanmedizin. Bedingt durch die starke Glukoseutilisation des verwendeten Tumors ließen sich in dieser Studie auch Tumoren, die unterhalb des Auflösungsvermögens des Scanners lagen, nachweisen. Geräte mit einem verbesserten Auflösungsvermögen würden die Tumornachweisgrenze noch weiter nach unten verschieben. Dieses Ziel wurde bereits

mit einigen speziellen Tier-PET-Scannern erreicht, die ein Auflösungsvermögen von bis zu 1 mm aufweisen [43]. Entsprechend verbesserte PET-Scanner mit einem höheren Auflösungsvermögen wären auch im klinischen Einsatz wünschenswert.

#### **4.4.3 Einfluss des Glukosespiegels auf die FDG-Akkumulation**

Bedingt durch die Kopplung des verwendeten Nuklids  $^{18}\text{F}$  an Desoxyglukose ist die Anreicherung des Tracers im Tumor, wie auch in stoffwechselaktiven Geweben des Organismus im Allgemeinen vom Blutglukosespiegel abhängig. In einem anderen Rattenmodell [56], konnte gezeigt werden, dass es bei initial erhöhten Blutzuckerspiegeln zu einer verminderten FDG-Aufnahme im Tumor und im übrigen Organismus kommt. Auch beim Menschen senkt ein erhöhter Blutzuckerspiegel die FDG-Aufnahme im Tumor zugunsten der Muskulatur [36] und beeinflusst somit direkt die Sensitivität der Methode. In einer dieser Studie vorausgegangen Voruntersuchung konnte eine deutliche Differenz des Blutzuckerspiegels der Ratten mit und ohne Nahrungskarenz festgestellt werden. Aus diesem Grund wurden alle Tiere mindestens sechs Stunden vor der FDG-Injektion bei freiem Zugang zu Wasser nüchtern gehalten. Auch beim Menschen ist auf eine Nahrungskarenz vor der PET-Untersuchung zu achten, um eine größtmögliche Aussagefähigkeit zu erhalten. Bei Patienten mit diabetischer Stoffwechsellage sind entsprechende Nüchternblutzucker mit Hilfe von zusätzlichen Insulingaben anzustreben [41].

#### **4.4.4 Kinetik der FDG-Aufnahme nach subkutaner Injektion**

In der PET-Untersuchung beim Menschen erfolgt die FDG-Injektion in der Regel intravenös, dies gewährleistet eine größtmögliche Verteilung des Tracers im zu untersuchenden Organismus. Im Anbetracht der bei Ratten sehr kleinen Gefäße und der für diese Studie erforderlichen häufigen FDG-Injektionen (ein- bis zweimal wöchentlich) waren wiederholte i.V.-Injektionen nicht sicher zu gewährleisten. Mit der subkutanen Injektion wurde eine Methode gefunden, die im Tiermodell praktikabel ist und darüber hinaus zuverlässig und reproduzierbar für eine gleichmäßige FDG-Verteilung sorgt. In einer Voruntersuchung wurde vorab die Zuverlässigkeit dieser Methode geprüft [17]. Dabei wird darauf geachtet, dass der Injektionsort und der Tumor räumlich möglichst weit auseinander lagen, um Überlagerungen zu vermeiden.

Die Tumoren grenzten sich auch nach einer subkutanen Injektion gut von der Umgebung ab, so dass diese Applikationsform für weitere Untersuchungen am Tiermodell sehr gut praktikabel ist. Die zweite Fragestellung der oben genannten Voruntersuchung war, den günstigsten Untersuchungszeitpunkt nach Injektion zu ermitteln. Zu diesem Zweck wur-

den wiederholte PET-Messungen über mehrere Stunden durchgeführt. Über die Zeit konnte eine Zunahme der FDG-Anreicherung im Tumor und eine Abnahme der FDG-Aktivität am Injektionsort beobachtet werden. Ein Plateau stellte sich nach ca. zwei bis drei Stunden ein. Daher wurden in dieser Studie die PET-Aufnahmen drei Stunden nach subkutaner FDG-Applikation durchgeführt. Sie lieferten verlässliche und reproduzierbare Ergebnisse. Rückschlüsse auf den optimalen Untersuchungszeitpunkt beim Menschen ergeben sich hieraus jedoch nicht. Eine Studie von Boerner et al. [6] an Patientinnen mit primärem Mamma-Ca, in der PET-Untersuchungen zu drei verschiedenen Zeitpunkten (40 min, 1,5 h und 3 h) durchgeführt wurden, zeigt eine deutliche Zunahme der Sensibilität des Tumornachweises von 83% nach 1,5 Stunden auf 93% nach drei Stunden. Dieses Ergebnis legt nahe, dass auch der beim Menschen übliche Untersuchungszeitpunkt eine Stunde nach intravenöser FDG-Applikation gegebenenfalls überdacht werden sollte, um die Sensitivität zu steigern.

#### **4.5 PET nach Strahlentherapie**

Nach Ende der Strahlentherapie fand sich bei den meisten Tieren (n=14) noch ein tastbarer Tumor. Bei sechs Tieren lag das Tumolvolumen unterhalb von  $0,09 \text{ cm}^3$ , drei von diesen sechs Tieren entwickelten einen Rezidivtumor. Dies zeigt, dass ein Tumolvolumen unter  $0,9 \text{ cm}^3$  bei Therapieende keine prognostische Aussage über ein dauerhaftes Therapieansprechen ermöglicht. Der negative prädiktive Wert der Volumenmessung nach Ende der Bestrahlung ist somit niedrig.

Im Gegensatz dazu rezidierten die Tumoren bei fünf der sechs Tiere, bei denen am Ende der Therapie noch eine FDG-Ansammlung im Tumor darstellbar war, obwohl bei all diesen Tieren im Verlauf mindestens einmal ein negativer PET-Befund vorlag. Damit ist der positive prädiktive Wert einer FDG-Akkumulation bei Therapieende sehr hoch. Von 14 Tieren, die bei oder vor Therapieende einen negativen PET-Befund aufweisen, kommt es bei sieben Tieren zu einem Tumorrezidiv, damit ist der negative prädiktive Wert der PET-Untersuchung nach Bestrahlung niedrig. Ein frühzeitiger Rückgang der FDG-Akkumulation im PET lässt keine Rückschlüsse über ein dauerhaftes Ansprechen auf die Therapie zu, hingegen kann eine persistierende FDG-Anreicherung bei Therapieende auf ein mögliches Therapieversagen hindeuten. Diese Ergebnisse sind jedoch bisher noch zu vage, um daraus Schlüsse für den klinischen Alltag zu ziehen.

### **4.5.1 Zeitpunkt der PET nach Strahlentherapie**

Zur Zielsetzung dieser Arbeit gehörte es, den günstigsten Zeitpunkt für die FDG-PET nach Strahlentherapie zu bestimmen. Einige Autoren sprechen sich gegen eine frühe Verlaufskontrolle mit PET nach Strahlentherapie aus, da sie eine hohe Rate von falsch positiven Befunden erwarten. Allgemein wird in der Literatur die Auffassung vertreten, dass eine Verlaufskontrolle frühestens zwei bis drei Monate nach Ende der Strahlentherapie erfolgen sollte ([47], [53]). Eine von Haberkorn et al. durchgeführte Studie bei Patienten mit rezidivierenden colorektalen Tumoren nach Strahlentherapie legt sogar nahe, dass nach Strahlentherapie mindestens ein Intervall von sechs Monaten eingehalten werden sollte, bevor eine Verlaufskontrolle mit PET angeraten ist [24].

Die Ergebnisse dieser Studie widersprechen dieser Annahme. Es zeigte sich, dass der Zeitpunkt des Rezidivnachweises im PET hauptsächlich vom Tumolvolumen abhängig war. Aufgrund des sehr oberflächlich gelegenen Tumors ließ sich das Volumen direkt mit der FDG-Anreicherung im PET korrelieren. Bei nicht oder kaum tastbaren Tumoren ließ sich kurz nach Therapieende keine FDG-Anreicherung nachweisen, auch dann nicht, wenn bei diesem Tier später ein Tumorrezidiv auftreten sollte. Der Nachweis eines Tumorrezidivs mittels FDG-PET erfolgte frühestens ab dem 29. Tag nach Therapieende. In keinem Fall kam es kurz nach Therapieende zu falsch positiven Befunden.

### **4.5.2 Potentielle Einflüsse der Strahlentherapie auf die FDG-Anreicherung**

Haberkorn et al [23] begründen ihre oben zitierte Aussage, dass Verlaufskontrollen nach Strahlentherapie frühestens sechs Monate nach Therapieende erfolgen sollten, mit einer durch die Bestrahlung induzierten entzündlichen Reaktion des bestrahlten Gewebes. Diese entzündliche Reaktion würde eine erhöhte FDG-Akkumulation bewirken und damit zu falsch positiven Befunden führen. Wie in Kapitel 4.3. beschrieben kommt es in diesem Tiermodell nach Therapieende zunächst zu einer Abnahme der Tumolvolumina und erst mit zeitlicher Verzögerung zu einer Abnahme der FDG-Anreicherung im Tumor. Dies könnte ein Hinweis auf eine verstärkte entzündliche Aktivität im bestrahlten Gewebe sein. Der direkte Einfluss der Strahlentherapie auf das bestrahlte Gewebe und die dadurch möglicherweise hervorgerufenen Veränderungen auf die FDG-Anreicherung war nicht Inhalt dieser Studie. Andere experimentelle Arbeiten am R1H-Tumor der Ratte nach Strahlentherapie konnten aber zeigen, dass es in den Tagen unmittelbar nach Bestrahlung zu deutlichen zellulären Veränderungen im Strahlenfeld kommt, insbesondere wandern eine Vielzahl von Wirtszellen in das bestrahlte Gewebe ein. Die Wachstumskinetik der klono-

genen Zellen wurde durch die Strahlentherapie jedoch nicht verändert [28]. Die eingewanderten Wirtszellen wurden in der oben genannten Studie nicht genauer differenziert. In einer anderen Arbeit von Brammer et al. zum R1H-Tumor [7] konnte ein hoher Anteil an Zellen des Monozyten-/ Makrophagensystems im bestrahlten Gebiet nachgewiesen werden, dies wurde auch für andere Tumormodelle beschrieben [52]. Dieses Phänomen scheint sich insbesondere auf den Zeitraum direkt nach der Bestrahlung beziehen und ist z.B. durch den Abtransport der untergegangenen Tumorzellen zu erklären. Daemen et al. konnten an einem anderen Rhabdomyosarkom-Modell der Ratte zeigen, dass es nach Bestrahlung mit 50 Gy zu einer steten Abnahme der FDG-Akkumulation (Untersuchungszeitpunkte: 12h, 4d + 12d nach Bestrahlung) kommt [14]. Reinhard et al. [46] konnten nach Strahlentherapie im Tiermodell eine Zunahme der FDG-Anreicherung im bestrahlten Muskelgewebe nachweisen, histologisch fand sich hierbei eine Anreicherung von FDG in Makrophagen, dieser Nachweis wurde sechs Tage nach Therapieende erbracht.

Die oben aufgeführten Daten decken sich mit den Ergebnissen dieser Studie, dass es zwar einige Tage nach Therapieende zu einer deutlich nachgewiesenen FDG-Anreicherung kommt (s. Kap. 3.10.2., Abb. 15), dieses Phänomen aber nur über einen relativ kurzen Zeitraum anhält. Eine entzündliche Reaktion im Bestrahlungsfeld, also insbesondere, wie oben beschrieben im, den Tumor umgebenden Gewebe, würde sich im FDG-PET bildmorphologisch von der FDG Darstellung des Tumors, die in diesem Tumormodell gut bekannt ist, deutlich unterscheiden. Längere Wartezeit vor einer Verlaufskontrolle mit PET nach Bestrahlung erscheinen aus diesen Gründen nicht rechtfertigt. Eine generelle Empfehlung bezüglich des Zeitpunktes der Therapiekontrolle für den klinischen Alltag kann damit allerdings noch nicht ausgesprochen werden, da es sich hierbei nur um ein Tiermodell handelt. Die Strahlentherapie scheint aber keine langfristigen Einflüsse auf die Glukoseutilisation des bestrahlten Gewebes zu haben, insbesondere kommt es nicht zu einer erhöhten Rate von falsch positiven Befunden, so dass die Positronen-Emissions-Tomographie mit FDG zur Verlaufskontrolle nach Strahlentherapie eine gute und zuverlässige Methode darstellt.

## **4.6 Größenabhängigkeit des Rezidivnachweises**

Im hier verwendeten Tiermodell werden relativ kleine Tiere mit entsprechend kleinen Tumorumfängen eingesetzt. Trotz der teilweise geringen Größe der untersuchten Tumoren ( $0,09 \text{ cm}^3$ ,  $\varnothing 5,8 \text{ mm}$ ) haben wir es hierbei mit Größenordnungen zu tun, die auch im klinischen Alltag von Interesse sind. Da die Tumoren subkutan liegen können Rezidive mittels Volumetrie frühzeitig erfasst und mit den PET-Befunden korreliert werden. Es zeigte sich, dass der Rezidivnachweis im PET in erster Linie von der Größe des rezidivierenden

Tumors abhängig war. Je kleiner ein Tumorrezidiv war, desto häufiger kam es im PET zu falsch negativen Befunden. Die Analyse der ROC-Kurven zeigte ab einem Volumen von  $0,09 \text{ cm}^3$  – in dieser Studie der Grenzwert für einen Rezidivnachweis – eine deutliche Zunahme der diagnostischen Qualität der visuellen PET-Befundung unabhängig vom Zeitpunkt der Untersuchung. Da jedoch selbst Tumoren diagnostiziert werden konnten, die unterhalb des Auflösungsvermögens des verwendeten PET-Scanners lagen, scheint über das Tumolvolumen hinaus, die Anzahl der vitalen Tumorzellen im Tumorgewebe von entscheidender diagnostischer Bedeutung zu sein. Im klinischen Alltag hat die PET z.B. in der Abklärung von unklaren Raumforderungen einen besonderen Stellenwert. Durch die FDG-Anreicherung lässt sich, zusätzlich zur morphologischen Einschätzung, z.B. im CT, eine Aussage über die metabolische Aktivität des suspekten Gewebes machen, was unter Umständen zu einer besseren Differenzierung zwischen benignem und malignem Gewebe führt.

#### **4.7 Visuelle Bewertungsskala und Reproduzierbarkeit**

Zur standardisierten Beurteilung der PET-Befunde wurde eine visuelle Bewertungsgrundlage (Kap. 2.2.6.) erarbeitet. Die Zuverlässigkeit dieses Scores wurde anhand zusätzlicher verblindeter Befundungen durch ein und denselben Befunder, sowie durch einen weiteren Befunder anhand des Kappa-Koeffizienten nach Cohen bestimmt. Bei demselben Befunder ist die Übereinstimmung der Befunde unter Verwendung von zwei oder drei Scores sehr hoch. Bei unterschiedlichen Befundern ergibt sich nach der Gruppierung der Scores in „positiv“ und „negativ“ ebenfalls eine „fast vollständige Übereinstimmung“. Damit ist die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse anhand dieser Bewertungsskala erwiesen. Fraglich bleibt, ob es sinnvoll ist, eine Skala mit sechs Scores zu verwenden, da die Übereinstimmung der Befunde nach Zusammenfassung der Scores deutlich steigt. Im klinischen Alltag ist letztlich die Einstufung von Befunden in „positive“, „negative“ und „fragliche“ Befunde üblich. Die Positronen-Emissions-Tomographie ist eine Methode, die häufig in Situationen zum Einsatz kommt, in denen eine eindeutige Diagnosestellung mit anderen diagnostischen Methoden nicht möglich ist, sie kann in diesen Fällen unter Umständen wertvolle zusätzliche Informationen beisteuern.

In dieser Arbeit wurde eine skalierte, visuelle Beurteilung der PET-Befunde durchgeführt. Auch in anderen radiologischen und nuklearmedizinischen Disziplinen wird häufig eine rein visuelle Beurteilung vorgenommen. Für die PET-Befundung wird häufig eine semi-quantitative Form der Beurteilung mittels eines so genannten „Standardized Uptake Values“ (SUV) als überlegen dargestellt. Der SUV-Wert beschreibt die Verteilung eines applizierten Radiopharmakons, z.B. FDG bezogen auf die Gesamtmenge des FDG im Ver-

hältnis zum Körpergewicht. Von besonderem Interesse ist hierbei der Anteil des FDG, der im vermeintlichen Tumor gespeichert ist. Diese Region wird durch eine sogenannte ROI (Region of interest) markiert und der Maximalwert in der ROI wird berechnet. In dieser Arbeit wurde letztlich auf eine Auswertung der SUV-Werte verzichtet, da sich dieser Wert insbesondere bei den hier verwendeten kleinen Tumoren als sehr störanfällig erwiesen hat [31]. Darüber hinaus ermöglicht die rein qualitative visuelle Beurteilung zusätzlich eine genauere Charakterisierung der Läsion unter Berücksichtigung von Größe, Form und Heterogenität der FDG-Verteilung [39]. Eine Reihe von klinischen Studien zu diesem Thema konnten eine Überlegenheit der visuellen Befundung gegenüber der semiquantitativen Befundung zeigen ([5], [25]). Während es in diesen Studien in der visuellen Befundung zu keinem falsch negativen Befund kam, wurden durch die semiquantitative SUV-Bestimmung verschiedene Läsionen unterschätzt und falsch negativ bewertet.

#### **4.8 Nutzen der ROC-Analysen**

Durch die Untersuchung der inter- und intra-individuellen Befundervariabilität konnte die Reproduzierbarkeit der anhand der visuellen Bewertungsskala ermittelten Ergebnisse nachgewiesen werden. Im nächsten Schritt konnte der optimale Score bestimmt werden, der als Schwellenwert für den Tumornachweis verwendet werden sollte. Anhand der Analyse der PET-Befunde wurde die Sensitivität und Spezifität der einzelnen Scores bei verschiedenen Tumorumfängen überprüft. Dabei zeigte sich, dass der Befund „fraglich positiv“, (Score +?) laut ROC-Analysen (Kap. 3.13.) für Tumoren ab einer Größe von  $0,09 \text{ cm}^3$  ( $\sim \varnothing 5,8 \text{ mm}$ ) eine gute Sensitivität ( $0,09 \text{ cm}^3 = 91\%$ ,  $0,2 \text{ cm}^3 = 100\%$ ) und Spezifität ( $0,09 \text{ cm}^3 = 67\%$ ,  $0,2 \text{ cm}^3 =$  nicht berechenbar, da keine falsch positiven Befunde dieses Volumens vorlagen) aufweist. Bei den acht Tieren, bei denen der Tumor lokal kontrolliert war, hat die PET-Befundung nur bei einem Tier im Verlauf zweimalig (70. und 98. Tag) einen „fraglich positiven“ (Score +?) und damit falsch positiven Befund ergeben. Insgesamt erscheint die Festlegung auf den Score „fraglich positiv“ als Schwellenwert zwischen Tumornachweis bzw. –ausschluss zumindest bezogen auf dieses Tumormodell sinnvoll.

## 5 Zusammenfassung

In der Onkologie spielen bildgebende Verfahren für die Detektion von Tumoren und in der Verlaufskontrolle nach Therapie eine wichtige Rolle. Der frühzeitige Nachweis eines Primarius bzw. eines Tumorrezidivs kann einen entscheidenden Einfluss auf die Überlebensrate des Patienten haben. Tumoren zeichnen sich durch eine gesteigerte Glykolyse aus. Mit Hilfe eines radioaktiv markierten Glukoseanalogons (<sup>18</sup>Fluor-Desoxy-Glukose (FDG)) lässt sich dieser verstärkte Metabolismus mit der PET darstellen und ermöglicht damit den Nachweis von vitalem Tumorgewebe.

Ziel dieser Arbeit war es, ein experimentelles Tiermodell zu schaffen, anhand dessen der Nutzen der PET zur Therapiekontrolle nach Strahlentherapie untersucht werden kann. Hierfür erschien das R1H-Tumormodel der Ratte besonders geeignet. Insbesondere sollte geklärt werden, ob mittels PET eine frühzeitige Detektion der Rezidive möglich ist, ab welcher Tumorgröße und zu welchem Zeitpunkt dies gelingt und ob die Strahlentherapie ein Störfaktor für die FDG-PET darstellt. Die Tiere wurden fraktioniert bestrahlt und vor, während und nach der Therapie wöchentlich mittels PET untersucht. Zur Auswertung der PET-Befunde wurde eine sechs Scores umfassende Bewertungsskala entwickelt. Vor Therapie ließen sich alle Tumoren im PET nachweisen. Am Ende der Therapie fand sich bei über der Hälfte der Tiere kein positiver PET-Befund mehr. Schlussfolgerungen über ein dauerhaftes Ansprechen auf die Therapie ließen sich jedoch aus einer reduzierten FDG-Anreicherung bei Therapieende nicht ziehen, da es bei 50% dieser Tiere im Verlauf zur Entwicklung eines Rezidivs kam. Der positive prädiktive Wert einer FDG-Ansammlung bei Therapieende war deutlich höher, da fünf von sechs Tieren, die am Ende der Therapie einen positiven PET-Befund aufwiesen ein Tumorrezidiv entwickelten.

Die parallel zu den PET-Untersuchungen durchgeführte Volumetrie zeigte eine deutliche Korrelation zwischen Tumorgröße und Nachweisbarkeit im PET. Der in dieser Studie definierte Rezidivnachweis lag bei einem Tumordurchmesser von ca. 5,8 mm, dies entspricht in etwa einem Volumen von 0,09 cm<sup>3</sup>. Je kleiner ein Tumor war, desto schlechter ließ er sich im PET darstellen, insbesondere unmittelbar bei, oder kurz nach Therapieende. Mit zunehmendem zeitlichem Abstand zur Therapie zeigte sich im PET jedoch bei annähernd gleichen Tumorumfängen eine deutlich vermehrte FDG-Ansammlung, als Ausdruck einer gesteigerten Glukoseutilisation vitaler Tumorzellen.

Für die entwickelte Befundungsskala konnte sowohl intra- als auch inter-individuell eine hohe Reproduzierbarkeit der Befunde nachgewiesen werden. Unabhängig von der

Tumorgröße und dem Zeitpunkt der Untersuchung betrug der optimale Grenzwert für den Tumornachweis im PET der Score 4 „fraglich positiv“. Als optimale Untersuchungszeitpunkte mit PET ergaben sich: 1. Untersuchungen, direkt bei Therapieende, zu diesem Zeitpunkt ist der positiv prädiktive Wert bezogen auf ein Nichtansprechen der Therapie besonders hoch. 2. Untersuchungen ca. zwei Monate nach Therapieende, hier fand sich eine sehr hohe Sensitivität (92%) und Spezifität (100%) bezüglich des Rezidivnachweises, beziehungsweise –ausschlusses, bei einer Testgenauigkeit von 100%.

In der Gegenüberstellung der Ergebnisse der PET-Befunde und der Volumetrie fand sich bezüglich des Tumornachweises bei einem Volumen von  $0.09 \text{ cm}^3$  eine im Median identische Sensitivität der beiden Verfahren, aber bereits ab einem Volumen von  $0.2 \text{ cm}^3$  (Durchmesser 7.3 mm) fand sich mit im Median 31 Tagen ein deutlicher Zeitvorsprung für die PET, welcher mit steigendem Volumen noch weiter anstieg.

Diese Arbeit konnte zeigen, dass die PET auch kleine Tumoren sicher nachweisen kann und dass die Rate an „falsch positiven“ Befunden im PET nach Strahlentherapie in diesem Modell nicht ansteigt. Abhängig von der Auflösung des verwendeten PET-Scanners lassen sich Rezidive mittels PET deutlich früher, als durch eine reine Volumenmessung nachweisen. Die Testgenauigkeit der PET ist in diesem Modell sehr hoch, so dass ein Einsatz der PET im klinischen Alltag bei entsprechender Fragestellung trotz der im Vergleich zu anderen bildgebenden Verfahren hohen Kosten gerechtfertigt erscheint. Um dies weiter zu evaluieren, sind klinische Studien zur Auswirkung der Diagnostik mittels PET auf die Therapie und Prognose von Tumorpatienten dringend erforderlich. Auch eine Weiterentwicklung der schon verwendeten kombinierten CT-PET-Scanner lässt durch eine Kombination der Vorteile beider Verfahren eine Steigerung der Sensitivität und Spezifität des Tumornachweises erhoffen.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Afzal, S.M., T.S. Tenforde, S.S. Parr, S.B. Curtis. (1986) PLD repair in rat rhabdomyosarcoma tumor cells irradiated in vivo and in vitro with high-LET and low-LET radiation. *Radiat Res.* 107(3): p. 354-66.
2. Barendsen, G.W., J.J. Broerse. (1969) Experimental radiotherapy of a rat rhabdomyosarcoma with 15 MeV neutrons and 300 kV x-rays. I. Effects of single exposures. *Eur J Cancer.* 5(4): p. 373-91.
3. Beck, H.P., I. Brammer, F. Zywietz, H. Jung. (1981) The application of flow cytometry for the quantification of the response of experimental tumors to irradiation. *Cytometry.* 2(1): p. 44-6.
4. Beck-Bornholdt, H.P., F. Würschmidt, H. Vogler. (1987) Net growth delay: a novel parameter derived from tumor growth curves. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 13(5): p. 773-7.
5. Beggs, A.D., S.F. Hain, K.M. Curran, M.J. O'Doherty. (2002) FDG-PET as a "metabolic biopsy" tool in non-lung lesions with indeterminate biopsy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 29(4): p. 542-6.
6. Boerner, A.R., M. Weckesser, H. Herzog, T. Schmitz, W. Audretsch, U. Nitz, H.G. Bender, H.W. Mueller-Gaertner. (1999) Optimal scan time for fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography in breast cancer. *Eur J Nucl Med.* 26(3): p. 226-30.
7. Brammer, I., F. Zywietz, H.P. Beck-Bornholdt, H. Jung. (1992) Kinetics of depopulation, repopulation and host cell infiltration in the rhabdomyosarcoma R1H after 14 MeV neutron irradiation. *Int J Radiat Biol.* 61(5): p. 703-11.
8. Buchert, R., M. de Wit, A. Raabe, K.H. Bohuslavizki, U. Schulte, J. Mester, M. Clausen. (2000) Low-cost, small-animal shelf for simultaneously assessing several small animals with a whole-body PET scanner. *J Nucl Med Technol.* 28(3): p. 171-2.
9. Büll. (1996) Nuklearmedizin. 2. Auflage ed: Büll et al. (Hrsg.).
10. Bumann, D., M. de Wit, W. Beyer, M. Beese, M. Lübeck, E. Bücheler, M. Clausen. (1998) Computertomographie und F-18-FDG Positronen-Emissions-Tomographie im Staging maligner Lymphome: ein Vergleich. *Röfo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr.* 168(5): p. 457-65.
11. Caraco, C., L. Aloj, L.Y. Chen, J.Y. Chou, W.C. Eckelman. (2000) Cellular release of [18F]2-fluoro-2-deoxyglucose as a function of the glucose-6-phosphatase enzyme system. *J Biol Chem.* 275(24): p. 489-94.
12. Conti, P.S., D.L. Lilien, K. Hawley, J. Keppler, S.T. Grafton, J.R. Bading. (1996) PET and [18F]-FDG in oncology: a clinical update. *Nucl Med Biol.* 23(6): p. 717-35.
13. Curtis, S.B., T.S. Tenforde. (1980) Assessment of tumour response in a rat rhabdomyosarcoma. *Br J Cancer Suppl.* 41(Suppl 4): p. 266-70.
14. Daemen, B.J., P.H. Elsinga, A.M. Paans, A.R. Wieringa, A.W. Konings, W. Vaalburg. (1992) Radiation-induced inhibition of tumor growth as monitored by PET using L-[1-11C]tyrosine and fluorine-18-fluorodeoxyglucose. *J Nucl Med.* 33(3): p. 373-9.
15. de Wit, M. (2003) Wertigkeit der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) mit 2-[F-18]-Fluoro-2-Desoxy-D-Glukose (FDG) zur Therapiekontrolle in der Onkologie. Habilitationsschrift. Hamburg, Universität, FB Medizin.

16. de Wit, M., D. Bumann, W. Beyer, K. Herbst, M. Clausen, D.K. Hossfeld. (1997) Whole-body positron emission tomography (PET) for diagnosis of residual mass in patients with lymphoma. *Ann Oncol.* 8 Suppl 1: p. 57-60.
17. de Wit, M., R. Buchert, A. Raabe. (1998) Positronen-Emissions-Tomographie (PET) am Rhabdomyosarkom R1H der Ratte. *Exp. Strahlenther. klin. Strahlenbiol.* 7: p. 20 - 23.
18. Dewan, N.A., N.C. Gupta, L.S. Redepenning, J.J. Phalen, M.P. Frick. (1993) Diagnostic efficacy of PET-FDG imaging in solitary pulmonary nodules. Potential role in evaluation and management. *Chest.* 104(4): p. 997-1002.
19. Di Chiro, G., J. Hatazawa, D.A. Katz, H.V. Rizzoli, D.J. De Michele. (1987) Glucose utilization by intracranial meningiomas as an index of tumor aggressivity and probability of recurrence: a PET study. *Radiology.* 164(2): p. 521-6.
20. Eigtved, A., A.P. Andersson, K. Dahlstrom, A. Rabol, M. Jensen, S. Holm, S.S. Sorensen, K.T. Drzewiecki, L. Hojgaard, L. Friberg. (2000) Use of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the detection of silent metastases from malignant melanoma. *Eur J Nucl Med.* 27(1): p. 70-5.
21. Gallagher, B.M., J.S. Fowler, N.I. Gutterson, R.R. MacGregor, C.N. Wan, A.P. Wolf. (1978) Metabolic trapping as a principle of radiopharmaceutical design: some factors responsible for the biodistribution of [18F] 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J Nucl Med.* 19(10): p. 1154-61.
22. Geworski, L., B.O. Knoop, M. de Wit, V. Ivancevic, R. Bares, D.L. Munz. (2002) Multicenter comparison of calibration and cross calibration of PET scanners. *J Nucl Med.* 43(5): p. 635-9.
23. Haberkorn, U., L.G. Strauss, A. Dimitrakopoulou, R. Engenhardt, F. Oberdorfer, H. Ostertag, J. Romahn, G. van Kaick. (1991) PET studies of fluorodeoxyglucose metabolism in patients with recurrent colorectal tumors receiving radiotherapy. *J Nucl Med.* 32(8): p. 1485-90.
24. Haberkorn, U., L.G. Strauss, C. Reisser, D. Haag, A. Dimitrakopoulou, S. Ziegler, F. Oberdorfer, V. Rudat, G. van Kaick. (1991) Glucose uptake, perfusion, and cell proliferation in head and neck tumors: relation of positron emission tomography to flow cytometry. *J Nucl Med.* 32(8): p. 1548-55.
25. Hain, S.F., M.J. O'Doherty, J. Bingham, C. Chinyama, M.A. Smith. (2003) Can FDG PET be used to successfully direct preoperative biopsy of soft tissue tumours? *Nucl Med Commun.* 24(11): p. 1139-43.
26. Hermens, A.F., G.W. Barendsen. (1978) The proliferative status and clonogenic capacity of tumour cells in a transplantable rhabdomyosarcoma of the rat before and after irradiation with 800 rad of X-rays. *Cell Tissue Kinet.* 11(1): p. 83-100.
27. Hütte. (1955) Des Ingenieurs Taschenbuch. 231 ff.
28. Jung, H., H.P. Beck, I. Brammer, F. Zywiets. (1981) Depopulation and repopulation of the R1H rhabdomyosarcoma of the rat after X-irradiation. *Eur J Cancer.* 17(4): p. 375-86.
29. Kal, H.B., G.W. Barendsen. (1980) Cell survival and growth delay in rat R-1 tumours after radiation and vinblastine treatment. *Br J Cancer Suppl.* 41(Suppl 4): p. 275-8.
30. Kal, H.B., J.F. Gaiser. (1980) The effect of anaesthesia on the radiosensitivity of rat intestine, foot skin and R-1 tumours. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 37(4): p. 447-50.
31. Keyes, J.W., Jr. (1995) SUV: standard uptake or silly useless value? *J Nucl Med.* 36(10): p. 1836-9.
32. Kohn, K.W. (1996) Beyond DNA cross-linking: history and prospects of DNA-targeted cancer treatment--fifteenth Bruce F. Cain Memorial Award Lecture. *Cancer Res.* 56(24): p. 5533-46.

33. Krüll, A. (2000) Einfluss der Dosisintensität auf das Ergebnis einer fraktionierten Strahlentherapie des R1H-Tumors der Ratte. Habilitations-Schrift. Hamburg, Universität, FB Medizin.
34. Krummenauer, F., P. Kalden, K.F. Kreitner. (1999) Cohen's kappa oder McNemar's Test? Der Vergleich binärer Mehrfachbefunde. *Röfo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr.* 171(3): p. 226-31.
35. Landis, J.R., G.G. Koch. (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 33(1): p. 159-74.
36. Lindholm, P., H. Minn, S. Leskinen-Kallio, J. Bergman, U. Ruotsalainen, H. Joensuu. (1993) Influence of the blood glucose concentration on FDG uptake in cancer--a PET study. *J Nucl Med.* 34(1): p. 1-6.
37. Menke, H., P. Vaupel. (1988) Effect of injectable or inhalational anesthetics and of neuroleptic, neuroleptanalgesic, and sedative agents on tumor blood flow. *Radiat Res.* 114(1): p. 64-76.
38. Metz, C.E. (1986) ROC methodology in radiologic imaging. *Invest Radiol.* 21(9): p. 720-33.
39. Miller, T.R., E. Pinkus, F. Dehdashti, P.W. Grigsby. (2003) Improved prognostic value of 18F-FDG PET using a simple visual analysis of tumor characteristics in patients with cervical cancer. *J Nucl Med.* 44(2): p. 192-7.
40. Minn, H., S. Leskinen-Kallio, P. Lindholm, J. Bergman, U. Ruotsalainen, M. Teras, M. Haaparanta. (1993) [18F]fluorodeoxyglucose uptake in tumors: kinetic vs. steady-state methods with reference to plasma insulin. *J Comput Assist Tomogr.* 17(1): p. 115-23.
41. Minn, H., P. Nuutila, P. Lindholm, U. Ruotsalainen, J. Bergman, M. Teras, M.J. Knuuti. (1994) In vivo effects of insulin on tumor and skeletal muscle glucose metabolism in patients with lymphoma. *Cancer.* 73(5): p. 1490-8.
42. Moulder, R., Fischer, JJ., Milardo R. (1976) Time-dose relationships for the cure of an experimental rat tumour with fractionated radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 10(695-712).
43. Myers, R. (2001) The biological application of small animal PET imaging. *Nucl Med Biol.* 28(5): p. 585-93.
44. Phelps, M.E. (2000) Inaugural article: positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97(16): p. 9226-33.
45. Raabe, A., S. Quaester, H.H. Dubben, J.O. Zieron, A. Krüll, W. Alberti, H.P. Beck-Bornholdt. (2001) Impact of treatment acceleration and its timing on the response of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat to fractionated irradiation. *Strahlenther Onkol.* 177(7): p. 362-6.
46. Reinhardt, M.J., K. Kubota, S. Yamada, R. Iwata, H. Yaegashi. (1997) Assessment of cancer recurrence in residual tumors after fractionated radiotherapy: a comparison of fluorodeoxyglucose, L-methionine and thymidine. *J Nucl Med.* 38(2): p. 280-7.
47. Reske, S.N., J. Kotzerke. (2001) FDG-PET for clinical use. Results of the 3rd German Interdisciplinary Consensus Conference, "Onko-PET III", 21 July and 19 September 2000. *Eur J Nucl Med.* 28(11): p. 1707-23.
48. Sokoloff, L. (1976) [1-14C]-2-deoxy-d-glucose method for measuring local cerebral glucose utilization. Mathematical analysis and determination of the "lumped" constants. *Neurosci Res Program Bull.* 14(4): p. 466-8.
49. Som, P., H.L. Atkins, D. Bandyopadhyay, J.S. Fowler, R.R. MacGregor, K. Matsui, Z.H. Oster, D.F. Sacker, C.Y. Shiue, H. Turner, C.N. Wan, A.P. Wolf, S.V. Zabinski. (1980) A fluorinated glucose analog, 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (F-18): nontoxic tracer for rapid tumor detection. *J Nucl Med.* 21(7): p. 670-5.

50. Steel, G.G. (1977) *The Growth Kinetics of Tumours*. Oxford University press. Oxford.
51. Steel, G.G., K. Adams, J. Hodggett, P. Janik. (1971) Cell population kinetics of a spontaneous rat tumour during serial transplantation. *Br J Cancer*. 25(4): p. 802-11.
52. Stephens, T.C., G.A. Currie, J.H. Peacock. (1978) Repopulation of gamma-irradiated Lewis lung carcinoma by malignant cells and host macrophage progenitors. *Br J Cancer*. 38(5): p. 573-82.
53. Strauss, L.G., P.S. Conti. (1991) The applications of PET in clinical oncology. *J Nucl Med*. 32(4): p. 623-48; discussion 649-50.
54. Sweeny, M., J. Ashmore, H. Morris. (1963) Comparative biochemistry of hepatomas. IV. Isotope studies of glucose and fructose metabolism in liver tumors of different growth rates. *Cancer Res*. 23: p. 995-1002.
55. Tenforde, T.S., S.M. Afzal, S.S. Parr, J. Howard, J.T. Lyman, S.B. Curtis. (1982) Cell survival in rat rhabdomyosarcoma tumors irradiated in vivo with extended-peak silicon ions. *Radiat Res*. 92(1): p. 208-16.
56. Wahl, R.L., G.D. Hutchins, D.J. Buchsbaum, M. Liebert, H.B. Grossman, S. Fisher. (1991) <sup>18</sup>F-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose uptake into human tumor xenografts. Feasibility studies for cancer imaging with positron-emission tomography. *Cancer*. 67(6): p. 1544-50.
57. Warburg, O. (1931) *The Metabolism of Tumours*. 129-169.
58. Wieler, H.J.H. (1999) *PET in der klinischen Onkologie*. Wieler, H.J. (Hrsg.).
59. Wienhard, K., L. Eriksson, S. Grootoink, M. Casey, U. Pietrzyk, W.D. Heiss. (1992) Performance evaluation of the positron scanner ECAT EXACT. *J Comput Assist Tomogr*. 16(5): p. 804-13.
60. Wong, C.O., H.J. Dworkin. (2001) Clinical skills in conducting research studies on clinical applications of oncologic PET. *J Nucl Med*. 42(5): p. 826-7.
61. Würschmidt, F., H.P. Beck-Bornholdt, H. Vogler. (1990) Radiobiology of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: influence of the size of irradiation field on tumor response, tumor bed effect, and neovascularization kinetics. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 18(4): p. 879-82.
62. Zywiets, F. (1989) *Hyperthermie als Adjuvans zur Strahlentherapie: technische Aspekte und tierexperimentelle Untersuchungen am Rhabdomyosarkom der Ratte*. Habilitationsschrift. Universität Hamburg.

## 7 Anhang

### 7.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Schema zur Entstehung der Vernichtungsstrahlung nach Zusammenprall eines Positrons mit einem Elektron .....	8
Abbildung 2	Intrazellulärer Metabolismus von Glukose und FDG .....	9
Abbildung 3	Standardwachstumskurve der R1H-Tumoren .....	15
Abbildung 4	Schematische Darstellung der Wachstumsverzögerung .....	16
Abbildung 5	Graphische Darstellung des Versuchsablaufs .....	18
Abbildung 6	FDG-Anreicherung in der Ratte .....	20
Abbildung 7 A+B	Umverteilung der FDG-Aktivität gemessen über die Zeit an der FDG-Injektionsstelle und im Tumor .....	21
Abbildung 8	Schema zum Untersuchungsablauf der einzelnen PET-Messungen ..	21
Abbildung 9	Beispiele für die Bewertungsskala zur Identifizierung des R1H-Tumors im PET .....	22
Abbildung 10	Schematische Darstellung einer ROC-Kurve .....	27
Abbildung 11	Tumorstadiumskurve eines lokal kontrollierten Tumors .....	29
Abbildung 12	Tumorstadiumskurve bei einem Tier mit Tumorrezidiv .....	30
Abbildung 13	Kumulative Wachstumskurve bei Tumorrezidiv (n = 12) .....	31
Abbildung 14	Vergleich der medianen Wachstumskurven von R1H-Tumoren .....	32
Abbildung 15	Tumornachweis mittels PET bei Tieren mit Tumorrezidiv nach Strahlentherapie (n=12) .....	34
Abbildung 16	Beispiel für ein Tier mit lokal kontrolliertem Befund .....	35
Abbildung 17	Vergleich der Tumorstadien und der PET-Befunde bei einem Tier mit Tumorrezidiv .....	35
Abbildung 18	Zeitdifferenz in Tagen zwischen dem Tumornachweis durch PET und dem Erreichen der jeweiligen Tumorstadien .....	36
Abbildung 19 A-F	ROC-Kurven für den Nachweis von rezidivierenden R1H-Tumoren durch PET .....	37
Abbildung 20	ROC-Kurve rezidivierender R1H-Tumoren von 0,02 cm <sup>3</sup> (~ Ø 3,5 mm) ab dem 61. Tag nach Strahlentherapie untersucht durch die PET .....	39
Abbildung 21	ROC-Kurve rezidivierender R1H-Tumoren von 0,09 cm <sup>3</sup> (~ Ø 5,8 mm) ab dem 61. Tag nach Strahlentherapie untersucht mit PET .....	40

## **7.2 Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1	Korrelation von Tumorgewicht und Tastbefund .....	14
Tabelle 2	Skala zur visuellen Beurteilung von PET-Befunden .....	23
Tabelle 3	Sensitivität und Spezifität der PET-Befunde.....	41
Tabelle 4	Intra-individuelle Befundvariabilität mit sechs Scores.....	42
Tabelle 5	Intra-individuelle Befundvariabilität mit drei Scores .....	43
Tabelle 6	Intra-individuelle Befundvariabilität mit zwei Scores.....	43
Tabelle 7	Inter-individuelle Befundvariabilität mit sechs Scores.....	44
Tabelle 8	Inter-individuelle Befundvariabilität mit drei Scores .....	45
Tabelle 9	Inter-individuelle Befundvariabilität mit zwei Scores.....	45

## **7.3 Formelverzeichnis**

Formel 1	Formel zur Berechnung des Tumolvolumens.....	13
Formel 2	Ermittlung des zufallskorrigierten K-Koeffizienten nach Cohen.....	25

## 7.4 Abbildungen

7.4.1.	Lokalrezidive.....	71
7.4.2.	Lokale Kontrollen.....	76

### Legende:

(●) = Volumen

(○) = PET-Bewertung

„++“ = sicher positiv

„+“ = positiv

„+?“ = fraglich positiv

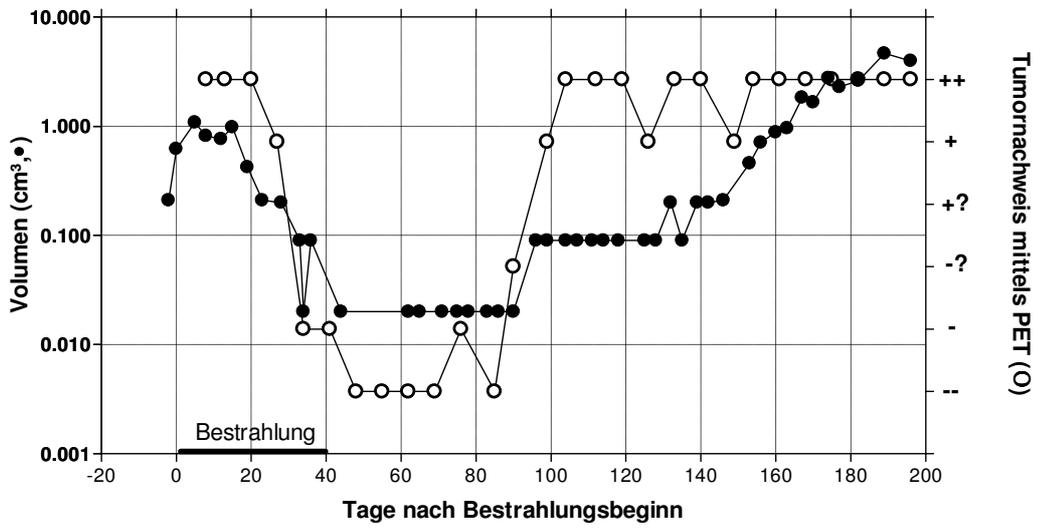
„-?“ = fraglich negativ

„-“ = negativ

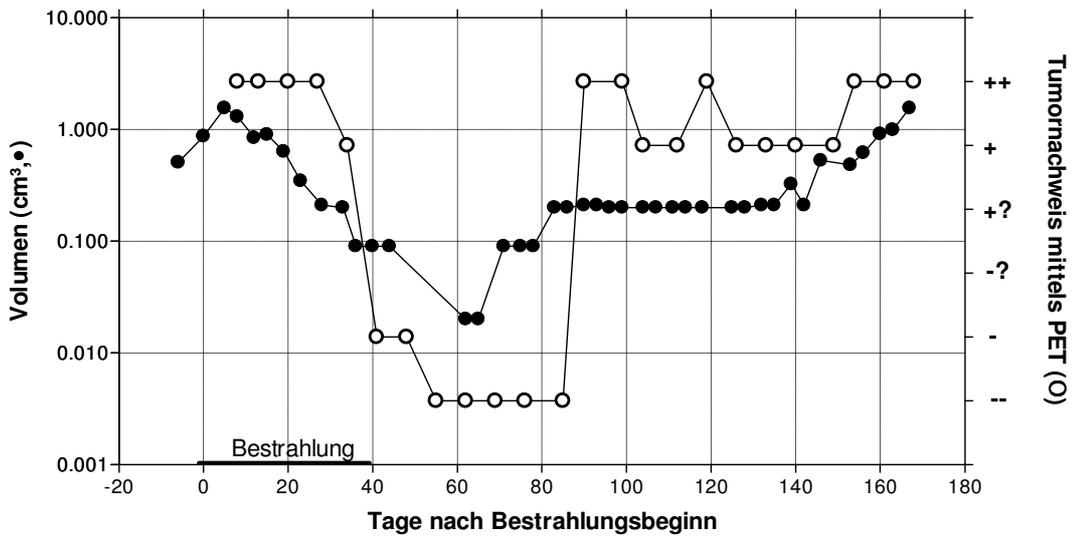
„--“ = sicher negativ

## 7.4.1 Lokalrezidive

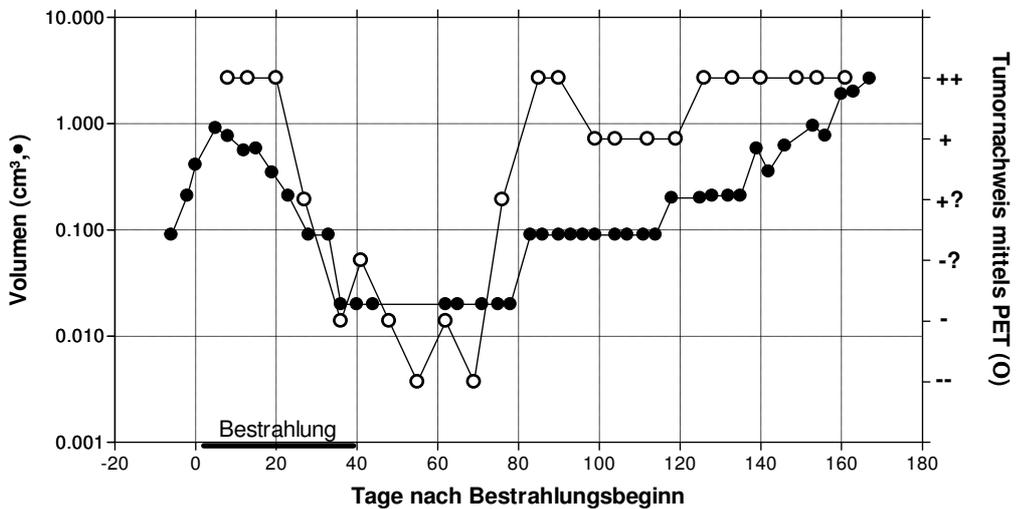
1



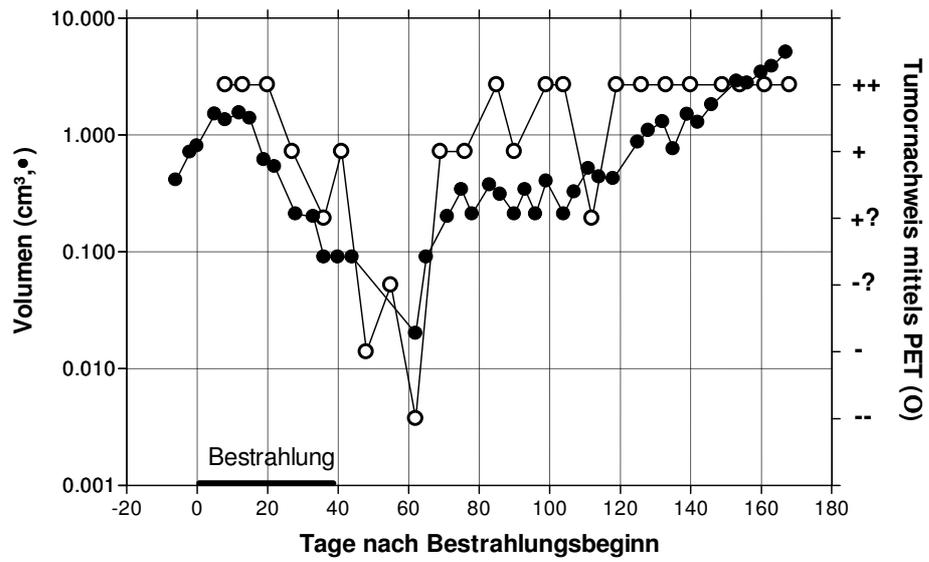
2



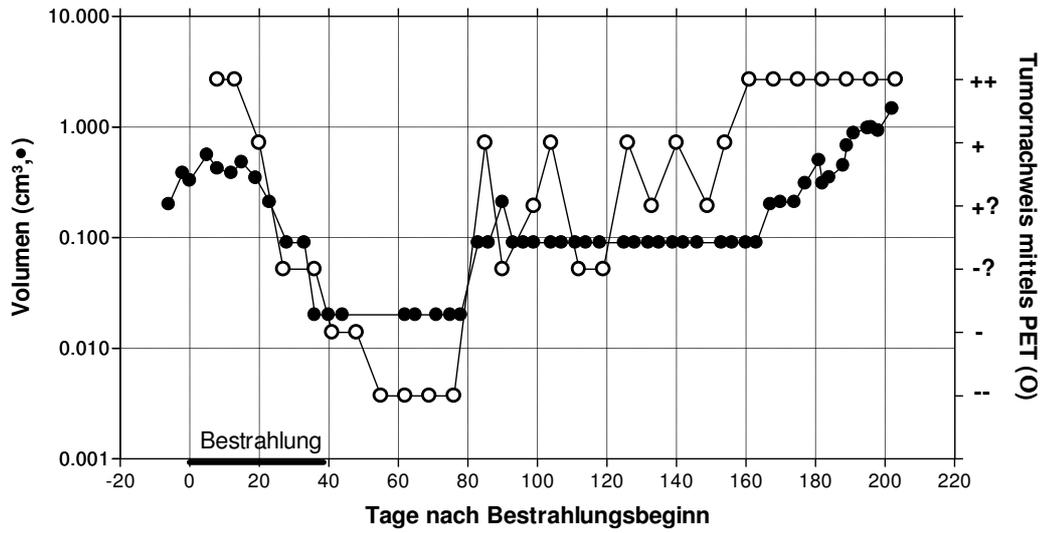
3



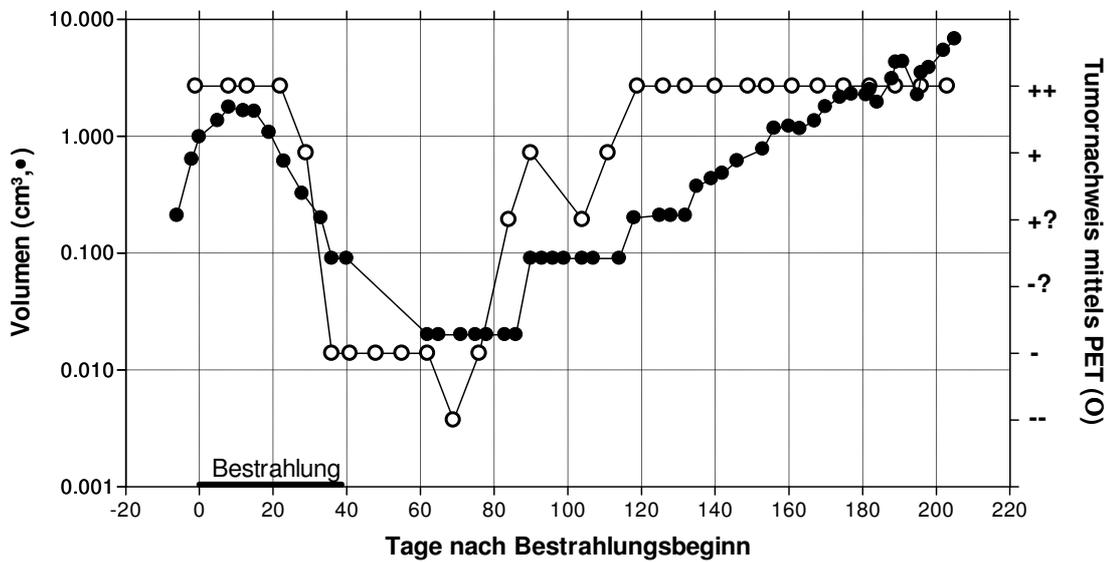
4



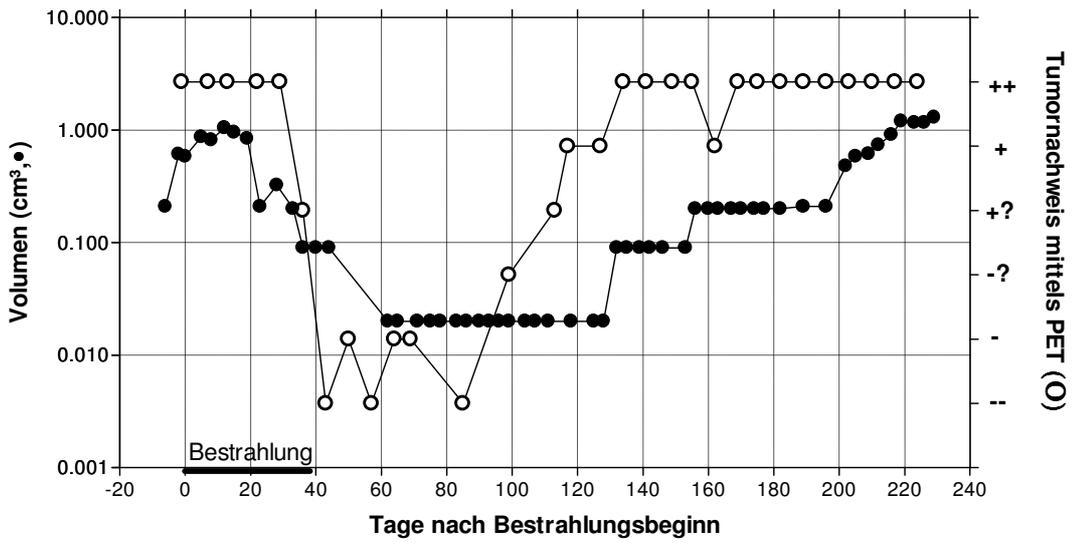
5



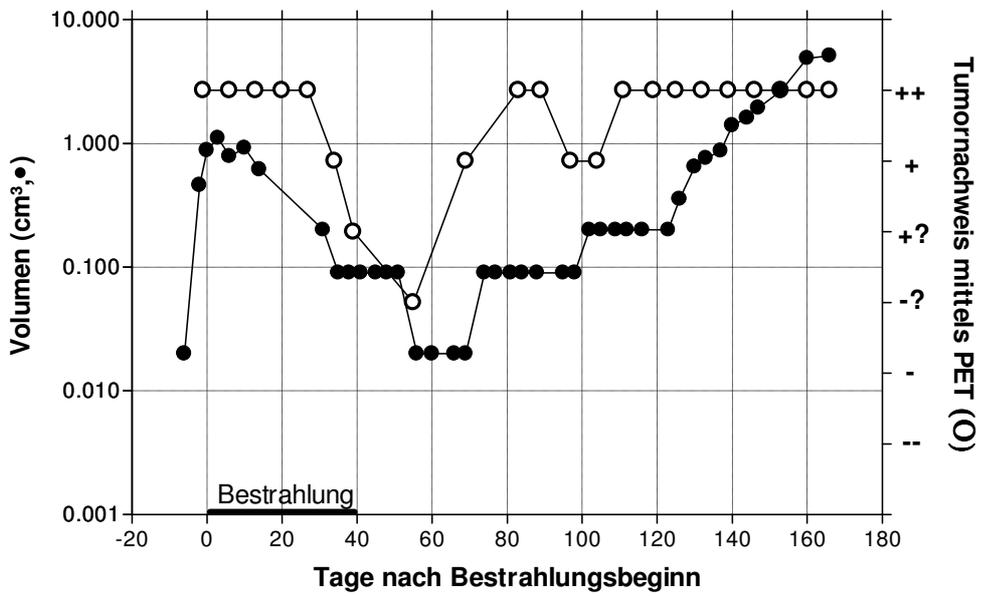
6



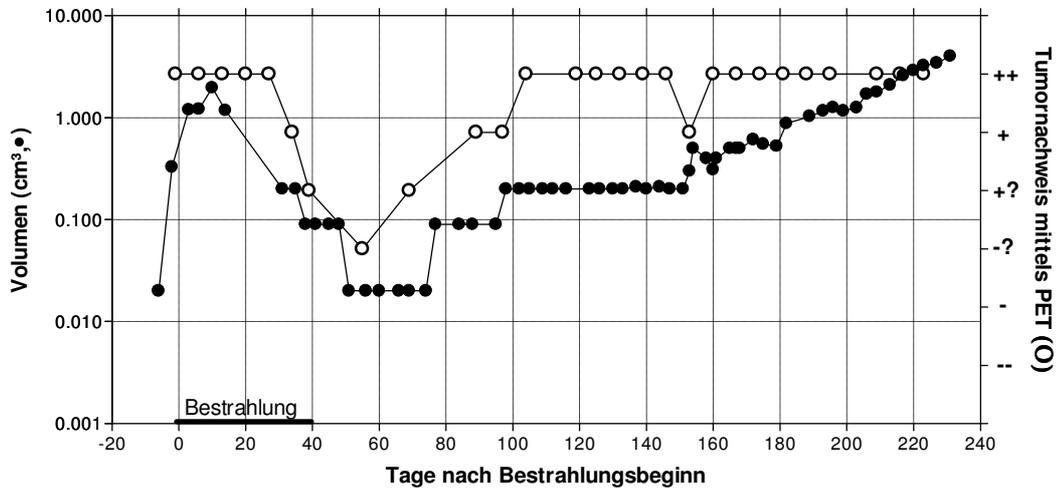
7



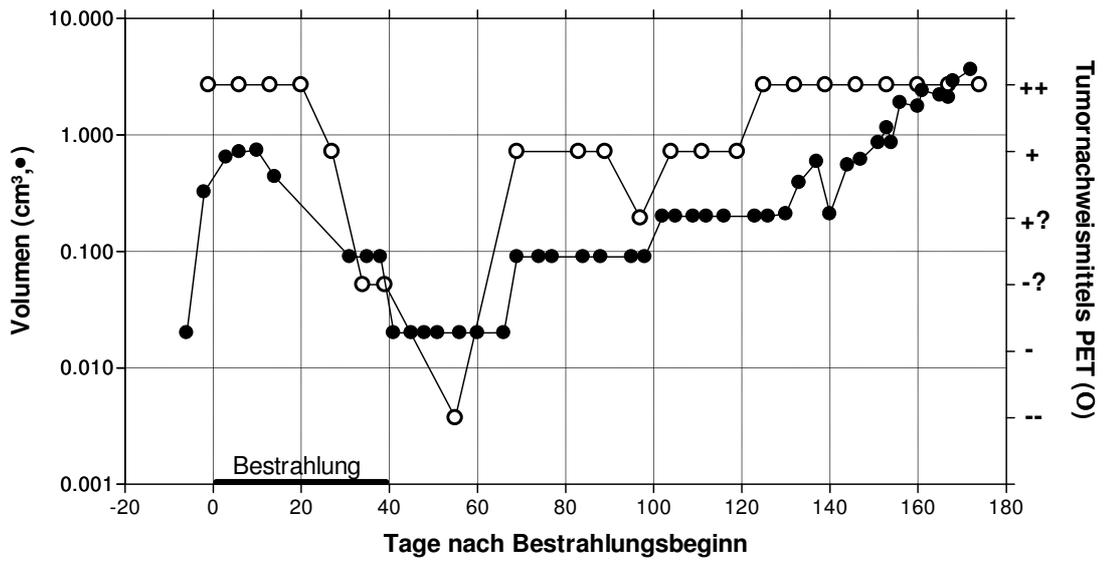
8



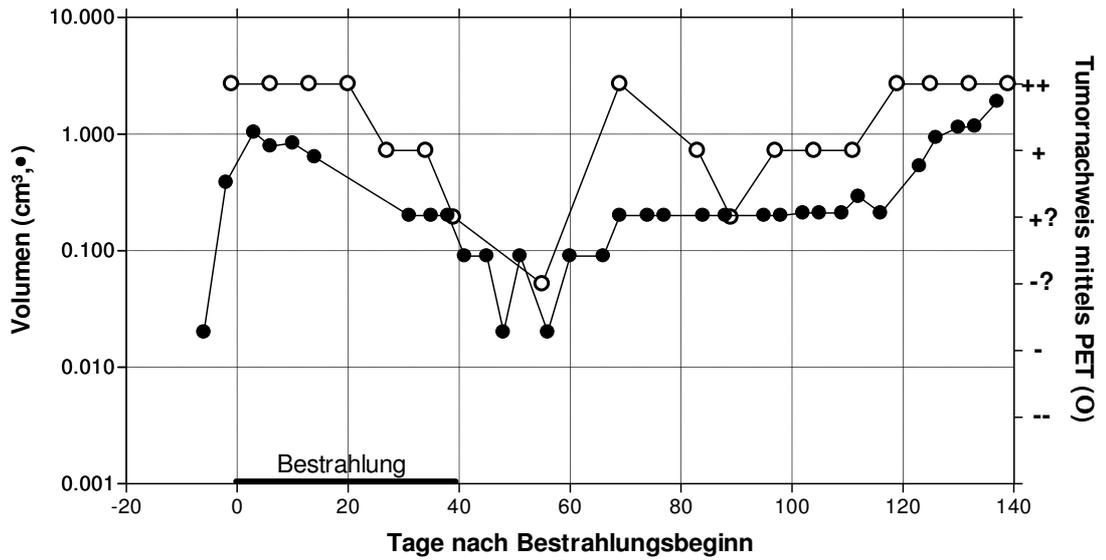
9



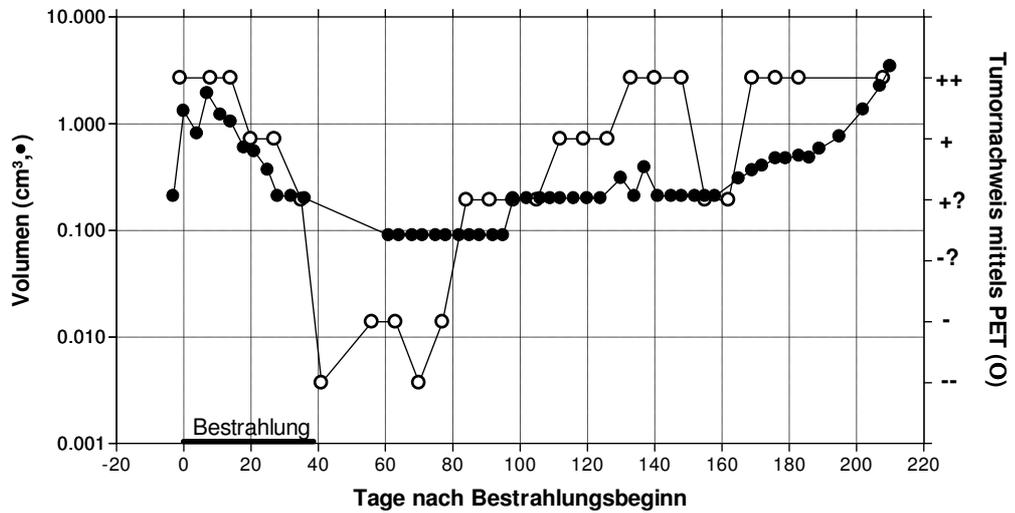
10



11

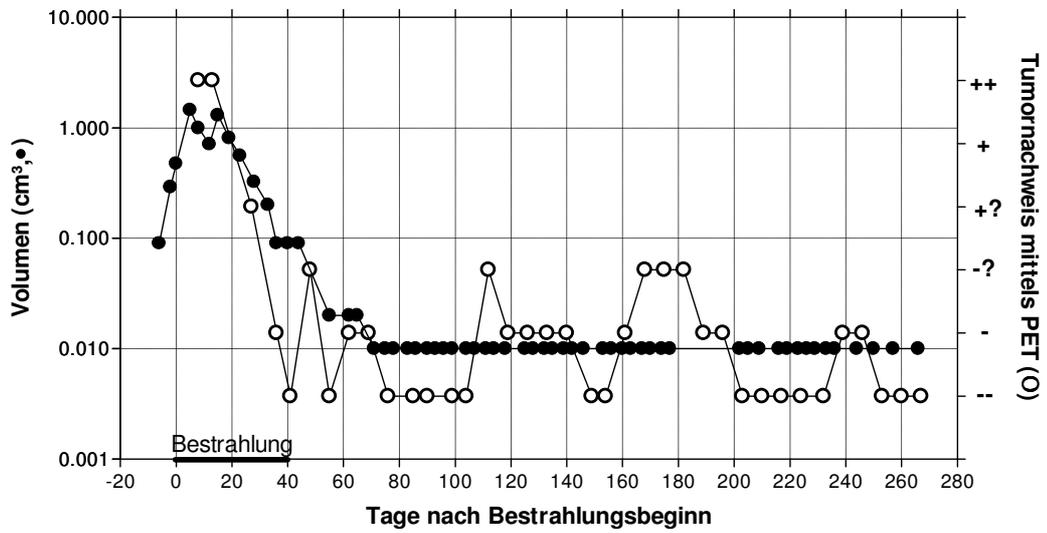


12

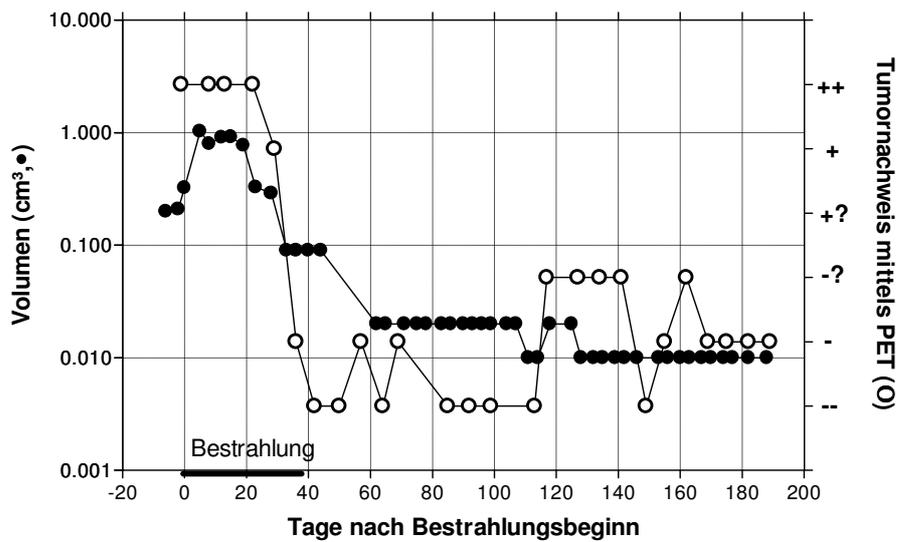


## 7.4.2 Lokale Kontrollen

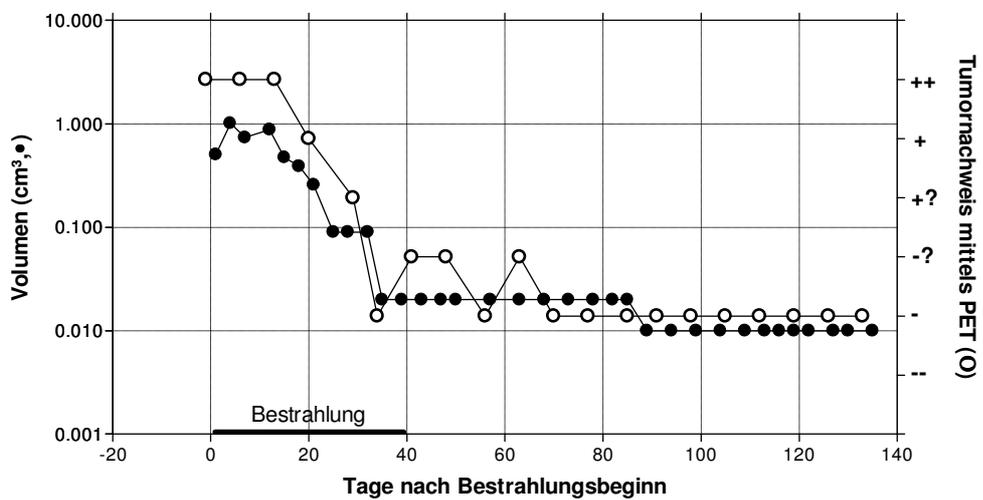
13



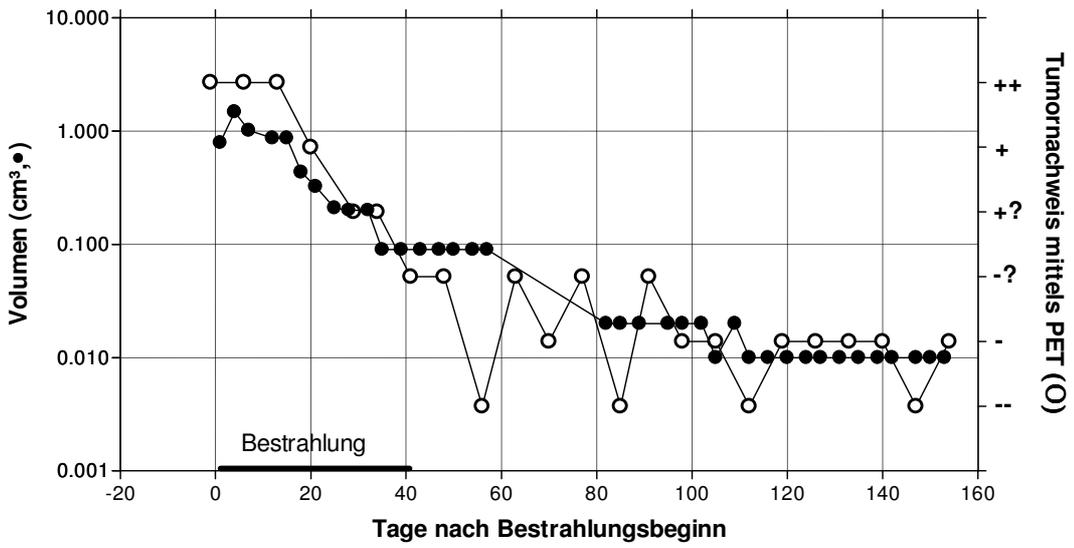
14



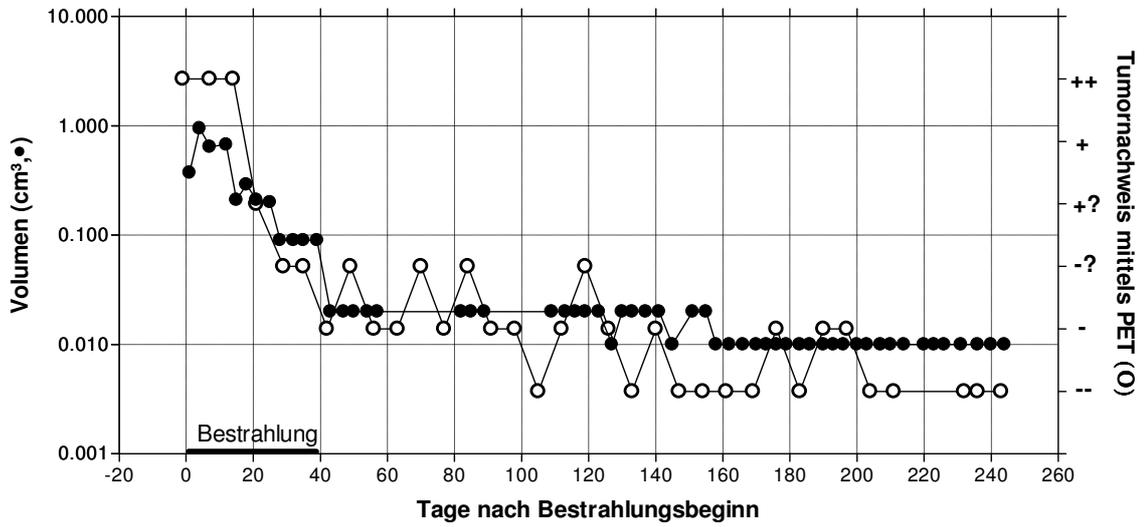
15



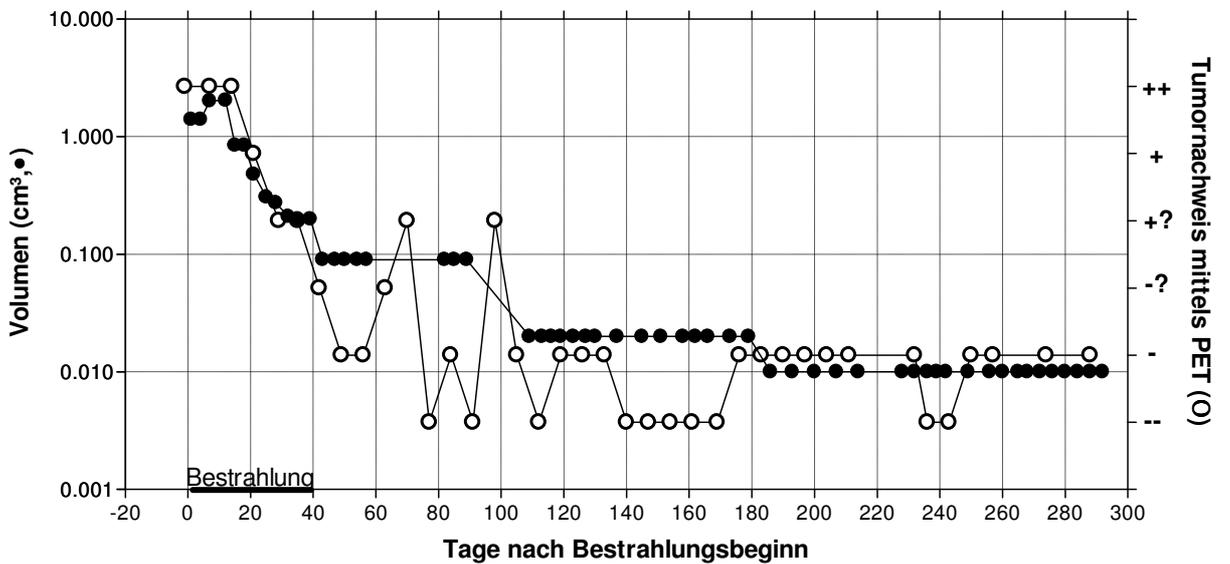
16



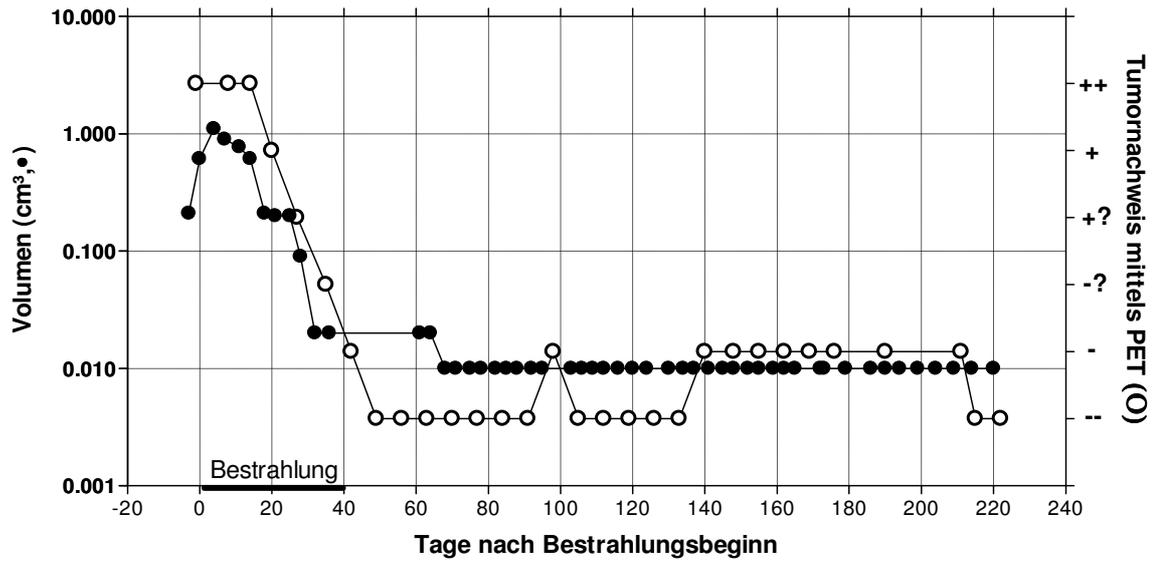
17



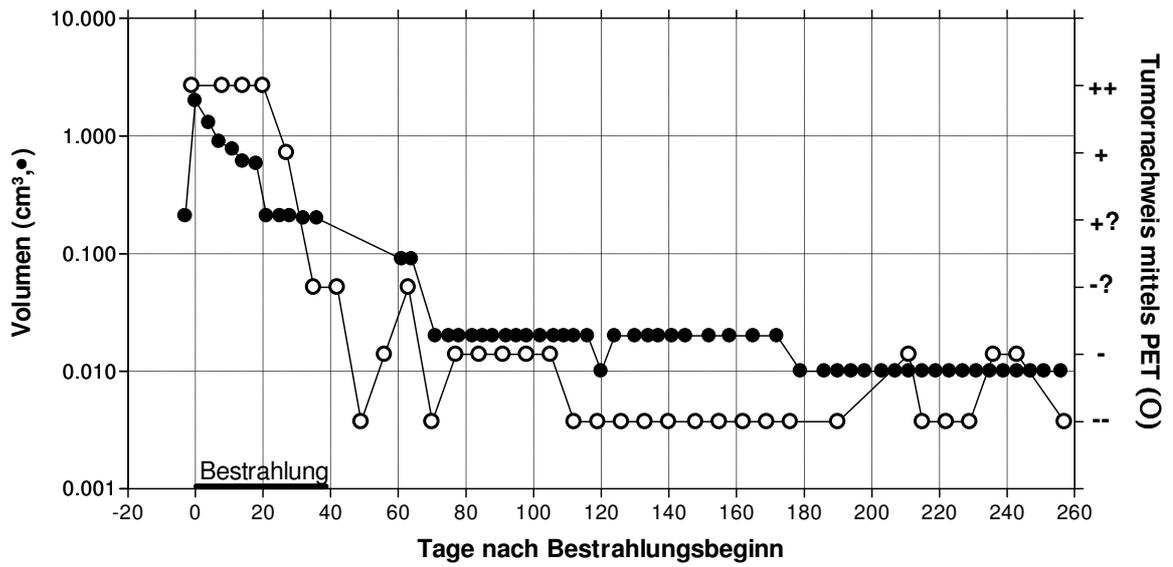
18



19



20



## 8 Lebenslauf

Name	Barbara Seegers, geb. Gerlich
geboren am	01.06.1966
in	Hamburg
Eltern	Josef Gerlich Martha Gerlich, geb. Schult
verheiratet mit	Manfred Seegers
1972 – 1976	Grundschule
1976 – 1985	Gymnasium
1986 – 1992	Verwaltungstätigkeit bei der Stella-Musical-GmbH
1992 – 1994	verschiedene Tätigkeiten im Bereich der Alten- und Krankenpflege
1994 –2001	Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg
2001-2003	Ärztin im Praktikum in der Medizinischen Klinik I des Zentrums für Innere Medizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf
seit 2003	Assistenzärztin in der Medizinischen Klinik I des Zentrum für Innere Medizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf Schwerpunkt Hepatologie

## **Danksagung**

Frau PD Dr. M. de Wit danke ich für die Überlassung des Themas, die kontinuierliche und hilfreiche Betreuung bei dieser Arbeit und die vielen konstruktiven Diskussionen.

Frau Dr. A. Raabe möchte ich für Ihre große Geduld und die hilfreiche Unterstützung bei der Auswertung der Daten und deren Interpretation danken.

Den Mitarbeitern der Abteilung für Nuklearmedizin insbesondere Herrn Dr. R. Buchert danke ich für die Unterstützung bei allen technischen und physikalischen Problemen. Mein ganz spezieller Dank gebührt hierbei Frau Schulte, die mir unermüdlich in Rat und Tat bei allen praktischen Problemen mit dem PET zur Seite stand.

Mein ganz besonderer Dank gebührt meinen Eltern, ohne deren Unterstützung mein Studium und diese Arbeit gänzlich unmöglich gewesen wären.

## **Erklärung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift:.....  
Barbara Seegers