

Aus der Klinik für Nuklearmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Erarbeitung eines optimalen Aufnahmemodus zur dynamischen
Bildgebung an einem Kleintier-Einzelphotonen-Emissionstomographie-
Gerät und Etablierung von Normwerten bei der Nieren- und
Speicheldrüsenfunktionsszintigraphie bei der Maus**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Kai Huang

aus Berlin

Datum der Promotion: 13.12.2019

INHALTSVERZEICHNIS

1. Abstract deutsch	3
2. Abstract englisch	4
3. Zusammenfassung	6
3.1. Einleitung	6
3.2. Materialien und Methodik	9
3.3. Ergebnisse	14
3.4. Diskussion	23
3.5. Literaturverzeichnis	31
4. Eidesstattliche Versicherung und Anteilserklärung	38
5. Druckexemplare der Publikationen	40
6. Lebenslauf	67
7. Publikationsliste	69
8. Danksagung	72

1. Abstract deutsch

Ziel: Ziel dieser Studien ist erstens die Ermittlung eines optimierten standardisierten Untersuchungsalgorithmus in der Multi-Pinhole Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (SPECT) für die dreidimensionale Nierenfunktions- und Speicheldrüsenzintigraphie an Mäusen zur präklinischen Forschung sowie zweitens die Erstellung von Normwerten für die Uptake-Kinetik von ^{99m}Tc -Technetium-Mercaptoacetyltriglycin (^{99m}Tc -MAG3) der Nieren sowie ^{99m}Tc -Technetium-Pertheneat ($^{99m}\text{TcO}_4$) der Speicheldrüsen in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und circadianem Rhythmus.

Methoden: Zunächst wurde anhand von Phantomen die optimale Aufnahmetechnik unter Vergleich der räumlichen und zeitlichen Auflösung und des systematischen Fehlers von konventioneller, semi-stationärer sowie stationärer SPECT-Bildgebung ermittelt. Anschließend wurden bei jeweils 12 weiblichen (F) und 12 männlichen (M) Mäusen dynamische semi-stationäre SPECT-Akquisitionen der Nieren mit ^{99m}Tc -MAG3 bzw. konventionelle SPECT-Aufnahmen der Speicheldrüsen mit $^{99m}\text{TcO}_4$ durchgeführt. Jede Maus wurde im Altersverlauf mit 1, 3, 6, 12 und 22 – 24 Monaten untersucht. Um physiologische Veränderungen bezüglich des circadianen Rhythmus zu erfassen, wurden die Tiere jeweils während der Schlafphase (SP) sowie der Wachphase (AP) untersucht. Die Nierenfunktion ist als Zeit-Aktivitäts-Kurve dargestellt und die Zeit bis zum Maximum (T_{\max}) als Median in Minuten aufgeführt. Bei den Speicheldrüsen wurde ebenfalls zum Zeitpunkt T_{\max} der maximale Uptake ermittelt. Diese Daten wurden getrennt für die Parotiden (PG) und den Submandibulären-Sublingualen-Speicheldrüsen-Komplex (SSC) dargestellt.

Ergebnisse: Generell zeigt sich bei den Nieren ein altersabhängiger Einfluss auf T_{\max} . Bei 1 Monate alten Tieren erfolgt T_{\max} (1,8 min) später als im Alter von 3 Monaten (1,7 min; $p = 0,035$). Im weiteren Altersverlauf zeigen die Mäuse einen kontinuierlich späteren Zeitpunkt von T_{\max} bis 22 Monate (2,3 min; $p < 0,001$). F zeigen ein späteres T_{\max} als M (F = 2,1 min, M = 1,7 min; $p < 0,001$) ab einem Alter von 3 Monaten. Bei gepoolten Daten erfolgt T_{\max} während der SP (2,0 min) generell später als während der AP (1,8 min; $p = 0,019$), während sich in den alters- und geschlechtsgetrennten Gruppen keine signifikanten Unterschiede nachweisen lassen.

Der maximale $^{99m}\text{TcO}_4$ -Uptake erfolgt bei der PG früher im Vergleich zum SSC (11 min versus 79 min; $p < 0,001$). Weder PG ($p = 0,64$) noch SSC ($p = 0,27$) zeigen einen Unterschied in Abhängigkeit vom circadianen Rhythmus. Mit dem Alter fällt der $^{99m}\text{TcO}_4$ -Uptake der PG signifikant ab ($p < 0,001$), während er im SSC ($p < 0,001$) ansteigt. Bei Normierung des

Uptakes auf das Speicheldrüsenvolumen zeigen F einen signifikant höheren Uptake als M in beiden Speicheldrüsen (PG: $p < 0,001$, SSC: $p < 0,001$).

Schlussfolgerung: Die Studien zeigen einen deutlichen Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Funktionsparameter der Szintigraphie von Niere und Speicheldrüsen bei der Maus, während der circadiane Rhythmus keinen eindeutigen Effekt aufweist. Deshalb sollten bei zukünftigen Studien mit Mäusen die Faktoren Alter und Geschlecht berücksichtigt werden, während der circadiane Rhythmus vernachlässigbar erscheint.

2. Abstract englisch

Aim: The aim of these studies was to establish optimized and standardized acquisition protocols for multi-pinhole single photon emission computed tomography (SPECT) for kidney and salivary gland scintigraphy and to generate normal values for renal uptake kinetics with ^{99m}Tc -mercaptoacetyltriglycine (^{99m}Tc -MAG3) and for salivary gland uptake kinetics with ^{99m}Tc -pertechnetate ($^{99m}\text{TcO}_4$) as a function of age, sex and circadian rhythm in mice.

Methods: First, different acquisition modes like conventional, stationary and semi-stationary SPECT were tested to find the best solution with respect to high spatial and time resolution and low systemic error. Subsequently, dynamic semi-stationary SPECT acquisitions with ^{99m}Tc -MAG3 for kidney scintigraphy in 12 female (F) and 12 male (M) mice were performed. In another 12 F and M mice conventional SPECT acquisitions were performed with $^{99m}\text{TcO}_4$ for salivary gland scintigraphy. Each mouse had follow-up examinations at 1, 3, 6, 12 and 22 – 24 months of age. To assess physiological changes related to circadian rhythm, animals were imaged during both sleeping phase (SP) and awake phase (AP). Renal excretion time activity curves were analysed to determine time to peak uptake (T_{max}). For analysis of salivary gland function, T_{max} of the parotid gland (PG) and submandibular-sublingual salivary gland complex (SSC) were calculated separately.

Results: There is an age-related effect on renal T_{max} . In one-month-old mice, median T_{max} (1.8 min) occurs later than in 3-month-old mice (1.7 min; $p = 0.035$). Thereafter, mice show a continuously increasing time to T_{max} up to an age of 22 months (2.3 min; $p < 0.001$). F show a later renal T_{max} than M (F 2.1 min, M 1.7 min; $p < 0.001$) from 3 months onwards. An effect of circadian rhythm on renal function is also observed with borderline relevance. Pooled results for all animals show that renal T_{max} appears at a later timepoint during SP (2.0 min) than during AP (1.8 min; $p = 0.019$), while in age and sex matched animal groups no significant differences are observed.

Maximum $^{99m}\text{TcO}_4$ uptake occurs earlier in PG (11 min) than in SSC (79 min; $p < 0.001$). No significant effect of circadian rhythm is observed in PG ($p = 0.64$) and SSC ($p = 0.27$) uptake. With aging, $^{99m}\text{TcO}_4$ uptake decreases for PG ($p < 0.001$), while it increases for SSC ($p < 0.001$). Normalizing the uptake to gland volume shows that F have a higher uptake in PG and SSC than M (each: $p < 0.001$).

Conclusion: These studies show that scintigraphy of kidney and salivary glands in mice is dependent on age and sex, whereas circadian rhythm does not cause a significant effect. Therefore, age and sex should be considered as important parameters for study design considerations for further scintigraphic examinations in mice, while the impact of circadian rhythm seems negligible.

3. Zusammenfassung

3.1 Einleitung

Radioligandentherapien sind effektive Therapien der Nuklearmedizin: ^{90}Y (Yttrium (^{90}Y)) oder ^{177}Lu (Lutetium (^{177}Lu)) gebunden an ein Somatostatinanalogon (z.B. (DOTA(0)-Phe(1)-Tyr(3))octreotid (DOTATOC)) wird bereits seit etwa 20 Jahren zur Behandlung von metastasierten neuroendokrinen Tumoren, die häufig einen Somatostatinrezeptorbesatz aufweisen, eingesetzt (1). Seit etwa fünf Jahren wird auch mit ^{177}Lu markiertes Prostata-spezifisches Membranantigen (PSMA) bei der Behandlung des metastasierten, kastrationsresistenten Prostatakarzinoms verwendet (2, 3); experimentell wird bereits mit α -Strahlern markiertes (^{225}Ac Actinium, ^{225}Ac) PSMA therapeutisch eingesetzt (4). Diese Therapien machen sich die Überexpression von PSMA in Prostatakarzinomzellen zunutze, welche sogar bei höhergradigen Karzinomen, Entdifferenzierung sowie bei kastrationsresistenten Formen zu finden ist (2, 5).

Physiologisch werden sowohl ^{90}Y - / ^{177}Lu -Somatostatinanaloge als auch ^{177}Lu - / ^{225}Ac -PSMA über die Nieren ausgeschieden; ^{177}Lu - / ^{225}Ac -PSMA zeigt außerdem eine deutliche Anreicherung in den Speicheldrüsen (2-4, 6). Das führt zur erhöhten Strahlenexposition in diesen Organen und damit verbunden auch zu einer möglichen Funktionseinschränkung. Bisher wurden eine klinisch nicht relevante Nierenfunktionsstörung in 12 % und eine milde Xerostomie in 8 % nach ^{177}Lu -PSMA-Therapien beobachtet während bei ^{225}Ac -PSMA nahezu regelhaft eine ausgeprägte Funktionseinschränkung der Speicheldrüsen zu beobachten ist; nach Therapien mit ^{90}Y - / ^{177}Lu -Somatostatinanaloge traten in bis zu 35 % Nephrotoxizitäten auf (2, 7).

Um diese Therapien weiter zu optimieren und Nebenwirkungen zu reduzieren, ist eine systematische präklinische Forschung an Nieren und Speicheldrüsen von Nöten. Kombinierte Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie / Computertomographie (SPECT/CT)-Geräte mit hoher Auflösung, welche sich für die in-vivo Funktionsuntersuchung dieser Organe an Mäusen und Ratten eignen, gibt es seit den 2000er Jahren (8). Bisher sind jedoch keinerlei Normwerte für die Nieren- und Speicheldrüsenfunktionsszintigraphie bei gesunden Mäusen als Grundlage für die präklinische Forschung ermittelt. Um gezielt Nebenwirkungen neuartiger Therapieverfahren (z.B. nach Radioliganden- oder auch Immun- oder Chemotherapien) erfassen bzw. organspezifische Schutzmaßnahmen beurteilen zu können, ist es notwendig, zunächst Normwerte für die szintigraphische Funktionsuntersuchung von Nieren und Speicheldrüsen zu erstellen und ebenso auf Unterschiede zwischen Geschlechtern, Altersstufen und circadianem Rhythmus bei der Maus zu untersuchen. Darüber hinaus sollten zuverlässige

und reproduzierbare Untersuchungsprotokolle für beide Organsysteme für eine zukünftig standardisierte szintigraphische Untersuchung erstellt werden.

Die erste vorliegende Studie dieser Arbeit befasst sich mit der Evaluation der optimalen Aufnahmeparameter der Kleintier-SPECT bei dynamischen Nierenaufnahmen mit ^{99m}Techneium (^{99m}Tc)-Mercaptoacetyltriglycin (MAG3). Aufgrund der schnellen Nuklidanflutung in der Niere und der Ausscheidungsfunktion der Nieren sind schnelle dynamische Aufnahmen notwendig, um die Nierenfunktion und somit deren Kinetik abzubilden und Funktionsstörungen adäquat zu detektieren.

Hochauflösende Kleintier-Multi-Pinhole-SPECT basiert auf vier konventionellen szintigraphischen Detektoren mit jeweils einem Multi-Pinhole-Kollimator. Dieser besteht aus neun Pinholes, welche in unterschiedlichen Winkeln angelegt sind und so mit hoher Auflösung die Abdeckung eines für Pinhole-Kollimatoren relativ großen Gesichtsfeldes ermöglichen. Um schnelle, das heißt zeitlich hochaufgelöste dreidimensionale Aufnahmen zur Messung der Nierenkinetik zu erhalten, gibt es folgende Möglichkeiten der Aufnahmetechnik: Zum einen konventionelle SPECT-Aufnahmen mit Rotation der Gamma-Kamera um den gesamten Körper zur Detektion der Strahlung aus unterschiedlichen Raumrichtungen nach Injektion eines Nuklids. Des Weiteren die stationäre SPECT-Technik, bei der die Detektoren in der Gantry nicht rotieren. Zuletzt existiert eine semi-stationäre Aufnahmetechnik, bei der die Gantry mit den Detektoren in zwei Positionen um jeweils 45° versetzt rotiert. Bei Rotation der Gantry muss die Rotationszeit bedacht werden, in welcher keine Detektion der Strahlung durch die Gamma-Kamera stattfinden kann. Je weniger Rotationszeit, desto schnellere dreidimensionale Bildfolgen sind möglich, allerdings muss dann der Einfluss auf die Erfassung der dreidimensionalen Verteilung und damit auf die Genauigkeit der quantitativen Messung untersucht werden.

Nachdem die optimale Aufnahmetechnik für dynamische Nierenuntersuchungen in der ersten Studie ermittelt worden war, wurden in einer zweiten Studie Normwerte für die Nierenfunktionsszintigraphie bei der Maus in Abhängigkeit von Tageszeit, Geschlecht und Alter erhoben. Die Nierenfunktionsszintigraphie ist eine der ältesten und am besten entwickelten Möglichkeiten der Nierenfunktionsdiagnostik in der Nuklearmedizin (9). Die ersten Untersuchungen der Niere mittels Radionukliden (¹³¹Iod-Diodrast) wurden 1956 beschrieben (10, 11). Schon damals konnten hierdurch Nierenbeckenstenosen, Nierenarterienstenosen und die tubuläre Nekrose nachgewiesen werden (12). Heute wird die Nierenfunktionsszintigraphie hauptsächlich zur Ermittlung der renalen Clearance, zur

Funktions-Seitentrennung sowie zur Detektion von Funktionsstörungen genutzt (13). Dabei spielen die Zeit bis zum maximalen Uptake (T_{\max}) genauso wie der Zeitpunkt der Abnahme der detektierten Strahlung zur Hälfte (T_{50}) als Funktionsparameter eine wesentliche Rolle (9, 14, 15). Als Nuklid wird heutzutage für die Nierenszintigraphie ^{99m}Tc verwendet. Dieses wird an MAG3 gebunden, welches tubulär sezerniert wird (16).

In der dritten Studie wurden SPECT-Aufnahmen von den Speicheldrüsen der Maus mit ^{99m}Tc -Pertechnetat ($^{99m}\text{TcO}_4$) für die Erhebung von Normwerten erstellt. Die Hauptaufgabe der Speicheldrüsen ist die Speichelproduktion, welche für die Verdauung nötig ist sowie ausschlaggebend für die enorale Gesundheit. Der größte Anteil des Speichels (99,5 %) besteht aus Wasser, der Rest beläuft sich auf Elektrolyte, Enzyme und Muzine (17). Bei der Maus gibt es drei paarig angelegte Speicheldrüsen: die Parotiden (PG), die sublingualen und die submandibularen Speicheldrüsen (18). Die Szintigraphie der Speicheldrüsen umfasst die Diagnostik der Sekretionsstörungen des Speichels. Für die Darstellung wird $^{99m}\text{TcO}_4$ als Iod-Analogon injiziert, das aufgrund des Vorhandenseins von Natrium-Iodid-Symportern (NIS) (19), welche sich hauptsächlich im duktalem Epithel befinden, wie Iod ins Gewebe der Speicheldrüsen aufgenommen wird (20).

3.2 Materialien und Methodik

SPECT-Technik

Verwendet wurde für alle szintigraphischen Untersuchungen das nanoSPECT/CTplus (Mediso, Ungarn / Bioscan, Frankreich). Um die optimale Aufnahmetechnik für tierexperimentelle Untersuchungen zu ermitteln, erfolgten Untersuchungen mit ^{99m}Tc und ^{123}I (^{123}I) an vier verschiedenen Multi-Pinhole Aperturen: eine für Ratten mit hoher Auflösung (Pinhole-Durchmesser = 1,5 mm), eine für Ratten mit ultra-hoher Auflösung (Pinhole-Durchmesser = 0,8 mm), eine für Mäuse mit hoher Auflösung (Pinhole-Durchmesser = 1,0 mm) sowie eine für Mäuse mit ultra-hoher Auflösung (Pinhole-Durchmesser = 0,5 mm). Die Bilder wurden mit der Software HiSPECT (Bioscan, Washington, DC, USA) rekonstruiert.

Räumliche Auflösung

Um die optimale räumliche Auflösung zu ermitteln, wurde eine Glaskapillare mit einem Durchmesser von 1,0 mm mit ^{99m}Tc oder ^{123}I (ca. 50 MBq/ml) gefüllt. Anschließend wurde sie axial ins axiale Zentrum des field of view (FOV) des SPECT/CT-Geräts gelegt. Da sowohl bei stationären als auch bei semi-stationären Aufnahmen nur mit einer Bettposition untersucht werden kann, ist das maximale FOV bei der Verwendung der Rattenaperturen 22 mm und der Mausaperturen 14 mm. Die Untersuchungen wurden in jedem Modus (konventionell mit zehn Winkelschritten, semi-stationär mit zwei Winkelschritten und stationär ohne Rotation der Gantry) durchgeführt. Jeder Scan wurde dreimal durchgeführt, um die statistische Zuverlässigkeit der Ergebnisse zu optimieren. Die räumliche Auflösung wurde durch das transaxiale Intensitätsprofil bestimmt (21). Nach der Korrektur wurde eine Gauß'sche Kurve zur Bestimmung der full-width-at-half-maximum (FWHM) angepasst. Die vertikale und horizontale FWHM wurden gemittelt. Das entstehende FWHM wurde über 40 konsekutive, transaxiale Schichten gemittelt, da über die axiale Länge keine relevante Variation besteht.

Quantifizierung

Spritzen mit verschiedenen Größen wurden als Phantomersatz für Versuchstiere genutzt: eine 5 ml Spritze mit einem Durchmesser von 12 mm (entspricht Größe eines Mausgehirns), eine 20 ml Spritze mit einem Durchmesser von 19 mm (entspricht Größe eines Rattengehirns) und eine 50 ml Spritze mit einem Durchmesser von 27 mm (entspricht Größe eines Mausthorax). Jede Spritze wurde mit ca. 50 MBq/ml ^{99m}Tc gefüllt und in jedem Aufnahmemodus mit der

gleichen Netto-Dauer gescannt, welche sich aufgrund der Totzeit bei der Detektorrotation unterschied. 1.000.000 Counts wurden in jedem Scan aufgenommen, um eine gute Bildqualität zu erreichen. In jeder SPECT Aufnahme wurde anschließend die Aktivität durch das Einzeichnen einer großen volume of interest (VOI), welche die gesamte Spritze einschließt, gemessen.

Rauschen

Eine 5 ml Spritze wurde mit ^{99m}Tc mit einer Aktivität von 0,5 MBq/ml gefüllt und anschließend in jedem Modus netto gleich lang gescannt. Es wurden auch Aufnahmen mit unterschiedlichen Frame-Dauern durchgeführt, um den Rauscheffekt und die damit verbundene Bildunschärfe zu untersuchen. Auch hier wurde anschließend eine zylinderförmige VOI mit einem Radius von 4 mm um die Spritze gelegt und der relative Wert des Rauschens wurde innerhalb der VOI berechnet.

Jaszczak-Phantom

Ein kleines Jaszczak-Phantom mit 6 Stäbchenfeldern mit 1,0 - 1,5 mm innerem Durchmesser wurde mit 90 MBq/ml ^{99m}Tc gefüllt und in jedem Akquisitionsmodus mit einer Netto-Dauer von 60 min gescannt. Der radioaktive Zerfall während der drei Untersuchungen wurde durch verlängerte Frames ausgeglichen. Für diesen Versuch wurde die Ratten-Apertur mit hoher Auflösung genutzt.

Nieren- und Speicheldrüsenszintigraphie

Versuchstiere und Studiendesign

Um szintigraphische Normwerte von den Nieren und Speicheldrüsen der Maus zu ermitteln, wurden in zwei weiteren Studien zwei Gruppen mit je 24 Mäusen (je 12 männliche und 12 weibliche) gebildet. Die Versuchstiere waren gesunde C57BL/6N Mäuse und alle Versuche wurden von der Tierversuchskommission des Landesamts für Gesundheit und Soziales (LAGeSo) genehmigt. Gehalten wurden jeweils 6 Mäuse in einem Käfig getrennt nach Geschlechtern unter standardisierten Bedingungen, welche einen festen 12-Stunden-Rhythmus mit Tageslicht (7.00-19.00 Uhr) und Dunkelheit (19.00 – 7.00 Uhr) beinhalteten.

Für die Untersuchungen an der Niere und den Speicheldrüsen wurde jedes Tier im Rahmen einer Longitudinalstudie untersucht. Die erste Untersuchung erfolgte in einem juvenilen Alter von einem Monat, die zweite Untersuchung mit 3 Monaten (geschlechtsreif, jedoch nicht vollständig ausgewachsen), die dritte mit 6 Monaten (vollständig ausgewachsen), die vierte

Untersuchung im Alter von 12 Monaten (alt) und die letzte in einem Greisenalter von 22 – 24 Monaten. Um mögliche Unterschiede in Abhängigkeit vom circadianen Rhythmus feststellen zu können, erfolgten die Untersuchungen in jeder Altersgruppe jeweils in der ersten Hälfte des Tages (8.00 - 14.00 Uhr), welche der Ruhe- und Schlafphase der Mäuse entspricht, sowie in der ersten Hälfte der Nacht (17.00 - 23.00 Uhr), welche der Wachphase der Mäuse entspricht. Damit die Belastung der Untersuchungen für die jüngsten Mäuse (1 Monat) reduziert wird, wurde hier jeweils nur eine Untersuchung durchgeführt: sechs Mäuse nur in der Wachphase und sechs Tiere nur in der Schlafphase. Um den Narkoseeffekt auf eine nachfolgende Untersuchung auszuschließen, wurden mindestens 84 Stunden Pause zwischen zwei Untersuchungen eingehalten.

Während der longitudinalen Untersuchung mussten einige Mäuse aufgrund von gesundheitlichen Problemen oder Tod aus der Studie ausgeschlossen werden. So nahm die Zahl der Versuchstiere während der 24 Monate ab. Es wurden keine Ersatztiere neu eingeschlossen, da auf die longitudinale Untersuchungsfolge Wert gelegt wurde. Details zur Anzahl der Tiere zu den einzelnen Studienzeitpunkten sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Aufgrund des geringen Blutvolumens einer Maus, war eine Bestimmung von Laborparametern (z.B. Serum-Kreatinin) aus dem Blut am lebenden Versuchstier nicht möglich.

SPECT/CT Bildgebung und Auswertung

Die Mäuse wurden vor jedem Versuch mit einem 1 - 2 %igen Isofluransauerstoffgemisch narkotisiert. Bei der Nierenfunktionsszintigraphie wurde für die Injektion in die Schwanzvene eine 30 G Kanüle genutzt, an welche ein 0,28 x 0,61 mm Katheter von 40 cm Länge (A. Hartenstein, Portex, Deutschland) befestigt war. Dieser wurde mit 2 IE Heparin (Medunasal)/ ml 0,9 % Natriumchlorid befüllt. Als erstes erfolgte eine low-dose CT-Untersuchung, um die Maus richtig im Gerät zu positionieren. Anschließend wurde ein semi-stationärer SPECT-Scan gestartet mit einem FOV von 14 mm. Dieser Scan wurde direkt vor Injektion von ca. 50 MBq ^{99m}Tc -MAG3 in einem Volumen von 0,2 ml gestartet. Die semi-stationäre, dynamische SPECT-Untersuchung wurde mittels zwei um 45° versetzte Detektorpositionen pro Frame durchgeführt. Die Untersuchungsfolge bestand aus zehn 20 s Frames (10 s pro Detektorposition), gefolgt von fünfundzwanzig 50 s Frames (25 s pro Detektorposition). Um die zeitliche Auflösung zu verbessern, wurden zur Rekonstruktion der 68 Bilder nicht nur die beiden Aufnahmen eines Frames genutzt, sondern auch die zweite Aufnahme eines Frames mit der ersten Aufnahme des folgenden verrechnet. Die Totzeit aufgrund der Detektorrotation beträgt ungefähr 10 sec. Somit betrug die Gesamtdauer eines Scans etwa 35 min.

Die SPECT-Bilder sind mit einem Algorithmus der Software HiSPECT (Bioscan, Washington, DC, USA) mit standardisierten Bedingungen (3 x 3 Wiederholungen; 35 % Glättung) rekonstruiert. Die anschließende Bildauswertung erfolgte mit manuellem Einzeichnen des volume-of-interest (VOI) um die Niere mittels der Software VivoQuant 1.22 (inviCRO LCC., USA). Gezeichnet wurde die VOI in der Aufnahme mit dem stärksten renalen Uptake mit einer Bildintensität von ca. 25 % für jede Niere. Die VOI um die Niere beinhaltete den renalen Cortex, das Mark und das Nierenbeckenkelchsystem (siehe Abbildung 1). Zu jeder Niere wurde eine Zeit-Aktivitäts-Kurve (TAC) erzeugt, welche die absolute Aktivität jeder VOI im Verhältnis zur Zeit darstellt. T_{max} , T_{50} (50 % des Nuklides sind ausgeschieden) und T_{25} (75 % des Nuklides sind ausgeschieden) wurden anhand der TAC berechnet. Die Korrektur der Zeit zur Injektion erfolgte durch die zusätzliche Darstellung von T_0 .

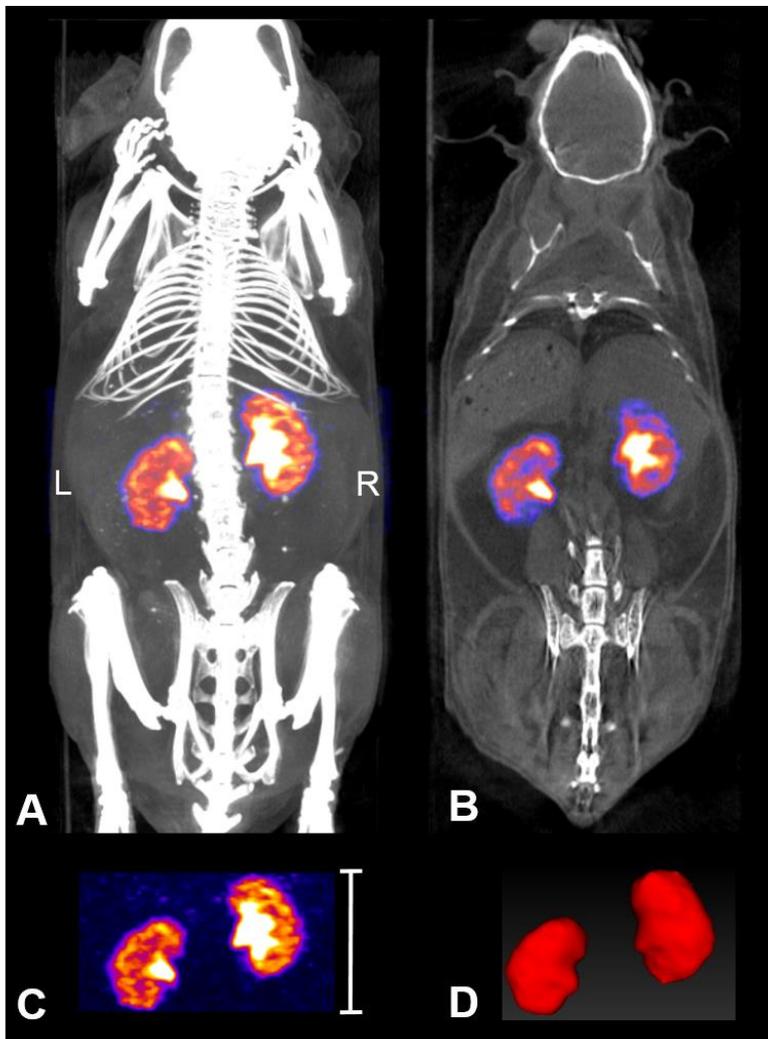


Abbildung 1: SPECT Bilder einer 12-Monate-alten weiblichen Maus. Hier ist der Uptake 12 min nach intravenöser Injektion von 30 MBq ^{99m}Tc -MAG3 dargestellt. A zeigt fusionierte SPECT/CT Bilder maximaler Intensität, B in koronarer Projektion. SPECT mit einem axialen FOV von 14 mm (C; Skala = 14 mm). D zeigt eine 3-dimensionale VOI beider Nieren.

Bei der Untersuchung der Speicheldrüse erfolgte die Injektion ca. 5 min vor dem Start der SPECT-Untersuchung. Aufgrund des weniger raschen Anflutens in den Speicheldrüsen war dieses Vorgehen ausreichend. Es wurden 80 MBq $^{99m}\text{TcO}_4$ (0,1 – 0,15 ml) in die Schwanzvene

injiziert. Es erfolgten neun aufeinanderfolgende SPECT-Aufnahmen von je zehn Minuten Dauer, weshalb die Gesamtuntersuchungsdauer hier durch die Rotationsdauer 97,5 min betrug. Der jeweilige Uptake bei den Speicheldrüsen wurde durch manuelles Zeichnen einer VOI mittels der Software PMOD (PMOD 3.4; PMOD Technologies Ltd., Switzerland) ermittelt. Hierbei sind die beiden PG getrennt ermittelt, später jedoch bei der statistischen Auswertung zusammengefasst worden (siehe Abbildung 2). Aufgrund der engen Lagebeziehung und der morphologisch in der Bildgebung nicht eindeutig voneinander zu unterscheidenden submandibularen und sublingualen Speicheldrüsen sind diese beim Zeichnen der VOI als submandibular-sublingualer-Speicheldrüsen-Komplex (SSC) zusammengefasst. Der prozentuale Anteil des Uptakes in den Speicheldrüsen ist zum Zeitpunkt des maximalen Uptakes in der jeweiligen VOI in Prozent der gesamten injizierten Aktivität (%ID) bestimmt. Durch die nicht ausreichende Darstellung der Speicheldrüsen in der CT-Untersuchung wurden die SPECT-Bilder genutzt, um das Volumen der Speicheldrüse zu bestimmen, auch wenn die SPECT-Bildgebung methodenbedingt kein genaues bildgebendes Verfahren darstellt, um die absolute Größe eines Organs zu bestimmen. Um zwischen den verschiedenen Untersuchungen vergleichbare Ergebnisse zu schaffen, wurde die Volumenbestimmung jeweils bei gleicher Kontrasteinstellung durchgeführt.

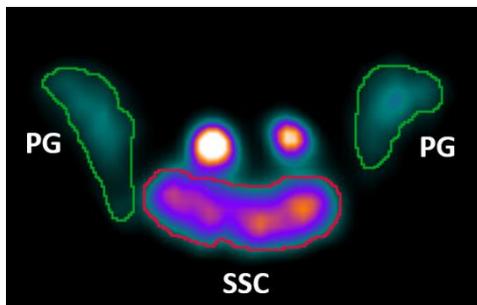


Abbildung 2: Der Uptake in den PG und dem SSC wurde durch manuelles Einzeichnen einer VOI um das jeweilige Organ ermittelt.

Statistik

Die statistische Analyse der erhobenen Daten erfolgt mit R 3.4.1 (R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich). Die Ergebnisse sind als Median, Interquartilabstand [IQR, 25. - 75. Perzentile] und Minimum und Maximum angegeben. Diese Werte wurden auch mittels Boxplots dargestellt. Gepaarte Daten mit mehr als zwei Gruppen wurden mittels Friedman-Test analysiert. Um den Alphafehler zu korrigieren, wurde die Bonferroni-Methode angewandt. Um ungepaarte Daten zu vergleichen, wurde der Mann-Whitney-U (MWU) Test genutzt. Ab einem p-Wert kleiner 0,05 wurden Unterschiede als signifikant gewertet. Der Zusammenhang von zwei metrischen Parametern ist mittels Spearman's rho-Korrelationskoeffizient analysiert.

3.3 Ergebnisse

Optimaler Aufnahmemodus für dynamische Untersuchungen

Die örtliche Auflösung nimmt bei den verschiedenen SPECT-Aufnahmen mit abnehmendem Pinhole-Durchmesser zu. Bei den Rattenaperturen ist dieser Effekt auf Grund der größeren Durchmesser deutlicher ausgeprägt als bei den Mausaperturen. Für die Untersuchung der Mäuse können Aufnahmen mittels Mausapertur mit ultrahoher Auflösung für schnelle Scans nicht empfohlen werden, da die geringe Verbesserung der räumlichen Auflösung verglichen mit der hohen Auflösung der Mausapertur mit hoher Auflösung mit deutlicher Verminderung der Zähleffizienz um 75 % einhergeht. Die semi-stationären und die stationären Aufnahmen zeigen nur gering schlechtere Ergebnisse als die konventionellen Aufnahmen in der räumlichen Auflösung. Jedoch ist die konventionelle Aufnahmetechnik im Verhältnis zu der stationären und semi-stationären Technik zu langsam, weshalb sie für schnelle dynamische Untersuchungen nicht geeignet ist. Der semi-stationäre Aufnahmemodus führt zu einer nur geringen Unterschätzung der Aktivität (3 % im Verhältnis zur konventionellen Aufnahme). Der stationäre Aufnahmemodus führt zu einer deutlich höheren Unterschätzung der Aktivität um ca. 13 %. Der stationäre Aufnahmemodus zeigt darüber hinaus bei der visuellen Auswertung deutlich stärkere Streifenartefakte sowie räumliche Verzerrung der Ecken der Spritzen im Vergleich zum semi-stationären Modus. In den rekonstruierten Bildern ist auch das statistische Rauschen bei den semi-stationären Aufnahmen geringer. Einen Überblick des Vergleiches der verschiedenen Aufnahmetechniken zeigt Abbildung 3.

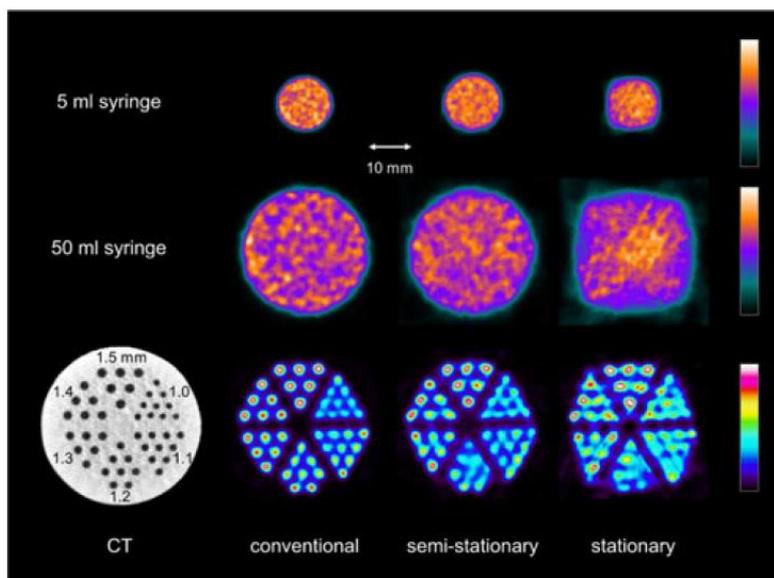


Abbildung 3: Darstellung der Auflösung in den verschiedenen Aufnahmetechniken einer 5 ml Spritze, einer 50 ml Spritze sowie des Jaszczak-Phantoms.

So verbessert der semi-stationäre Aufnahmemodus signifikant die Möglichkeiten des nanoSPECT/CT bei schnellen dynamischen Untersuchungen, die mit rein konventioneller SPECT-Aufnahmetechnik methodenbedingt nicht möglich sind.

Die Untersuchungen an den Nieren wurden daher im semi-stationären Aufnahmemodus durchgeführt. Die entstandenen Zeit-Aktivitäts-Kurven (time-activity curve, TAC) zeigen dabei eine gute zeitliche Auflösung.

Niere

Tabelle 1 zeigt die ermittelten Normwerte des Uptakes von ^{99m}Tc -MAG3 in der Niere in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und circadianem Rhythmus.

Tabelle 1: T_{\max} des ^{99m}Tc -MAG3 Uptake der Nieren in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und circadianem Rhythmus.

Kidney (T_{\max}) (minutes) Age		1 month		3 months		6 months		12 months		22 months	
		sleep	awake								
Sex	median	1.7	1.9	1.8	1.7	2.3	2.2	2.5	2.3	2.7	2.5
	[IQR]	[1.7-1.8]	[1.8-2.2]	[1.7-1.9]	[1.6-1.8]	[2.1-2.5]	[2.1-2.3]	[2.3-2.6]	[2.1-2.5]	[2.6-3.0]	[2.2-2.8]
	min-max	1.6-2.1	1.6-2.8	1.6-2.4	1.5-2.7	2.0-2.9	2.0-2.9	2.2-8.2	2.0-4.1	2.0-4.4	2.0-3.3
	no. of animals	6	6	12	12	10	10	9	9	6	6
males	median	2.1	1.5	1.6	1.6	1.6	1.6	2.0	1.8	2.3	1.8
	[IQR]	[2.0-2.4]	[1.4-1.6]	[1.6-1.6]	[1.4-1.7]	[1.6-1.7]	[1.4-1.7]	[1.6-2.1]	[1.7-1.8]	[1.9-3.0]	[1.6-1.9]
	min-max	1.9-3.3	1.4-1.7	1.5-2.1	1.4-1.9	1.5-1.9	1.3-2.0	1.5-2.8	1.5-2.0	1.7-7.6	1.5-3.4
	no. of animals	6	6	11	12	10	10	9	8	8	8

Kinetik

Um Normwerte zu ermitteln, wurden die Mäuse mit Nierenfunktionsstörungen von der Datenanalyse ausgeschlossen. Zu den Ausschlusskriterien zählen eine pathologische TAC mit einem deutlich verspäteten T_{\max} (> 5 min) und/oder eine Restaktivität in der Niere von 50 % oder mehr der injizierten Aktivität am Ende der Akquisition.

Abbildung 4 zeigt eine typische TAC für den Nierenuptake und die Clearance bei gesunden C57BL/6N Mäusen. Die TAC von der rechten und der linken Niere sind bei allen Tieren nahezu vollständig kongruent. Der Unterschied beläuft sich in den statistischen Analysen im Median auf 2 % ($[-0,5 - 4,7]$ -24,3 – 30,1). Der Uptake von ^{99m}Tc -MAG3 steigt nach Injektion schnell

an und erreicht T_{\max} im Median bei 1,9 min ([1,6 – 2,2] 1,3 – 8,2), der Abfall ist deutlich langsamer. So wird T_{50} erst bei 6,3 min ([5,4 – 7,7] 4,0 – 34,9) nach Injektion und T_{25} nach 10,4 min ([9,0 – 12,8] 6,6 – 34,9) erreicht. Am Ende der Akquisition bei 35 min sind noch ca. 10 % der Aktivität in den Nieren zu finden.

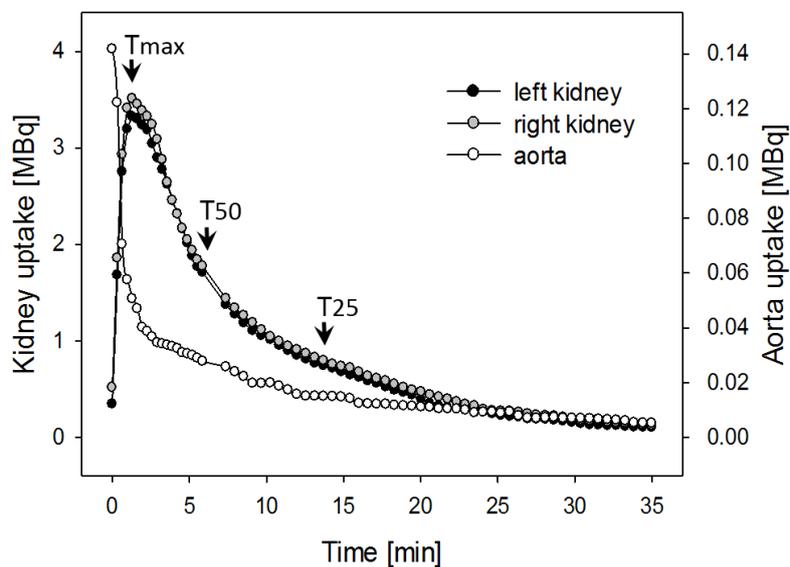


Abbildung 4: Zeit-Aktivitäts-Kurven der Nieren sowie der Aorta einer einen Monat alten Maus. Dargestellt ist der Uptake der Aorta sowie der linken und rechten Niere.

Alter

Die Untersuchungen zeigen einen Einfluss des Alters auf T_{\max} . Bei den einen Monat alten Mäusen wurde T_{\max} im Median bei 1,8 min ([1,6 – 2,0] 1,4 – 3,3) erreicht, etwa 8 Sekunden später als bei Tieren im Alter von 3 Monaten (1,7 min [1,6 – 1,8] 1,4 – 2,7; $p = 0,035$). Ab diesem Alter wird der Zeitpunkt des maximalen Uptakes bis zum Alter von 22 Monaten zunehmend später erreicht (2,3 min [1,9 – 2,7] 1,5 – 8,7; $p < 0,001$). Ebenso verhalten sich T_{50} und T_{25} mit zunehmendem Alter.

Geschlecht

Unterschiede in Abhängigkeit vom Geschlecht zeigen sich deutlich im Erreichen von T_{\max} bei der Nierenfunktionsszintigraphie (Abbildung 5). T_{\max} wird bei weiblichen Mäusen ca. 24 Sekunden später erreicht als bei männlichen (weiblich: 2,1 min [1,8 – 2,5] 1,5 – 8,2; männlich: 1,7 min [1,6 – 1,9] 1,3 – 7,6; $p < 0,001$). Im Alter von einem Monat können noch keine Unterschiede von T_{\max} in Abhängigkeit vom Geschlecht nachgewiesen werden. Zu jedem der übrigen Alterszeitpunkte wird T_{\max} bei den weiblichen Mäusen signifikant später erreicht. Jedoch werden keine signifikanten Unterschiede beim Erreichen von T_{50} gefunden (weiblich:

6,4 min [5,5 – 8,1] 4,0 – 16,3; männlich: 6,0 min [5,2 – 7,3] 4,0 – 34,9; $p = 0,19$). Bei T_{25} hingegen wurden erneut signifikante Unterschiede nachgewiesen, wobei erneut die weiblichen Mäuse T_{25} später erreichen als die männlichen (weiblich: 10,8 min [9,7 – 13,2] 7,1 – 25,4; männliche Mäuse: 10,0 min [8,5 – 12,4] 6,6 – 34,9; $p = 0,030$).

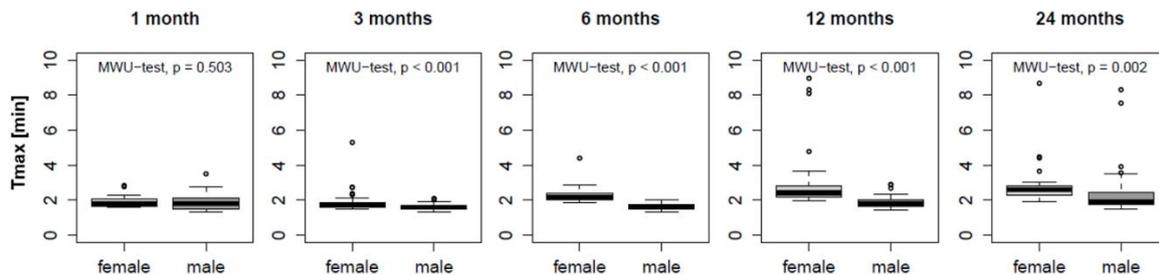


Abbildung 5: Unterschiede im Zeitpunkt des maximalen ^{99m}Tc -MAG3 Uptakes in der Niere in Abhängigkeit vom Geschlecht in den verschiedenen Altersstufen

Circadianer Rhythmus

Auch der circadiane Rhythmus hat einen signifikanten Einfluss auf den Zeitpunkt des Erreichens von T_{\max} . Während der Schlafphase wird T_{\max} marginal später erreicht als in der Wachphase (Schlafphase: 2,0 min [1,7 - 2,4] 1,5 - 8,2; Wachphase: 1,8 min [1,6 - 2,1] 1,3 - 4,1; $p = 0,019$). T_{50} und T_{25} zeigten ebenso einen signifikant späteren T_{\max} in der Schlafphase (T_{50} : Schlafphase 6,7 min [5,6 – 8,9] 4,5 – 34,9; Wachphase 5,9 min [5,2 – 7,1] 4,0 – 28,4; $p = 0,003$; T_{25} : Schlafphase 11,3 min [9,5 – 14,2] 6,6 – 34,9; Wachphase 9,8 min [8,8 – 11,5] 6,8 – 34,9; $p = 0,003$). Getrennt nach Geschlechtern, zeigen beide Geschlechter im Alter von einem Monat Unterschiede in Abhängigkeit vom circadianen Rhythmus. Später im Alter von 22 Monaten können die Unterschiede nur noch bei männlichen Mäusen beobachtet werden.

Speicheldrüsen

Die Tabellen 2 und 3 zeigen die ermittelten Normwerten im Uptake von $^{99m}\text{TcO}_4$ in % ID in den Speicheldrüsen in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und circadianem Rhythmus bei der Maus.

Tabelle 2: $^{99m}\text{TcO}_4$ Uptake (%ID) der PG in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und circadianem Rhythmus.

Sex	Age (months)	1 month		3 months		6 months		12 months		24 months	
		sleep	awake								
females	median	0.8	0.9	0.6	0.5	0.6	0.6	0.4	0.4	0.3	0.3
	[IQR]	[0.7-0.9]	[0.8-0.9]	[0.5-0.6]	[0.4-0.6]	[0.6-0.6]	[0.5-0.6]	[0.4-0.5]	[0.4-0.5]	[0.3-0.4]	[0.3-0.3]
	min – max	0.7-1.1	0.7-1.2	0.3-0.9	0.4-0.6	0.5-0.7	0.2-0.7	0.3-0.5	0.3-0.6	0.2-0.4	0.3-0.3
	no. of animals	6	6	11	11	10	10	10	10	4	4
males	median	0.4	0.7	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2
	[IQR]	[0.4-0.5]	[0.6-0.7]	[0.3-0.4]	[0.3-0.4]	[0.2-0.3]	[0.2-0.4]	[0.2-0.3]	[0.2-0.3]	[0.1-0.2]	[0.2-0.3]
	min – max	0.3-0.6	0.6-0.9	0.2-0.7	0.2-0.5	0.2-0.4	0.2-0.5	0.1-0.5	0.2-0.4	0.1-0.3	0.1-0.3
	no. of animals	6	6	11	11	11	10	10	10	8	8

Tabelle 3: $^{99m}\text{TcO}_4$ Uptake (%ID) des SSC in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und circadianem Rhythmus.

Sex	Age (months)	1 month		3 months		6 months		12 months		24 months	
		sleep	awake	sleep	awake	sleep	awake	sleep	awake	sleep	awake
females	median	4.6	4.6	4.7	5.1	5.3	5.5	8.5	7.8	6.7	5.7
	[IQR]	[4.5-5.4]	[4.5-4.7]	[4.1-5.0]	[4.5-6.0]	[5.1-5.7]	[5.3-5.6]	[8.0-9.3]	[6.9-8.8]	[5.4-9.1]	[5.3-6.6]
	min – max	3.4-11.9	4.0-4.9	3.1-6.3	3.5-14.7	4.3-6.2	0.6-6.6	5.9-10.8	6.0-10.9	4.8-12.8	5.2-7.9
	no. of animals	6	6	11	11	10	10	10	10	4	4
males	median	3.7	4.0	7.9	8.4	12.2	7.9	16.0	8.2	10.5	11.3
	[IQR]	[3.5-4.5]	[3.7-4.1]	[6.6-13.1]	[5.8-12.8]	[9.0-14.8]	[6.3-10.7]	[13.4-18.4]	[7.3-14.7]	[9.7-11.2]	[9.3-13.8]
	min – max	3.1-5.6	2.8-4.2	4.8-16.9	3.3-13.9	5.2-17.8	4.3-16.8	6.9-19.5	4.8-20.7	6.0-11.5	8.2-14.8
	no. of animals	6	6	11	11	11	10	10	10	8	8

Kinetik

In Abbildung 6 ist ein typischer Verlauf des Speicheldrüsen-Uptakes im Verhältnis zur Zeit während der ersten 100 min nach Injektion von $^{99m}\text{TcO}_4$ zu sehen. Dabei zeigen die PG ein deutlich früheres T_{\max} als der SSC (PG: 11,4 min [9,4 – 20,5] 7,4 – 45,0; SSC: 78,8 min [54,2 – 96,1] 13,9 – 103,1). Die linke und rechte Parotis gleichen sich im Verhalten des Uptakes. Die Exkretion gemessen als T_{75} (75 % der Aktivität noch nachweisbar) wird bei beiden Speicheldrüsen relativ spät erreicht. So findet sich T_{75} bei den PG im Median nach 48,6 min ([38,6 – 60,1] 23,4 – 90,6). T_{50} lässt sich im Median bei 138,5 min ([125,6 – 174,9] 100,3 – 215,1) ermitteln. Beim SSC ist die Exkretionsrate so verlangsamt, dass schon T_{75} bei den meisten Mäusen nicht im Untersuchungszeitraum erreicht wird.

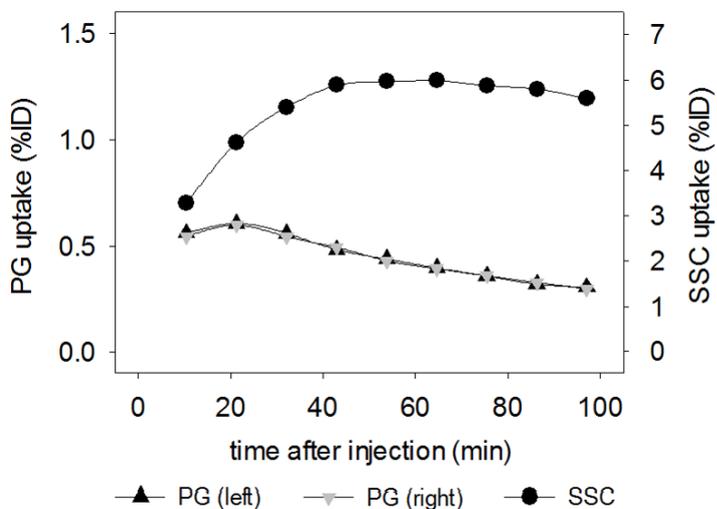


Abbildung 6: Zeit-Aktivitäts-Kurven der Speicheldrüsen einer drei Monate alten Maus. Dargestellt ist der Uptake der SSC und der linken und rechten PG.

Alter

Ein Unterschied in Abhängigkeit vom Alter der Mäuse wurde auch bei T_{\max} in den Speicheldrüsen gefunden. Beim SSC wurde ein späterer Zeitpunkt des maximalen Uptakes mit dem Alter festgestellt. Bei weiblichen Mäusen ist dieser Unterschied signifikant ($p = 0,05$), dagegen ist bei den männlichen Mäusen nur eine Tendenz ($p = 0,08$) zu späteren T_{\max} -Werten nachzuweisen. Im Gegensatz zum SSC findet sich ein mit dem Alter zunehmend früherer T_{\max} in den PG: bei weiblichen Tieren ist der Effekt signifikant ($p = 0,03$), bei den männlichen Mäusen ist zwar derselbe Effekt zu sehen, jedoch zeigt sich auch hier nur eine nicht signifikante Tendenz ($p = 0,06$).

Auch bei der Höhe des Uptakes wurden Unterschiede in Abhängigkeit vom Alter bei den Speicheldrüsen nachgewiesen. So zeigen Mäuse beider Geschlechter eine signifikante

Abnahme des Uptakes in den PG während des Alterns (weiblich: $p = 0,011$, männlich: $p < 0,001$).

Im Gegensatz zu den PG weist der SSC einen Anstieg des Uptakes während des Alterungsprozesses auf. Jedoch ist dieser Unterschied nicht zwischen jeder Altersgruppe zu sehen. So zeigt sich bei weiblichen Mäusen ein signifikanter Anstieg des Uptakes nur ab einem Alter von 6 Monaten (6 Monate: 5,4 %ID [5,1 – 5,7] 0,6 – 6,6; 12 Monate: 8,2 %ID [7,1 – 9,0] 5,9 – 10,9; $p < 0,001$). Bei den männlichen Mäusen erfolgt ein signifikanter Anstieg des $^{99m}\text{TcO}_4$ Uptakes bereits bei den jüngsten Altersstufen (1 Monat: 3,8 %ID [3,6 – 4,1] 2,8 – 5,6; 3 Monate: 7,9 %ID [6,1 – 13,3] 3,3 – 16,9; $p < 0,001$). Bei den älteren Mäusen bzw. im Altersverlauf ist dann kein weiterer signifikanter Unterschied des Uptakes im SSC zu beobachten.

Geschlecht

In den verschiedenen Altersgruppen gibt es bei den PG sowie beim SSC ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Mäusen, bei den PG jedoch nur bis zu einem Alter von 12 Monaten (siehe Abbildung 7). In den gepoolten Daten der weiblichen bzw. männlichen Mäuse jeglichen Alters findet sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied für T_{\max} zwischen den Geschlechtern: Bei den PG wird T_{\max} bei den weiblichen Mäusen signifikant später erreicht (weiblich: 18,3 min [12,4 – 25,7] 7,4 – 45,0; männlich: 10,4 min [9,4 – 11,4] 7,4 – 29,8; $p < 0,001$). Beim SSC zeigen sich geschlechtsabhängige Unterschiede im Erreichen von T_{\max} nur bei Mäusen bis zu einem Alter von 3 Monaten. Bei altersgepoolten Daten des SSC ist kein signifikanter Unterschied mehr zu finden (weiblich: 73,0 min [56,9 – 95,1] 21,5 – 101,1; männlich: 95,1 min [48,2 – 97,1] 13,9 – 103,1; $p = 0,31$).

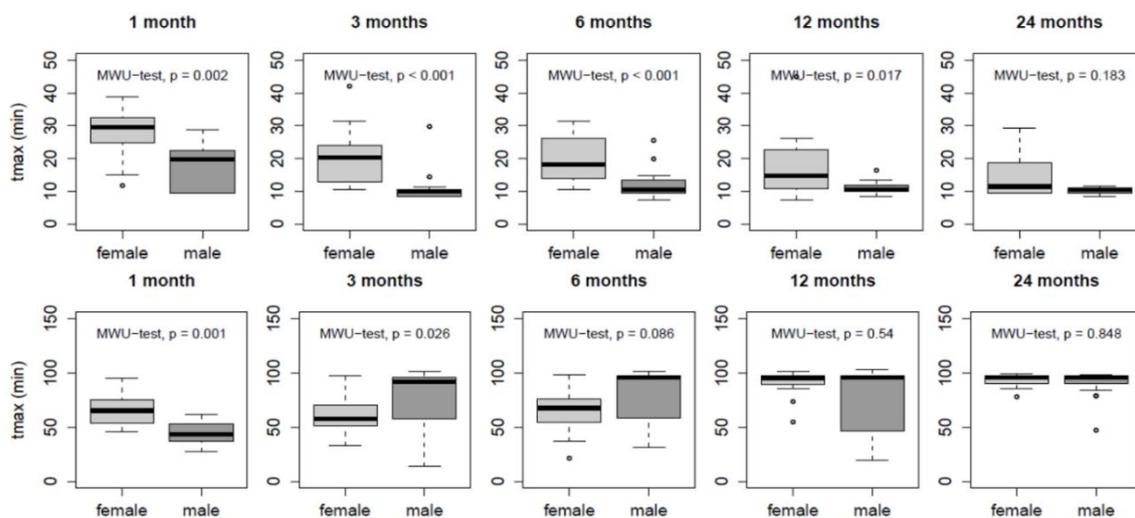


Abbildung 7: Unterschiede von T_{\max} des $^{99m}\text{TcO}_4$ Uptakes in den PG (obere Reihe) und im SSC (untere Reihe) in Abhängigkeit vom Geschlecht in den verschiedenen Altersstufen.

Bei der Höhe des Uptakes in %ID sind in jedem Alter geschlechtsabhängige Unterschiede zu finden (siehe Abbildung 8). Hier zeigen weibliche Mäuse einen signifikant höheren Uptake von $^{99m}\text{TcO}_4$ in den PG im Vergleich zu männlichen Mäusen (weiblich: 0,5 %ID [0,4 – 0,6] 0,2 – 1,2; männlich: 0,3 %ID [0,2 – 0,4] 0,1 – 0,9; $p < 0,001$). Beim SSC sind die geschlechtsabhängigen Unterschiede invers zu den Unterschieden der PG. Bei weiblichen Mäusen besteht in allen Altersgruppen bis auf die jüngsten Mäuse ein geringerer Uptake als bei den männlichen Tieren (weiblich: 5,6 %ID [4,7 – 6,7] 0,6 – 14,7; männlich: 9,2 %ID [6,1 – 13,7] 2,8 – 20,7; $p < 0,001$). Normiert auf das Volumen der Speicheldrüsen, zeigen jedoch die weiblichen Mäuse wiederum einen höheren Uptake in %ID pro mm^3 (weiblich: 0,110 %ID/ mm^3 [0,097 – 0,119] 0,013 – 0,371; männlich: 0,075 %ID/ mm^3 [0,060 – 0,088] 0,024 – 0,118; $p < 0,001$). In der jüngsten Altersklasse zeigen weibliche Mäuse in Bezug auf die PG einen höheren Uptake von $^{99m}\text{TcO}_4$ als im SSC (weiblich: 4,6 %ID [4,5 – 4,8] 3,4 – 11,9; männlich: 3,8 %ID [3,6 – 4,1] 2,8 – 5,6; $p = 0,014$).

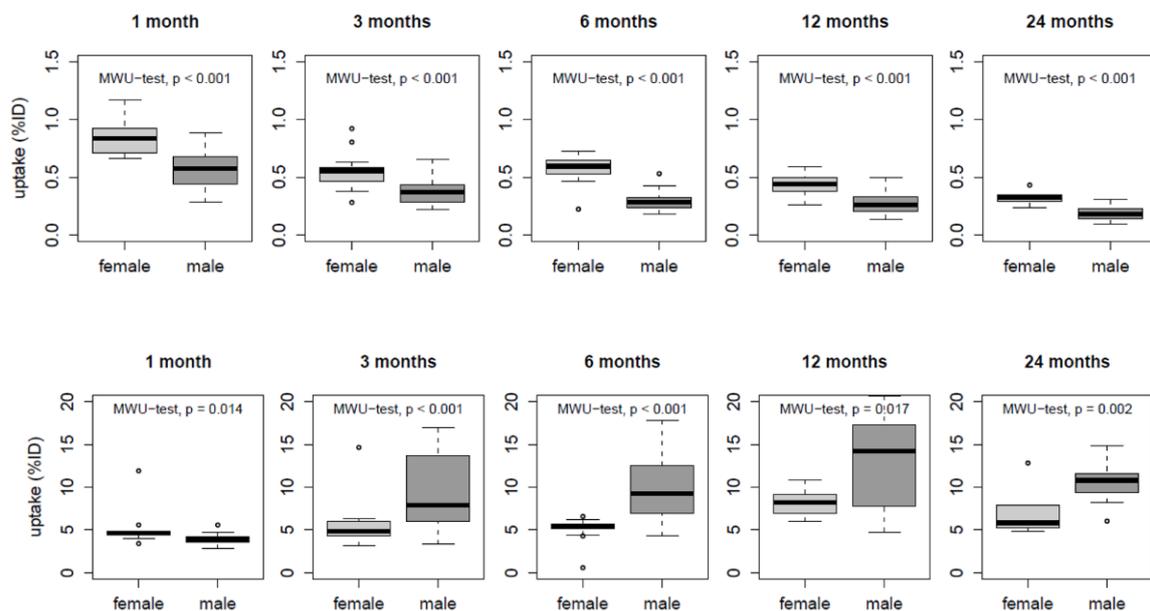


Abbildung 8: Unterschiede des $^{99m}\text{TcO}_4$ Uptakes (%ID) in den PG (obere Reihe) und im SSC (untere Reihe) in Abhängigkeit vom Geschlecht in den verschiedenen Altersstufen.

Circadianer Rhythmus

Bei den Speicheldrüsen wurden im Gegensatz zur Niere kaum signifikante Unterschiede in Abhängigkeit vom circadianen Rhythmus gefunden.

Beim SSC zeigen nur die jüngsten weiblichen Mäuse einen signifikanten Unterschied in Abhängigkeit vom circadianen Rhythmus beim Zeitpunkt des Erreichens von T_{\max}

(Schlafphase: 75,6 min [69,3 – 79,0] 64,9 – 95,1; Wachphase: 53,7 min [50,8 – 60,5] 46,1 – 65,4; $p = 0,004$). Die männlichen Mäuse zeigen zu keinem Alter einen signifikanten Unterschied (Schlafphase: 43,6 min [39,9 – 49,9] 31,5 – 61,4; Wachphase: 43,3 min [36,6 – 52,8] 27,3 – 57,7; $p = 0,8$).

Bei den PG gibt es in keiner Altersgruppe, auch nicht bei getrennter Betrachtung der männlichen und weiblichen Mäuse, einen signifikanten Unterschied beim Erreichen von T_{\max} in Abhängigkeit von der Tageszeit (p jeweils $> 0,1$).

Im Alter von drei Monaten zeigen weibliche Mäuse einen signifikanten Unterschied in der Höhe des $^{99m}\text{TcO}_4$ -Uptakes in den PG bezüglich der Untersuchungszeit (Schlafphase: 0,6 %ID [0,5 – 0,6] 0,3 – 0,9; Wachphase: 0,5 %ID [0,4 – 0,6] 0,4 – 0,6; $p = 0,034$). Die männlichen Mäuse hingegen weisen nur im Alter von einem Monat einen signifikanten Unterschied (Schlafphase: 0,4 %ID [0,4 – 0,5] 0,3 – 0,6; Wachphase: 0,7 %ID [0,6 – 0,7] 0,6 – 0,9; $p = 0,009$) auf.

Beim SSC zeigen weder männliche noch weibliche Mäuse zu keinem Alter einen relevanten tageszeitabhängigen Unterschied beim Uptake von $^{99m}\text{TcO}_4$.

3.4 Diskussion

In den vorliegenden Studien wurden standardisierte Untersuchungsabläufe etabliert und Normwerte für die Nierenfunktions- sowie Speicheldrüsenzintigraphie bei Mäusen unter Beachtung von möglichen Einflussfaktoren wie Alter, Geschlecht und circadianem Rhythmus ermittelt.

Stationäre, semi-stationäre sowie konventionelle SPECT-Aufnahmen erlauben quantitative, dreidimensionale, nicht-invasive in-vivo Funktionsstudien an Labornagern (8, 22). Um Organe mit einer Größe wie der Niere einer Maus (ca. 12 x 7 x 5 mm) oder kleinere Organe zu untersuchen, sind Multi-Pinhole-Kollimatoren essentiell, da damit eine Vergrößerung des Sichtfeldes (FOV) sowie eine Erhöhung der Zählrate und damit der Sensitivität bei der Aufnahme ohne Verringerung der örtlichen Auflösung gegenüber der Einzel-Pinhole Aufnahme möglich ist (23, 24). Multi-Pinhole Systeme erlauben eine Auflösung von 0,3 bis 2 mm (25). Diese hohe Auflösung ist für die korrekte und separate Darstellung der Organe bei Kleintieren nötig, da bei Mäusen die Nieren nahe am Gastrointestinaltrakt und der Gallenblase gelegen sind – Organe, die aufgrund der Ausscheidung über das hepatobiliäre System (26, 27) sowie über den Magen-Darm-Trakt (28) ebenfalls ^{99m}Tc -MAG3 anreichern können. Ein weiterer Vorteil des Kleintier-Multi-Pinhole SPECT Systems ist die geringe Anzahl der Detektorpositionen, welche nötig ist, um dreidimensionale Bilder zu generieren. Selbst ohne Detektorpositionswechsel können im sogenannten stationären Modus mit Multi-Pinhole Detektoren dreidimensionale wenn auch räumlich etwas verzerrte Bilder erstellt werden, bei denen, wie wir zeigen konnten, die tatsächlich im Zielvolumen vorhandene Aktivität jedoch deutlich um ca. 13 % unterschätzt wird. Im semi-stationären Modus mit einem einzigen Detektorwechsel um 45° innerhalb eines Frames, d.h. innerhalb eines Aufnahmezeitpunktes, sind sowohl die räumlichen Verzerrungen minimal als auch die Aktivitätsmessungen mit einer Abweichung von nur etwa 3 % gegenüber dem konventionellen SPECT-Standard sehr genau, obwohl dieser Modus auf Grund des nur einmal erforderlichen Wechsels der Detektorposition sehr schnelle Sequenzaufnahmen deutlich unter einer Minute erlaubt. Diese semi-stationäre Methode verbessert damit im Vergleich zur konventionellen SPECT mit ihren zahlreichen notwendigen Detektorpositionen, und damit relativ langen Untersuchungszeiten, vor allem – wie bereits in der ersten der vorliegenden Studien dargestellt – die schnelle dynamische Bildgebung. Basierend auf den Ergebnissen dieser ersten methodischen Studie wurden die longitudinalen Untersuchungen zur Erhebung der Normwerte für die Nierenfunktionsszintigraphie auf Grund der hierfür erforderlichen schnellen Bildfolge von 20 s

im semi-stationären Modus (10 s pro Detektorposition) durchgeführt, während bei der deutlichen langsameren Kinetik der Speicheldrüsen die konventionelle Technik mit zehnmütigen SPECT-Aufnahmen zur Erfassung der Speicheldrüsenkinetik völlig ausreichend ist.

Niere

Für die verschiedensten systemischen Therapien in der Medizin sind Einflüsse auf die Nierenfunktion bekannt, z.B. bei Antibiotikatherapien (29), Chemotherapien bspw. mit Cisplatin (30) oder bei Radioligandentherapien wie zum Beispiel ^{177}Lu -markiertes Somatostatin (23, 31, 32) oder ^{177}Lu - / ^{225}Ac -PSMA (33). Deshalb ist eine frühe Detektion von Veränderungen der Nierenfunktion zur Überwachung der Nebenwirkungen solcher Therapien von großer Bedeutung. Hierfür wird standardmäßig die Bestimmung des Serumkreatinins genutzt. Dieser Parameter ist jedoch auch von anderen Faktoren abhängig, wie zum Beispiel von der Muskelmasse des Patienten, von der nicht-renalen Ausscheidung des Kreatinins sowie von der Proteinzufuhr mit der Nahrungsaufnahme (34). So kommt es zu einer eingeschränkten Sensitivität dieses Parameters unter bestimmten Bedingungen (35, 36). Ebenso ist ein relevanter Anstieg des Serumkreatinins erst nach Abnahme der Nierenfunktion um über 50 % zu beobachten (37). Die Nierenzintigraphie ist zur Feststellung von Nierenfunktionsstörungen deutlich sensitiver. So wird in vielen klinischen und präklinischen Studien die Nierenzintigraphie genutzt, um die Nierenfunktion zu überwachen oder Einflüsse nephroprotektiver bzw. nephrotoxischer Substanzen frühzeitig zu detektieren.

Aufgrund des frühen Zeitpunktes von T_{\max} zwischen 1,3 und 8,2 min nach Injektion mussten die Mäuse mit einem intravenösen Katheter im Gerät positioniert werden. Der Scan wurde direkt vor Injektion gestartet, um das Anfluten des Radiopharmakons in den Nieren sicher zu erfassen. Bei gesunden Mäusen erwiesen sich Untersuchungszeiten von 30 – 40 min als ausreichend, um neben T_{\max} auch T_{50} und T_{25} zu ermitteln. Eine semi-stationäre SPECT-Aufnahmetechnik mit Multi-Pinhole-Kollimatoren ist dringend zu empfehlen, da trotz Reduzierung der Gantry-Positionen eine hohe räumliche und zeitliche Auflösung bei der Bildrekonstruktion ebenso wie eine zuverlässig genaue Quantifizierung des Uptakes gewährleistet wird. Diese Aufnahmetechnik ermöglicht somit eine schnelle dynamische Bildgebung, um die korrekten quantitativen Parameter der Nierenfunktion zu ermitteln (38).

Eine methodenbedingte Limitation dieser Studie ist, dass die direkte Messung der renalen Clearance bei der Maus mittels mehrmaliger Blutproben bei einem Blutvolumen von nur 1,7 ml bei einer 25 g schweren Maus nicht möglich ist. Deshalb wurde in der vorliegenden Studie

T_{50} der Aorta genutzt, um die Clearance des Radiopharmakons als Verschwinderate aus dem Blutvolumen der Aorta zu berechnen. T_{max} der Aorta wird jedoch bereits innerhalb weniger Sekunden nach Injektion erreicht, was aufgrund der im Vergleich dazu langen Zeit pro Detektorposition von 10 Sekunden sowie der Detektorrotationszeit nicht exakt erfasst werden kann. Der Anstieg bis T_{max} ist mit der verfügbaren Untersuchungstechnik somit nicht sicher zu ermitteln. Auch die langsame Injektion über einen Zeitraum von 15 – 20 Sekunden wegen möglicher kardialer Nebenwirkungen bei schneller Bolusinjektion hatte einen Einfluss auf T_{max} der Aorta. Auf Grund dieser methodischen Limitationen wurde in den einzelnen Untergruppen kein signifikanter Unterschied von T_{max} der Aorta in Abhängigkeit von Geschlecht, Alter oder circadianem Rhythmus gefunden, weshalb dieser Parameter bei der SPECT-basierten Nierenfunktionsszintigraphie eher irrelevant scheint.

Kinetik

Die TAC von Nieren der Mäuse gleicht denen, die bei Menschen beschrieben sind (39). So ist der ermittelte Zeitpunkt für T_{max} der Nieren in der vorliegenden Studie ähnlich der bei Menschen mit ca. 5 min (40, 41). T_{50} tritt bei den Mäusen jedoch früher als bei Menschen auf (Maus: 6 min (min-max: 3,9 – 12,8 min; Mensch ca. 15 min).

Alter

Dass sich die Nierenfunktion mit dem Alter verändert, ist bereits lange bekannt. Bei Menschen ist eine chronisch abnehmende Nierenfunktion mit zunehmendem Alter beschrieben (42). Es ist weiterhin bekannt, dass nicht nur die glomeruläre Filtrationsrate, sondern auch die Clearance von ^{99m}Tc -MAG3 im Alter abnehmen (43). Diese Veränderungen scheinen auf histologischen Veränderungen zu basieren. Bridges et al. (2017) zeigen, dass eine Glomerularsklerose, eine glomeruläre und tubuläre Hypertrophie sowie eine tubulo-intestinale Fibrose die Plasmaflussrate in der Niere herabsetzen und dadurch zu einer Abnahme der glomerulären Filtrationsrate und damit der Abnahme der Nierenfunktion führen (44). Studien mit Ratten zeigten ebenso eine Änderung der Nierenfunktion im Alter in Abhängigkeit von der mesangialen Proliferation sowie der Dicke der Basalmembran und der glomerulären Sklerose. Daraus resultiert eine Abnahme der Nierenfunktion durch die Veränderung der Flussrate in den Nieren sowie der glomerulären Filtrationsrate (45).

In der vorliegenden Studie werden diese Veränderungen in Abhängigkeit vom Alter durch das spätere Erreichen von T_{max} in der Nierenszintigraphie wiedergespiegelt. Dies passt zu den o.g. und bereits vielfach beschriebenen histologischen Veränderungen der Organe während des

Alters. So zeigen die Untersuchungen an den Nieren nicht nur einen dazu passenden zunehmend späteren T_{\max} im Alter, sondern auch eine verlangsamte Exkretion mit später auftretenden T_{50} und T_{25} .

Geschlecht

Auch geschlechtsabhängige Unterschiede der Nierenfunktion beim Menschen sind bekannt, insbesondere bei der Entwicklung von chronischen Nierenerkrankungen. Bei Männern zeigt sich ein schnelleres Voranschreiten der Erkrankung als bei Frauen (46, 47). Studien führen diese Unterschiede auf den Sexualhormonspiegel im Blut zurück (48). An Ratten konnte beispielsweise gezeigt werden, dass durch eine Orchiektomie Symptome einer chronischen Niereninsuffizienz, wie zum Beispiel Proteinurie, reduziert werden können; hingegen führt eine steigende Testosteronkonzentrationen im Blut zu einer raschen Progression der Erkrankung (46, 49, 50). Auch bei Ratten wird den weiblichen Sexualhormonen ein protektiver Einfluss auf die Nierenfunktion zugesprochen (46, 51).

In der vorliegenden Studie zeigen die jüngsten, noch nicht geschlechtsreifen Mäuse keinen geschlechtsabhängigen Unterschied in der TAC. Ab dem Erwachsenenalter finden sich geschlechtsspezifische Unterschiede, allerdings wird – anders als auf Grund der Literatur erwartet – bei weiblichen Mäusen T_{\max} signifikant später erreicht als bei männlichen Mäusen.

Circadianer Rhythmus

Der circadiane Rhythmus ist durch Einflüsse von außen – wie zum Beispiel Licht und Dunkelheit – sowie durch innere Einflüsse, und zwar über den Hypothalamus, gesteuert. Durch die Hypothalamus-Hypophysen-Achse ist der hormonelle Haushalt tageszeitabhängig. So ist anzunehmen, dass ebenso die Nierenfunktion dem circadianen Rhythmus folgt. Hier spielt vor allem das antidiuretische Hormon (ADH) eine Rolle, welches im Hypothalamus gebildet und aus dem Hypophysenhinterlappen freigesetzt wird (52). ADH beeinflusst einerseits die Wasser- und Elektrolytresorption in der Niere, zum anderen durch eine vasopressive Wirkung den Blutdruck. Es wurde herausgefunden, dass die Nierenfunktion im Rahmen ihres circadianen Zyklus vor allem den tageszeitlichen Aktivitätsphasen folgt. Studien zeigten, dass die glomeruläre Filtrationsrate beim Menschen um 5 % während der Aktivität ansteigt (53, 54). Auch ist tageszeit- bzw. aktivitätsabhängig eine Anpassung des Blutdruckes nötig. Diese Anpassung geschieht zum einen durch das vegetative Nervensystem durch das Wechselspiel des Parasympathikus und des Sympathikus, zum anderen durch die tageszeitabhängig wechselnde Reninaktivität und Aldosteronsekretion. Die höchste Reninaktivität beim

Menschen wurde am Morgen nachgewiesen (55). So wie die Nierenfunktion in Abhängigkeit von der Tageszeit variiert, sind auch tageszeitliche Unterschiede von Aufnahme und Exkretion von ^{99m}Tc -MAG3 zu erwarten. Aufgrund der geringeren Hydratation während des Schlafens ist ein Einfluss von Schlaf- und Wachphase auf die Exkretion des Tracers zu erwarten, da Achong et al. (2003) eine veränderte Exkretion von ^{99m}Tc -MAG3 bei Dehydratation (56) zeigen konnten. Ebenso konnte eine steigende Aminosäure-Absorption in der Niere von Mäusen während der Wachphase nachgewiesen werden, welche auf einer tageszeitlich unterschiedlichen mRNA Expression der Aminosäure-Transporter im proximalen Tubulus beruht (53).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen nur teilweise eine Abhängigkeit vom circadianen Rhythmus. Bei den jungen sowie den senilen männlichen Mäusen wird ein deutlich früherer T_{\max} während der Wachphase nachgewiesen. Die übrigen Mäuse unabhängig von Alter oder Geschlecht zeigen dagegen keinen signifikanten Unterschied in Abhängigkeit vom circadianen Rhythmus. Diese Differenz zur Literatur könnte evtl. durch die Interaktion des Menschen mit der Maus während der Versuchsvorbereitung und Durchführung erklärt werden, wodurch auf Grund des damit verbundenen Stresses insbesondere in der Schlafphase physiologische Unterschiede zwischen Schlaf- und Wachphase nivelliert werden könnten.

Speicheldrüsen

Der Zeitpunkt des maximalen $^{99m}\text{TcO}_4$ -Uptakes der Speicheldrüsen bei der Maus erfolgt bei den PG zwischen 7 und 45 min (Median 11,4 min). Bei dem SSC wird T_{\max} mit einem Median von 78,8 min (14 – 103 min) deutlich später erreicht.

Auch beim maximalen Uptake von $^{99m}\text{TcO}_4$ sind deutliche Unterschiede zwischen PG und SSC zu beobachten: beim SSC ist der Uptake deutlich höher als bei den PG (SSC: 6.7 %ID [4.9 – 10.2] 0.6 – 20.7; PG: 0.4 %ID [0.3 – 0.6] 0.1 – 1.2). Dieses Ergebnis kann durch die unterschiedlichen Funktionen der einzelnen Speicheldrüsen erklärt werden. Deutlich wird dieser Unterschied bei den Speicheldrüsen der Mäuse zum Beispiel in der Fähigkeit, Jod zu konzentrieren. Das Verhältnis von der Konzentration von Jod im Speichel zu Serum beträgt bei den PG der Mäuse 0,59 und bei den submandibulären Drüsen 5,1 (57). Der Unterschied in der Konzentrationsfähigkeit von Jod in den verschiedenen Speicheldrüsen der Mäuse liegt an den unterschiedlichen Ausführungsgängen der einzelnen Drüsen (58). So können die submandibulären Speicheldrüsen ^{131}I am besten konzentrieren, die Fähigkeit ist bei den sublingualen am wenigsten ausgeprägt. Auch beim Menschen sind Unterschiede im Verhalten vom $^{99m}\text{TcO}_4$ -Uptake durch Hermann et al. (1998) bei den einzelnen Speicheldrüsen

beschrieben: Die PG zeigen einen höheren Uptake sowie eine höhere Exkretionsfraktion im Vergleich zu den submandibularen Drüsen (59).

Alter

Veränderungen bei den Speicheldrüsen in Abhängigkeit vom Alter sind beim Menschen bekannt, welche sich vor allem mit abnehmendem Speichelfluss und somit Mundtrockenheit im Alter bemerkbar machen (60, 61). Histologisch ist eine zunehmende Fibrose der Ausführungsgänge und eine Atrophie der Azini nachgewiesen (62). So beschreiben Choi et al. (2013) histologische Unterschiede in den Speicheldrüsen in Abhängigkeit vom Alter bei Untersuchung an C57BL/6-Mäusen: 30 Wochen alte Mäuse zeigen im Vergleich zu 90 Wochen alten Tiere eine normale Drüsenstruktur mit dicht gelegenen Azini und gut entwickeltem Gangsystem. Die 90 Wochen alten Tiere zeigen eine Atrophie der Azinuszellen, eine Zunahme der Anzahl der Vakuolen, der Lymphozyteninfiltration, der apoptotischen Zellen sowie eine periduktale und perivaskuläre Fibrose (63). Auch bei Ratten sind ähnliche Veränderungen wie die Abnahme der Zellen der Ausführungsgänge während des Alterungsprozesses nachgewiesen (64). Neben den Nagetieren zeigen auch die Speicheldrüsen des Menschen histologische Veränderungen während des Alterungsprozesses, wie z.B. eine Abnahme des Azinusvolumens vom Erwachsenenalter zum Seniorenalter (65-67). Auch nimmt bei gesunden 80-jährigen der Speichelfluss deutlich ab (60).

Die vorliegende Studie kann den Einfluss des Alters in der Speicheldrüsenzintigraphie nachvollziehen. Wie durch die beschriebenen histologischen Unterschiede zu erwarten, wurde nicht nur ein späteres Auftreten von T_{max} beobachtet, sondern ebenso eine Abnahme des Uptakes in %ID mit zunehmenden Alter.

Geschlecht

Geschlechtsabhängige Unterschiede bei den Speicheldrüsen der Maus sind bekannt. Bei den Speicheldrüsen sind vor allem histologische Unterschiede nachgewiesen. So zeigen weibliche Mäuse kleinere Azinuszellen als männliche Mäuse mit geringerer Granulation (18, 68, 69). Bei submandibularen Drüsen von männlichen Mäusen konnten dominante Ausführungsgänge mit größeren duktalem Epithelzellen und höherer Anzahl nachgewiesen werden als bei weiblichen. Bei weiblichen Mäusen dominieren dagegen im Gesamtbild die Azinuszellen (70, 71). Sexualhormone beeinflussen die Speicheldrüsengröße: Testosteron stimuliert bspw. den Wachstumsfaktor der submandibularen Speicheldrüsen (72). Weitere Unterschiede zeigen sich in der Struktur der Ausführungsgänge: Weibliche Mäuse weisen im Gegensatz zu männlichen

in den submandibularen Speicheldrüsen mehr Streifenstücke und lange Ausführungsgänge (> 20 Zellen) auf (73). Es konnten auch zwischengeschaltete, granuliert Epithelzellen gefunden werden, welche bei männlichen Mäusen fehlen (74, 75). In den PG der Mäuse ist der NIS in den Ausführungsgängen nachgewiesen (76). Aufgrund der längeren Ausführungsgänge bei weiblichen Mäusen ist anzunehmen, dass dadurch vermehrt vorhandene NIS zu einer erhöhten Transportkapazität von Jod und $^{99m}\text{TcO}_4$ führen, welche zu einem erhöhten Uptake – wie in der vorliegenden Studie gezeigt – bei weiblichen Mäusen führt. Ebenso konnte bei männlichen Mäusen vor allem beim SSC ein signifikant größeres Volumen im Vergleich zu den weiblichen Mäusen gezeigt werden, bei den PG besteht dieser Unterschied jedoch nicht.

Circadianer Rhythmus

Es ist bekannt, dass der Speichelfluss dem circadianen Rhythmus folgt (77-79). Die Unterschiede in Abhängigkeit vom circadianen Rhythmus zeigen sich beim Speichel nicht nur im Fluss, sondern auch in der Zusammensetzung. Hierbei spielt der tageszeitabhängige Einbau von Aquaporin 5, einem Kanalprotein in den Ausführungsgängen der Speicheldrüsen, eine Rolle (80). Beim Menschen wird der maximale Speichelfluss am Abend um 18:00 Uhr, der minimale am Morgen um 6:00 Uhr beobachtet (77). Die Unterschiede in der Zusammensetzung wurden vor allem in den enthaltenen Proteinen sowie in der Elektrolytkonzentration von Na^+ , Cl^- und K^+ gefunden. Interessanterweise senkt eine erhöhte Aktivität des sympathischen Nervensystems die Speichelflussrate sowie auch die Konzentration der enthaltenen Proteine (81).

Die vorliegende Studie zeigt nur bei den PG der jüngsten weiblichen Mäuse sowie beim SSC der jüngsten männlichen Mäuse einen signifikanten Unterschied in Abhängigkeit vom circadianen Rhythmus, alle anderen Alters- und Geschlechtsgruppierungen wiesen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Tageszeit auf.

Der geringe Einfluss des circadianen Rhythmus auf die Speicheldrüsenfunktionsszintigraphie bei der Maus mag daran liegen, dass auch hier durch die Interaktion mit dem Menschen Unterschiede zwischen Schlaf- und Wachphase nicht zum Tragen kommen.

Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass für schnelle dynamische dreidimensionale Untersuchungen der Nierenfunktion bei der Maus die semi-stationäre SPECT sehr gut geeignet ist, da sie bei vernachlässigbarem systematischem Fehler eine hohe räumliche Auflösung bei ausreichender

Schnelligkeit ermöglicht. Dahingegen lässt sich die Speicheldrüsenfunktion sehr gut mit der konventionellen jedoch in der Zeitauflösung deutlich langsameren SPECT untersuchen, die den Standard der quantitativen dreidimensionalen Bildgebung darstellt.

Sowohl Alter als auch Geschlecht zeigen signifikante Einflüsse auf die Ergebnisse bei der Nieren- und Speicheldrüsenzintigraphie. Im Gegensatz dazu ist der Einfluss des circadianen Rhythmus von geringer Bedeutung. Für zukünftige tierexperimentelle Untersuchungen müssen somit die Variablen Alter und Geschlecht beachtet werden. Die Tageszeit der Versuchsdurchführung erscheint jedoch als Einflussfaktor vernachlässigbar.

So beschreiben die vorliegenden Studien einerseits eine optimierte und standardisierte Vorgehensweise zur Nierenfunktions- und Speicheldrüsenzintigraphie bei Mäusen und stellen andererseits eine solide Grundlage für die zukünftige tierexperimentelle Forschung an Mäusen dar. Durch die Berücksichtigung der Variablen Alter und Geschlecht kann zudem die Streuung der Ergebnisse verringert und somit die nötige Tieranzahl im Sinne des Tierschutzes reduziert werden.

Weiterhin stellen diese Normwerte eine systematische Datengrundlage zur Verfügung, auf die bei der Untersuchung von Nebenwirkungen an Speicheldrüsen oder Nieren im Rahmen der Entwicklung von neuen Therapeutika z.B. in der Radioligandentherapie, Chemotherapie oder anderen Therapien, welche die Funktion von Nieren oder Speicheldrüsen beeinflussen können, zurückgegriffen werden kann.

3.5 Literaturverzeichnis

1. De Jong M, Valkema R, Jamar F, Kvols LK, Kwekkeboom DJ, Breeman WA, Bakker WH, Smith C, Pauwels S, Krenning EP. Somatostatin receptor-targeted radionuclide therapy of tumors: preclinical and clinical findings. *Semin Nucl Med.* 2002;32(2):133-40.
2. Rahbar K, Ahmadzadehfar H, Kratochwil C, Haberkorn U, Schafers M, Essler M, Baum RP, Kulkarni HR, Schmidt M, Drzezga A, Bartenstein P, Pfestroff A, Luster M, Lutzen U, Marx M, Prasad V, Brenner W, Heinzel A, Mottaghy FM, Ruf J, Meyer PT, Heuschkel M, Eveslage M, Bogemann M, Fendler WP, Krause BJ. German Multicenter Study Investigating ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 Radioligand Therapy in Advanced Prostate Cancer Patients. *J Nucl Med.* 2017;58(1):85-90.
3. Kratochwil C, Giesel FL, Stefanova M, Benesova M, Bronzel M, Afshar-Oromieh A, Mier W, Eder M, Kopka K, Haberkorn U. PSMA-Targeted Radionuclide Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer with ¹⁷⁷Lu-Labeled PSMA-617. *J Nucl Med.* 2016;57(8):1170-6.
4. Kratochwil C, Bruchertseifer F, Giesel FL, Weis M, Verburg FA, Mottaghy F, Kopka K, Apostolidis C, Haberkorn U, Morgenstern A. ²²⁵Ac-PSMA-617 for PSMA-Targeted alpha-Radiation Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Nucl Med.* 2016;57(12):1941-4.
5. Spohn F, Radtke JP, Düwel C, Eiber M, Körber S, Gasch C, Kratochwil C, Haberkorn U, Hohenfellner M, Debus J, Giesel FL. Aktueller Stand der PSMA-PET-Diagnostik beim Prostatakarzinom. *Der Nuklearmediziner.* 2018;41(03):232-46.
6. Poeppel TD, Boy C, Bockisch A, Kotzerke J, Buchmann I, Ezziddin S, Scheidhauer K, Krause BJ, Schmidt D, Amthauer H, Rosch F, Nagarajah J, Fuhrer D, Lahner H, Popperl G, Horsch D, Walter MA, Baum RP. [Peptide receptor radionuclide therapy for patients with somatostatin receptor expressing tumours. German Guideline (S1)]. *Nuklearmedizin.* 2015;54(1):1-11; quiz N2.
7. Bodei L, Kidd M, Paganelli G, Grana CM, Drozdov I, Cremonesi M, Lepensky C, Kwekkeboom DJ, Baum RP, Krenning EP, Modlin IM. Long-term tolerability of PRRT in 807 patients with neuroendocrine tumours: the value and limitations of clinical factors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2015;42(1):5-19.
8. Meikle SR, Kench P, Kassiou M, Banati RB. Small animal SPECT and its place in the matrix of molecular imaging technologies. *Phys Med Biol.* 2005;50(22):R45-61.
9. Bares R, Muller-Schauenburg W. [Nuclear medicine diagnosis of the kidneys]. *Radiologe.* 2000;40(10):938-45.

10. Boyd JD, Morgan LA, Blum A. The use of radioisotopes in the clinical study of renal function. *South Med J.* 1959;52(1):1-6.
11. Winter CC. A clinical study of a new renal function test: the radioactive diodrast renogram. *J Urol.* 1956;76(2):182-96.
12. Farmelant MH, Burrows BA. The renogram: physiologic basis and current clinical use. *Semin Nucl Med.* 1974;4(1):61-73.
13. Gates GF. Split renal function testing using Tc-99m DTPA. A rapid technique for determining differential glomerular filtration. *Clin Nucl Med.* 1983;8(9):400-7.
14. Itoh K. 99mTc-MAG3: review of pharmacokinetics, clinical application to renal diseases and quantification of renal function. *Ann Nucl Med.* 2001;15(3):179-90.
15. Taylor A. Radionuclide renography: a personal approach. *Semin Nucl Med.* 1999;29(2):102-27.
16. Coveney JR, Robbins MS. Comparison of technetium-99m MAG3 kit with HPLC-purified technetium-99m MAG3 and OIH in rats. *J Nucl Med.* 1987;28(12):1881-7.
17. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry.* 2001;85(2):162-9.
18. Jonjic S. Surgical removal of mouse salivary glands. *Current protocols in immunology.* 2001;Chapter 1:Unit 1 11.
19. Bizhanova A, Kopp P. Minireview: The sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid. *Endocrinology.* 2009;150(3):1084-90.
20. Cohen B, Logothetopoulos JH, Myant NB. Autoradiographic localization of iodine-131 in the salivary glands of the hamster. *Nature.* 1955;176(4496):1268-9.
21. Magota K, Kubo N, Kuge Y, Nishijima K, Zhao S, Tamaki N. Performance characterization of the Inveon preclinical small-animal PET/SPECT/CT system for multimodality imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2011;38(4):742-52.
22. Peremans K, Cornelissen B, Van Den Bossche B, Audenaert K, Van de Wiele C. A review of small animal imaging planar and pinhole spect Gamma camera imaging. *Vet Radiol Ultrasound.* 2005;46(2):162-70.
23. Forrer F, Valkema R, Bernard B, Schramm NU, Hoppin JW, Rolleman E, Krenning EP, de Jong M. In vivo radionuclide uptake quantification using a multi-pinhole SPECT system to predict renal function in small animals. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2006;33(10):1214-7.
24. Islamian JP, Azazrm A, Mahmoudian B, Gharapapagh E. Advances in pinhole and multi-pinhole collimators for single photon emission computed tomography imaging. *World J Nucl Med.* 2015;14(1):3-9.

25. Nuyts J, Vunckx K, Defrise M, Vanhove C. Small animal imaging with multi-pinhole SPECT. *Methods*. 2009;48(2):83-91.
26. Sanchez J, Friedman S, Kempf J, Abdel-Dayem H. Gallbladder activity appearing 6 minutes after the intravenous injection of Tc99m MAG3 simulating a picture of obstructive uropathy of the right kidney. *Clin Nucl Med*. 1993;18(1):30-4.
27. Shattuck LA, Eshima D, Taylor AT, Jr., Anderson TL, Graham DL, Latino FA, Payne SE. Evaluation of the hepatobiliary excretion of technetium-99m-MAG3 and reconstitution factors affecting radiochemical purity. *J Nucl Med*. 1994;35(2):349-55.
28. Barnes S, Shih WJ, Saylor M. Intestinal activity on Tc-99m MAG3 scintigraphy in a patient after renal transplant may interfere with interpretation. *Clin Nucl Med*. 2000;25(8):643-4.
29. Kunin CM. Nephrotoxicity of antibiotics. *JAMA*. 1967;202(3):204-8.
30. Dahal A, Bellows BK, Sonpavde G, Tantravahi SK, Choueiri TK, Galsky MD, Agarwal N. Incidence of Severe Nephrotoxicity With Cisplatin Based on Renal Function Eligibility Criteria: Indirect Comparison Meta-analysis. *Am J Clin Oncol*. 2016;39(5):497-506.
31. Kunikowska J, Krolicki L, Sowa-Staszczak A, Pawlak D, Hubalewska-Dydejczyk A, Mikolajczak R. Nephrotoxicity after PRRT - still a serious clinical problem? Renal toxicity after peptide receptor radionuclide therapy with 90Y-DOTATATE and 90Y/177Lu-DOTATATE. *Endokrynol Pol*. 2013;64(1):13-20.
32. Melis M, de Swart J, de Visser M, Berndsen SC, Koelewijn S, Valkema R, Boerman OC, Krenning EP, de Jong M. Dynamic and static small-animal SPECT in rats for monitoring renal function after 177Lu-labeled Tyr3-octreotate radionuclide therapy. *J Nucl Med*. 2010;51(12):1962-8.
33. Ahmadzadehfar H, Eppard E, Kurpig S, Fimmers R, Yordanova A, Schlenkhoff CD, Gartner F, Rogenhofer S, Essler M. Therapeutic response and side effects of repeated radioligand therapy with 177Lu-PSMA-DKFZ-617 of castrate-resistant metastatic prostate cancer. *Oncotarget*. 2016.
34. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int*. 1995;47(1):312-8.
35. Hoffmann D, Adler M, Vaidya VS, Rached E, Mulrane L, Gallagher WM, Callanan JJ, Gautier JC, Matheis K, Staedtler F, Dieterle F, Brandenburg A, Sposny A, Hewitt P, Ellinger-Ziegelbauer H, Bonventre JV, Dekant W, Mally A. Performance of novel kidney biomarkers in preclinical toxicity studies. *Toxicol Sci*. 2010;116(1):8-22.

36. Swedko PJ, Clark HD, Paramsothy K, Akbari A. Serum creatinine is an inadequate screening test for renal failure in elderly patients. *Arch Intern Med.* 2003;163(3):356-60.
37. Levey AS, Perrone RD, Madias NE. Serum creatinine and renal function. *Annu Rev Med.* 1988;39:465-90.
38. Lange C, Apostolova I, Lukas M, Huang KP, Hofheinz F, Gregor-Mamoudou B, Brenner W, Buchert R. Performance evaluation of stationary and semi-stationary acquisition with a non-stationary small animal multi-pinhole SPECT system. *Mol Imaging Biol.* 2014;16(3):311-6.
39. Brolin G, Edenbrandt L, Granerus G, Olsson A, Afzelius D, Gustafsson A, Jonsson C, Hagerman J, Johansson L, Riklund K, Ljungberg M. The accuracy of quantitative parameters in (99m) Tc-MAG3 dynamic renography: a national audit based on virtual image data. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2016;36(2):146-54.
40. Jafri RA, Britton KE, Nimmon CC, Solanki K, Al-Nahhas A, Bomanji J, Fettich J, Hawkins LA. Technetium-99m MAG3, a comparison with iodine-123 and iodine-131 orthoiodohippurate, in patients with renal disorders. *J Nucl Med.* 1988;29(2):147-58.
41. Taylor AT. Radionuclides in nephrourology, part 1: Radiopharmaceuticals, quality control, and quantitative indices. *J Nucl Med.* 2014;55(4):608-15.
42. Lapidus J, Zierdt D. Compatibility of normal renal function with aging. *JAMA.* 1967;201(10):778-9.
43. Klingensmith WC, 3rd, Briggs DE, Smith WI. Technetium-99m-MAG3 renal studies: normal range and reproducibility of physiologic parameters as a function of age and sex. *J Nucl Med.* 1994;35(10):1612-7.
44. Bridges CC, Zalups RK. The aging kidney and the nephrotoxic effects of mercury. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2017;20(2):55-80.
45. Luippold G, Pech B, Schneider S, Osswald H, Muhlbauer B. Age dependency of renal function in CD-1 mice. *Am J Physiol-Renal.* 2002;282(5):F886-F90.
46. Neugarten J, Silbiger SR. Effects of sex hormones on mesangial cells. *Am J Kidney Dis.* 1995;26(1):147-51.
47. Silbiger SR, Neugarten J. The impact of gender on the progression of chronic renal disease. *Am J Kidney Dis.* 1995;25(4):515-33.
48. Beierle I, Meibohm B, Derendorf H. Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 1999;37(11):529-47.
49. Sakemi T, Baba N. Castration attenuates proteinuria and glomerular injury in hyperlipidemic male Imai rats. *Nephron.* 1993;64(3):429-35.

50. Sakemi T, Toyoshima H, Morito F. Testosterone eliminates the attenuating effect of castration on the progressive glomerular injury in hypercholesterolemic male Imai rats. *Nephron*. 1994;67(4):469-76.
51. Sakemi T, Toyoshima H, Shouno Y, Morito F. Estrogen attenuates progressive glomerular injury in hypercholesterolemic male Imai rats. *Nephron*. 1995;69(2):159-65.
52. Klinker R, Pape, H.-C., Kurtz, A., Silbernagl, S. *Physiologie*: Thieme; 2009.
53. Bonny O, Firsov D. Circadian regulation of renal function and potential role in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2013;22(4):439-44.
54. Koopman MG, Koomen GC, Krediet RT, de Moor EA, Hoek FJ, Arisz L. Circadian rhythm of glomerular filtration rate in normal individuals. *Clin Sci (Lond)*. 1989;77(1):105-11.
55. Armbruster H, Vetter W, Uhlschmid G, Zaruba K, Beckerhoff B, Nussberger J, Vetter H, Siegenthaler W. Circadian rhythm of plasma renin activity and plasma aldosterone in normal man and in renal allograft recipients. *Proc Eur Dial Transplant Assoc*. 1975;11:268-76.
56. Achong DM, Tenorio LE. Abnormal MAG3 renal scintigraphy resulting from dehydration. *Clin Nucl Med*. 2003;28(8):683-4.
57. Cohen B, Myant NB. Concentration of salivary iodide: a comparative study. *The Journal of physiology*. 1959;145(3):595-610.
58. Logothetopoulos JH, Myant NB. Concentration of radio-iodide and 35-S-thiocyanate by the salivary glands. *The Journal of physiology*. 1956;134(1):189-94.
59. Hermann GA, Vivino FB, Shnier D, Krumm RP, Mayrin V, Shore JB. Variability of quantitative scintigraphic salivary indices in normal subjects. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 1998;39(7):1260-3.
60. Percival RS, Challacombe SJ, Marsh PD. Flow rates of resting whole and stimulated parotid saliva in relation to age and gender. *J Dent Res*. 1994;73(8):1416-20.
61. Vissink A, Spijkervet FK, Van Nieuw Amerongen A. Aging and saliva: a review of the literature. *Special care in dentistry : official publication of the American Association of Hospital Dentists, the Academy of Dentistry for the Handicapped, and the American Society for Geriatric Dentistry*. 1996;16(3):95-103.
62. Azevedo LR, Damante JH, Lara VS, Lauris JR. Age-related changes in human sublingual glands: a post mortem study. *Archives of oral biology*. 2005;50(6):565-74.
63. Choi JS, Park IS, Kim SK, Lim JY, Kim YM. Analysis of age-related changes in the functional morphologies of salivary glands in mice. *Archives of oral biology*. 2013;58(11):1635-42.

64. Sashima M. Age-related changes of rat submandibular gland: a morphometric and ultrastructural study. *Journal of oral pathology*. 1986;15(10):507-12.
65. Scott J. Qualitative and quantitative observations on the histology of human labial salivary glands obtained post mortem. *Journal de biologie buccale*. 1980;8(3):187-200.
66. Scott J. Quantitative age changes in the histological structure of human submandibular salivary glands. *Archives of oral biology*. 1977;22(3):221-7.
67. Scott J, Flower EA, Burns J. A quantitative study of histological changes in the human parotid gland occurring with adult age. *Journal of oral pathology*. 1987;16(10):505-10.
68. Atkinson WB, Wilson F, Coates S. The nature of the sexual dimorphism of the submandibular gland of the mouse. *Endocrinology*. 1959;65(1):114-7.
69. Raynaud J. The Action of Thyroid and Adrenal Glands on the Submaxillary Gland of Mice. *International series of monographs on oral biology*. 1964;3:47-62.
70. Lacassagne A. Dimorphisme sexuel de la glande sous-maxillaire chez la souris. *Comptes Rendus des Scéances de la Société de Biologie et de ses Filiales*. 1940:180-1.
71. Fekete E. Biology of the laboratory mouse. In: Blakiston, editor. *Histology*. Philadelphia: Snell, G. D.; 1941. p. 89-167.
72. Roberts ML. Testosterone-induced accumulation of epidermal growth factor in the submandibular salivary glands of mice, assessed by radioimmunoassay. *Biochemical pharmacology*. 1974;23(23):3305-8.
73. Denny PC, Chai Y, Pimprapaiorn W, Denny PA. Three-dimensional reconstruction of adult female mouse submandibular gland secretory structures. *The Anatomical record*. 1990;226(4):489-500.
74. Caramia F. Ultrastructure of mouse submaxillary gland. I. Sexual differences. *Journal of ultrastructure research*. 1966;16(5):505-23.
75. Gresik EW. The postnatal development of the sexually dimorphic duct system and of amylase activity in the submandibular glands of mice. *Cell and tissue research*. 1975;157(3):411-22.
76. Josefsson M, Grunditz T, Ohlsson T, Ekblad E. Sodium/iodide-symporter: distribution in different mammals and role in entero-thyroid circulation of iodide. *Acta physiologica Scandinavica*. 2002;175(2):129-37.
77. Dawes C. Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition. *The Journal of physiology*. 1972;220(3):529-45.
78. Dawes C. Circadian rhythms in the flow rate and composition of unstimulated and stimulated human submandibular saliva. *The Journal of physiology*. 1975;244(2):535-48.

79. Shannon IL, Suddick RP. Effects of light and darkness on human parotid salivary flow rate and chemical composition. *Archives of oral biology*. 1973;18(5):601-8.
80. Papagerakis S, Zheng L, Schnell S, Sartor MA, Somers E, Marder W, McAlpin B, Kim D, McHugh J, Papagerakis P. The circadian clock in oral health and diseases. *J Dent Res*. 2014;93(1):27-35.
81. Ishii H, Nakagawa Y. Stress response to surgical procedures in the submandibular region and its influence on salivary secretion in mice. *Archives of oral biology*. 2001;46(4):387-90.

4. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Kai Huang, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Erarbeitung eines optimalen Aufnahmemodus zur dynamischen Bildgebung an einem Kleintier-Einzelphotonen-Emissionstomographie-Gerät und Etablierung von Normwerten bei der Nieren- und Speicheldrüsenfunktionsszintigraphie bei der Maus“ selbständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurde die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité-Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

4. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

- 1) **Huang K**, Lukas M, Steffen IG, Lange C, Huang EL, Dorau V, Brenner W, Beindorff N. Normal Values of Renal Function measured with ^{99m}Techneium Mercaptoacetyltriglycine SPECT in Mice with Respect to Age, Sex and Circadian Rhythm. Nuklearmedizin. 2018 Dec;57(6):224-233.

Beiträge im Einzelnen:

1. Planung und Durchführung der Tierversuche
2. Auswertung der Bilddaten
3. Interpretation der Statistikdaten
4. Manuskripterstellung inkl. Literaturrecherche

- 2) Lange C, Apostolova I, Lukas M, **Huang KP**, Hofheinz F, Gregor-Mamoudou B, Brenner W, Buchert R. Performance evaluation of stationary and semi-stationary acquisition with a non-stationary small animal multi-pinhole SPECT system. Mol Imaging Biol. 2014 Jun;16(3):311-6.

Beiträge im Einzelnen:

1. Durchführung der Tierversuche
2. Auswertung der Bilddaten der Tierversuche
3. Mitwirkung bei der Manuskripterstellung

- 3) Huang EL, Steffen IG, Lukas M, **Huang K**, Aschenbach JR, Eary JF, Brenner W, Beindorff N. Normal Values for Parotid Gland and Submandibular-Sublingual Salivary Gland Complex Uptake of ^{99m}Techneium Pertechnetate using SPECT in Mice with Respect to Age, Sex, and Circadian Rhythm. Nuklearmedizin. 2019 Feb;58(1):39-49.

Beiträge im Einzelnen:

1. Mitwirkung bei der Planung sowie Durchführung der Tierversuche
2. Mitwirkung bei der Auswertung der Bilddaten
3. Mitwirkung bei der Manuskripterstellung

Unterschrift des Doktoranden

5. Druckexemplare der Publikationen

Publikation 1

Huang K, Lukas M, Steffen IG, Lange C, Huang EL, Dorau V, Brenner W, Beindorff N.

Normal Values of Renal Function measured with ^{99m}Techneium Mercaptoacetyltriglycine SPECT in Mice with Respect to Age, Sex and Circadian Rhythm.

Nuklearmedizin. 2018 Dec;57(6):224-233. doi: 10.3413/Nukmed-0999-18-09. Epub 2018 Dec 18. PubMed PMID: 30562811.

<http://doi.org/10.3413/Nukmed-0999-18-09>

Publikation 2

Lange C, Apostolova I, Lukas M, **Huang KP**, Hofheinz F, Gregor-Mamoudou B, Brenner W, Buchert R.

Performance evaluation of stationary and semi-stationary acquisition with a non-stationary small animal multi-pinhole SPECT system.

Mol Imaging Biol. 2014 Jun;16(3):311-6. doi: 10.1007/s11307-013-0702-3. Epub 2013 Nov 9.

PubMed PMID: 24214814.

<http://doi.org/10.1007/s11307-013-0702-3>

Publikation 3

Huang EL, Steffen IG, Lukas M, **Huang K**, Aschenbach JR, Eary JF, Brenner W, Beindorff N.
**Normal Values for Parotid Gland and Submandibular-Sublingual Salivary Gland
Complex Uptake of ^{99m}Techneium Pertechneate using SPECT in Mice with Respect to
Age, Sex, and Circadian Rhythm.**

Nuklearmedizin. 2019 Feb;58(1):39-49. doi: 10.1055/a-0810-0174. Epub 2019 Feb 15.
PubMed PMID: 30769372.

<http://doi.org/10.1055/a-0810-0174>

6. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

7. Publikationsliste

- 1) Lange C, Apostolova I, Lukas M, **Huang KP**, Hofheinz F, Gregor-Mamoudou B, Brenner W, Buchert B. Performance evaluation of stationary and semi-stationary acquisition with a non-stationary small animal multi-pinhole SPECT system. *Mol Imaging Biol.* 2014 Jun;16(3):311-6. doi: 10.1007/s11307-013-0702-3. Epub 2013 Nov 9.
Impact Factor 2017: 3,608.
- 2) Woythal N, Arsenic R, Kempkensteffen C, Miller K, Janssen JC, **Huang K**, Makowski MR, Brenner W, Prasad V. Immunohistochemical Validation of PSMA Expression Measured by ⁶⁸Ga-PSMA PET/CT in Primary Prostate Cancer. *J Nucl Med.* 2018 Feb;59(2):238-243. doi: 10.2967/jnumed.117.195172. Epub 2017 Aug 3.
Impact Factor 2017: 7,439.
- 3) **Huang K**, Baur AD, Furth C. Prostate-Specific Membrane Antigen-Positive Manifestations of Chronic Beryllium Lung Disease. *Clin Nucl Med.* 2019 Jan;44(1):64-65. doi: 10.1097/RLU.0000000000002323.
Impact Factor 2017: 6,281.
- 4) Beindorff N, Bartelheimer A, **Huang K**, Lukas M, Lange C, Huang EL, Aschenbach JR, Eary JF, Steffen IG, Brenner W. Normal Values of Thyroid Uptake of ^{99m}Technetium Pertechnetate SPECT in Mice with Respect to Age, Sex, and Circadian Rhythm. *Nuklearmedizin.* 2018 Sep;57(5):181-189. doi: 10.3413/Nukmed-0978-18-05. Epub 2018 Sep 28.
Impact Factor 2017: 1,352.
- 5) **Huang K**, Lukas M, Steffen IG, Lange C, Huang EL, Dorau V, Brenner W, Beindorff N. Normal Values of Renal Function measured with ^{99m}Technetium Mercaptoacetyltriglycine SPECT in Mice with Respect to Age, Sex and Circadian Rhythm. *Nuklearmedizin.* 2018 Dec;57(6):224-233. doi: 10.3413/Nukmed-0999-18-09. Epub 2018 Dec 18.
Impact Factor 2017: 1,352.

- 6) **Huang K**, Brenner W, Prasad V. Tumor lysis syndrome: a rare, but serious complication of radioligand therapies. J Nucl Med. 2018 Nov 21. pii: jnumed.118.217380. doi: 10.2967/jnumed.118.217380. [Epub ahead of print]
Impact Factor 2017: 7,439.
- 7) Huang EL, Steffen IG, Lukas M, **Huang K**, Aschenbach JR, Eary JF, Brenner W, Beindorff N. Normal Values for Parotid Gland and Submandibular-Sublingual Salivary Gland Complex Uptake of 99mTechnetium Pertechnetate using SPECT in Mice with Respect to Age, Sex, and Circadian Rhythm. Nuklearmedizin. 2019 Feb;58(1):39-49. doi: 10.1055/a-0810-0174. Epub 2019 Feb 15.
Impact Factor 2017: 1,352.

Kongressbeiträge

- 04/2019 Posterpräsentation auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin („Leuchtfueher“): Huang, K., Albers, J., Rogasch, J. M., De Santis, M., Erber, B., Furth, C., Schatka, I., Brenner, W., Amthauer, H.: Radioligandentherapie mit Lu-177-PSMA bei metastasiertem, kastrationsresistentem Prostatakarzinom: Explorative Analyse eines prognostischen Scores.
- 04/2018 Vortrag auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin: Huang, K., Brenner, W., Prasad, V.: Tumor lysis syndrome: a rare, but serious complication of radioligand therapies.
- 10/2017 Posterpräsentation auf der Summer School in Translational Cancer Research: Huang, K. P., Koziolk, E. J., Brenner, W., Prasad, V.: Crossover study to assess the synergistic and antagonistic effect of Docetaxel on Lu-177 PSMA Radioligand Therapy in Prostate Cancer.
- 07/2017 Vortrag auf der DKTK School of Oncology – Young Academics Conference: Huang, K. P., Koziolk, E. J., Brenner, W., Prasad, V.: Crossover study to assess the synergistic and antagonistic effect of Docetaxel on Lu-177 PSMA Radioligand Therapy in Prostate Cancer.

- 04/2016 Posterpräsentation auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin: Huang, K. P., Steffen, I. G., Lukas, M., Lange, C., Rosner, C., Brenner, W., Beindorff, N.: Longitudinal SPECT studies on kidney function in mice over a period of 24 months with respect to age, sex and circadian rhythm.
- 10/2015 Posterpräsentation auf der Jahrestagung der European Association of Nuclear Medicine: Huang, K. P., Steffen, I. G., Lukas, M., Lange, C., Rosner, C., Brenner, W., Beindorff, N.: The influence of age, sex and circadian rhythm on kidney function in mice measured by Tc-99m-MAG3 SPECT.

Stand: Februar 2019

8. Danksagung

Das Thema dieser Dissertation war ein Teilprojekt der Arbeitsgruppe „Normwerte“ des BERIC, welches zur Klinik für Nuklearmedizin der Charité Universitätsmedizin Berlin unter der ärztlichen Leitung von Prof. Dr. med. W. Brenner gehört.

Mein außerordentlicher Dank geht an meine Betreuer Prof. Dr. med. W. Brenner sowie Dr. med. vet. N. Beindorff für die Überlassung des Forschungsthemas und vor allem für die dauerhafte Unterstützung und konstruktive Kritik.

Des Weiteren danke ich vor allem E. Huang für die Mitarbeit im Labor sowie die Unterstützung während der Entstehung dieser Arbeit sowie neben ihr den weiteren Mitgliedern A. Bartelheimer und V. Dorau unserer Arbeitsgruppe für die gemeinsame Arbeit und gegenseitige Unterstützung.

Weiter danke ich Dr. med. I. Steffen für die dauerhafte Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Zuletzt danke ich meiner Familie für die emotionale Unterstützung während der intensiven Arbeitszeit an der Dissertation.