

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

DISSERTATION

**Einsatz und Evaluation computertomographischer
Methoden zur zerstörungsfreien Analyse fossiler
Knochen und Erforschung der Evolution ossärer
Pathologien**

**Non-destructive analysis of fossil bones and insights
into the evolution of osseous pathologies using
computed tomography**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Charlie Alexander Hamm

Datum der Promotion: 30.11.2023

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	6
Abkürzungsverzeichnis	7
Zusammenfassung	8
1. Einleitung	12
1.1 Computertomographie – Schnittbildgebung und Gewebecharakterisierung	12
1.2 Paläontologie – Fossile Knochen und Evolutionsbiologie.....	12
1.3 Digitale und computertomographische Methoden in der Paläontologie	14
1.4 Hypothese und Zielsetzungen	16
2. Methodik	17
2.1 Studiendesign.....	17
2.2 Untersuchte Skelettelemente.....	17
2.2.1. Unauffällige rezente und fossile Knochen	17
2.2.1.1 Objekte für die DECT-Kalibrierung	18
2.2.1.2 Objekte für die DECT-Validierung.....	18
2.2.2 Pathologisch veränderte Knochen des <i>Tyrannosaurus rex</i>	19
2.2.2.1 Fusionierte Schwanzwirbel und linke Fibula des <i>T. rex</i> „Sue“	19
2.2.2.2 Tumortragender linker Unterkieferknochen des <i>T. rex</i> „Tristan Otto“	21
2.3 CT-Techniken.....	23
2.3.1 Entwicklung eines DECT-Algorithmus.....	23
2.3.2 CT der Knochen von <i>T. rex</i> „Sue“	24
2.3.3 DECT-Untersuchung des pathologischen Unterkieferknochens des <i>T. rex</i> „Tristan Otto“ ..	27
2.3.3.1 DECT und Bildrekonstruktion	27
2.3.3.2 Quantitative Bildanalyse.....	28
2.4 Angewandte etablierte paläontologische Methoden	28
2.4.1 Analysen mittels phylogenetischer Systematik	28
2.4.2 Multimodale Knochenanalyse	30
2.5 Statistik.....	31
3. Ergebnisse	32
3.1 Zerstörungsfreie dichte- und elementbasierte Charakterisierung fossiler Knochen mittels quantitativer DECT	32
3.1.1 Fluorapatit als Biosignatur für fossile Knochen in der invasiven Knochenanalyse	32
3.1.2 Nachweis von Calcium und Fluor mittels DECT	32
3.1.3 Nichtinvasiver Nachweis von Fluor im fossilen Knochen	33
3.1.4 Identifikation von in Sediment eingebetteten fossilen Knochen mittels nichtinvasiver Fluorquantifizierung	34
3.2 Diagnose einer Osteomyelitis im <i>T. rex</i> „Sue“ mittels CT und phylogenetischer Systematik.....	36
3.3 Diagnose einer Osteomyelitis im <i>T. rex</i> „Tristan Otto“ mittels CT- und DECT-basierter Knochencharakterisierung sowie phylogenetischer Systematik	39
3.3.1 Pathomorphologische Charakterisierung	39
3.3.2 Differentialdiagnostische Analyse anhand der Morphologie	41
3.3.3 Charakterisierung der Pathologie mittels quantitativer DECT.....	44
3.3.4 Differentialdiagnosen im Kontext der phylogenetischen Systematik	47
3.3.5 Zusammenführung der durchgeführten differenzialdiagnostischen Analysen	48
4. Diskussion	49

4.1 Steigerung der Diagnosesicherheit durch neues Diagnosekonzept mittels CT und phylogenetischer Systematik	49
4.2 Neue Einblicke in die Krankheiten der Vergangenheit.....	52
4.3 Potential und künftige Anwendungen der DECT in der Paläontologie	53
4.4 Limitationen und weiterführende Fragestellungen.....	54
5. Schlussfolgerung	57
Literaturverzeichnis.....	58
Eidesstattliche Versicherung	71
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen.....	73
ISI-Weblisten und Druckexemplare der Publikationen	75
Publikation 1	75
Zusatzmaterial 1	92
Publikation 2	96
Zusatzmaterial 2	108
Lebenslauf	116
Komplette Publikationsliste	119
Danksagung.....	123

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Dual-Energy CT-Untersuchungsprotokoll für das Übersichtsbild.....	24
Tabelle 2: Dual-Energy CT-Untersuchungsprotokoll für die DECT-Volumenscans ..	25
Tabelle 3: Quantifizierung von Calcium mittels DECT	35
Tabelle 4: Quantifizierung von Fluor mittels DECT	35
Tabelle 5: Infektiöse, entzündliche und gutartige neoplastische Erkrankungen in der engen phylogenetischen Klammer der Nicht-Vogel-Dinosaurier und beim Menschen	42

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schwanzwirbel c26 und c27 des <i>T. rex</i> „Sue“	20
Abbildung 2: Linke Fibula des <i>T. rex</i> „Sue“	21
Abbildung 3: Linkes Os dentale des <i>T. rex</i> „Tristan Otto“	22
Abbildung 4: Quantitative Analyse der DECT-Bilddaten am Beispiel des Nothosaurus sp.....	26
Abbildung 5: CT der fusionierten Wirbelkörper des <i>T. rex</i> „Sue“ im klinischen 16- Zeilen CT-Scanner.....	27
Abbildung 6: Invasive Knochenanalyse mittels Röntgendiffraktometrie und Spektroskopie	31
Abbildung 7: Korrelation geologisches Alter mit Calcium- und Fluorgehalt der Knochen	36
Abbildung 8: Neoplastische und infektiöse Krankheiten im Kladogramm der Dinosaurier	38
Abbildung 9: CT-Rekonstruktionen der Dentaria in axialer Ebene	39
Abbildung 10: CT-Rekonstruktion des zahntragenden Teils des linken Os dentale in sagittaler Ebene	40
Abbildung 11: CT-Rekonstruktion des linken Os dentale in koronarer Ebene auf der Höhe des fokalen exophytischen Tumors.....	41
Abbildung 12: Charakterisierung der Pathologie im linken Os dentale mittels DECT- basierter Calcium- und Fluorkartierung.....	45
Abbildung 13: Zerstörungsfreie Quantifizierung von Calcium und Fluor im linken Os dentale mittels DECT	46
Abbildung 14: DECT-Materialkarten des linken Os dentale	46

Abkürzungsverzeichnis

CT	Computertomographie
DECT	Dual-Energy-CT
HU	Hounsfield-Einheiten
PGS	phylogenetische Systematik
EPK	enge phylogenetische Klammer
<i>T. rex</i>	<i>Tyrannosaurus rex</i>
Z_{eff}	effektive Ordnungszahl
Ma	Jahrmillion
kVp	Kilovolt peak
mA	Milliampere
ROI	region of interest
NVD	Nicht-Vogel-Dinosaurier
NVR	Nicht-Vogel-Reptilien
XRD	Röntgendiffraktometrie
REM	Rasterelektronenmikroskopie
EDX	Energiedispersions-Röntgenspektrometrie
ICP-OES	optische Emissionsspektrometrie
EA	Elementaranalyse
SD	Standardabweichung
wt. %	Gewichtsprozent
NVK	neurovaskulärer Kanal

Zusammenfassung

Zielsetzung: In den vorliegenden Studien wurden Computertomographie (CT)-basierte Bildgebungsmethoden zur zerstörungsfreien Analyse fossiler Knochen entwickelt und im Kontext etablierter paläontologischer Verfahren für die Erforschung ossärer Pathologien evaluiert.

Methoden: Sechs fossile Objekte, darunter die *Tyrannosaurus rex* (*T. rex*)-Exemplare „Sue“ und „Tristan Otto (TO)“, und das Femur eines rezenten *Bos taurus* (Rind) wurden untersucht. Zunächst erfolgte mittels CT die radiologische Diagnostik der pathologisch veränderten Fibula und der fusionierten Schwanzwirbel von *T. rex* "Sue". Anschließend wurden Daten zur Häufigkeit von korrespondierenden Pathologien bei phylogenetisch eng verwandten Arten auf Kladenebene aus der Literatur zum Vergleich herangezogen (144.277 bzw. 13.299 Vogel- und Reptilienpräparate), um die radiologischen Differentialdiagnosen mit Daten zur Wahrscheinlichkeit des Auftretens der Pathologien zu untermauern. Im Folgenden wurde die elementare Zusammensetzung des rezenten Rinderknochens und des Hämälbogens von *T. rex* "TO" mittels invasiver multimodaler Knochenanalyse analysiert. Diese diente anschließend als Grundlage für die Entwicklung eines quantitativen Dual-Energy (DE) CT-Algorithmus. Dieser wurde an in Sediment eingebetteten Fossilien validiert und schließlich an dem pathologisch veränderten Os dentale von *T. rex* "TO" angewendet, um Veränderungen der elementaren Zusammensetzung zerstörungsfrei zu charakterisieren.

Ergebnisse: Die CT-Untersuchung des *T. rex* „Sue“ zeigte Veränderungen, die radiologisch eine neoplastische oder infektiöse Genese nahelegen. Die Daten zur Häufigkeit von korrespondierenden Pathologien ergaben Neoplasieraten von 3% bei Vögeln und 2% bei Reptilien, während die Infektionsraten deutlich höher waren (32% und 54%) und somit die Diagnose einer Osteomyelitis nahelegten. Die multimodale Knochenanalyse der fossilen Knochen zeigte einen höheren Fluorgehalt als bei rezenten Knochen. Mittels fluorspezifischer DECT wurden ebenfalls höhere Fluorkonzentrationen im *T. rex* „TO“ als im *Bos taurus* ($p < 0,001$) detektiert. Der Fluorgehalt korrelierte zudem mit dem geologischen Alter der untersuchten terrestrischen Fossilien. Eine besonders hohe Fluorkonzentration wurde im

pathologisch veränderten Os dentale von *T. rex* „TO“ gemessen, welche in Zusammenschau mit der CT-Morphologie mit der Diagnose einer chronischen Osteomyelitis vereinbar ist.

Schlussfolgerung:

Die Kombination aus CT und Daten zur Häufigkeit von Erkrankungen bei phylogenetisch eng verwandter Arten konnte die Diagnose einer chronischen Osteomyelitis bei *T. rex* „Sue“ und „TO“ mit hoher diagnostischer Sicherheit stellen. Zudem wurde Fluor als Indikator für fossilen Knochen identifiziert und mittels eines innovativen DECT- Algorithmus quantifiziert. CT und fluorspezifische DECT eignen sich als nicht-invasive Werkzeuge zur Untersuchung fossiler Knochen und unterstreichen die Bedeutung innovativer radiologischer Bildgebung in den Naturwissenschaften.

Abstract

Objectives: In the present studies, computed tomography (CT)-based imaging methods were developed as non-destructive analysis tools for fossil bone and evaluated in the context of established paleontological methods for the study of osseous pathologies.

Methods: A total of six fossil specimens, including the *Tyrannosaurus rex* (*T. rex*) specimens "Sue" and "Tristan Otto (TO)", and the femur of a extant *Bos taurus* (cattle) were subject to multimodal examination. First, CT imaging was applied to the pathologically altered fibula and fused caudal vertebrae of *T. rex* "Sue" was performed. Subsequently, pathology reports from phylogenetically closely related species at the clade level (phylogenetic disease bracketing) were reviewed and data on the occurrence of disease (144,277 and 13,299 avian and reptile specimens, respectively) was curated to determine the most plausible and likely diagnosis of the *T. rex* "Sue". Secondly, elementary compositions of the extant cattle bone and fossilized haemal arch of *T. rex* "TO" were analyzed invasively using established material characterization techniques. Identified elements in fossilized bone were used to develop a quantitative dual-energy (DE)CT algorithm for non-destructive bone characterization. Finally, the developed DECT algorithm was validated on sediment-embedded fossils and applied to the diseased jaw bone of *T. rex* "TO" to non-destructively characterize changes in elemental composition.

Results: CT imaging of *T. rex* "Sue" revealed bone alterations suggestive of a neoplastic or infectious pathogenesis. Subsequent data review revealed neoplasia rates as low as 3% and 2% while infectious-disease rates were substantially higher with 32% and 54% in extant dinosaurs (birds) and non-avian reptiles, respectively, suggesting the diagnosis of osteomyelitis. Multimodal bone analysis revealed a higher fluorine content in fossilized bone than in extant and thus, a DECT algorithm for quantification of fluorine was developed. The fluorine-specific DECT also detected a higher fluorine concentration in *T. rex* "TO" compared to *Bos taurus* ($p < 0.001$). Additionally, the fluorine content in the DECT analysis correlated with the geological age of the investigated terrestrial fossils. Finally, the diseased jaw bone of *T. rex* "TO" showed areas of particularly high fluorine concentrations on DECT, while pathomorphological features supported the diagnosis of chronic osteomyelitis.

Conclusions: Using clinical CT and data on disease occurrence in phylogenetically related species allowed the diagnosis of chronic osteomyelitis in *T. rex* "Sue" and "TO" with a high diagnostic confidence. Moreover, fluorine was identified as an indicator of fossil bone and could be quantified using an innovative DECT algorithm. Thus, this work presents clinical CT and fluorine-specific DECT as non-destructive tools for the examination of fossil bones and highlight the importance of innovative radiological imaging techniques for natural sciences.

1. Einleitung

1.1 Computertomographie – Schnittbildgebung und Gewebecharakterisierung

Das auf die Anwendung von Röntgenstrahlen basierende bildgebende Verfahren Computertomographie (CT) ist in der klinischen Medizin von unersetzlichem Wert, und kontinuierliche Fortschritte in der Forschung führen zu immer besseren und spezifischeren Bildgebungsmöglichkeiten für sämtliche menschliche Organe und Erkrankungen. Die ständige Weiterentwicklung der CT hat nicht nur die räumliche Auflösung der konventionellen CT-Bildgebung erheblich verbessert, sondern auch zur Entwicklung der Dual-Energy-CT (DECT) geführt. Während die konventionelle CT die Röntgenstrahlenschwächung in Hounsfield-Einheiten (HU) misst, die proportional zur Elektronendichte eines bestimmten Materials und seiner Konzentration sind, liefert die DECT zusätzliche Informationen über das untersuchte Gewebe oder Material (1, 2). Die denkbaren Anwendungsgebiete der DECT in der klinischen Diagnostik am Patienten sind sehr vielfältig und reichen von der spezifischen Charakterisierung von Harnsäuretophi bei Gicht bis zur Reduktion von Metallartefakten (3, 4). Besonders hervorzuheben ist die Anwendbarkeit der Dreimaterialdifferenzierung, welche die virtuelle Zerlegung eines einzelnen Volumenpixels (Voxel) in bis zu drei Materialien unter Verwendung ihrer jeweiligen spektralen Eigenschaften erlaubt (5). Dabei berücksichtigt das Modell das Schwächungsverhalten der zu untersuchenden Elemente in den jeweiligen Voxeln, wodurch der Einfluss jedes einzelnen Elements auf das CT-Bild abgeschätzt und bei der Kalkulation virtueller Bilder berücksichtigt werden kann. Dies ermöglicht eine dichte- und elementbasierte Zerlegung untersuchter Objekte und ermöglicht somit zerstörungsfreie spektroskopische Untersuchungen ohne eine Zerstörung des Gewebes.

1.2 Paläontologie – Fossile Knochen und Evolutionsbiologie

Mit dem Ziel, die Entwicklung des Lebens auf der Erde zu rekonstruieren, werden in der Paläontologie in Sedimentgesteinen vorkommende Überreste und Zeugnisse von Lebewesen, welche älter als 10.000 Jahre sind, in Form von Fossilien untersucht. Dabei werden auf diesem Gebiet Informationen über die Identität und Herkunft verschiedener Organismen, ihrer Umwelt und Entwicklung sowie deren Einfluss auf die organische und anorganische Vergangenheit der Erde analysiert.

Besonders Mediziner haben die Paläontologie früh geprägt, wie unter anderem der weltberühmte Pathologe Rudolf Virchow (1821-1902), der 1870 mit der

Beschreibung eines deformierten Wirbelkörpers eines Höhlenbären die Teildisziplin der Paläopathologie einführte und neben dem berühmten Geologen und Anatom Roy Lee Moodie (1880-1934) zu den Begründern dieser Fachdisziplin zählt (6, 7). Paläopathologische Studien befassen sich üblicherweise mit Krankheiten und traumatischen Verletzungen bei fossilen Wirbeltieren, die sichtbare Spuren am Skelett hinterlassen haben (8). Die Untersuchung pathologischer Phänomene gibt Einblicke in das frühere Leben und vermittelt einen Eindruck der Lebensweise (Verhalten, Interaktionen, Heilungsprozesse) ausgestorbener Tierarten. Darüber hinaus gibt die Entstehung und Entwicklung von Krankheiten, die in den fossilen Funden untersucht werden, Aufschluss über die Herkunft heutiger Krankheiten in der Human- und Veterinärmedizin (8). Dabei ist an dieser Stelle zu erwähnen, dass das Nachvollziehen der Entstehung und Ausbreitung von Tierkrankheiten von großer Bedeutung für die Humanmedizin ist, da ca. 75 % aller menschlichen Krankheitserreger auf zoonotische Erreger zurückzuführen sind (9).

Die Diagnose pathologischer Veränderungen an Fossilien ist jedoch eine besondere Herausforderung, da neben den Knochen nur selten andere Gewebestrukturen erhalten sind und detaillierte Materialanalysen oft die invasive Entnahme von Knochenproben erfordern, die bei diesen Unikaten daher nur selten und ungern durchgeführt werden. Eine fundierte Diagnose in der Paläopathologie sollte jedoch nicht allein auf der Interpretation augenscheinlicher Skelettanomalien beruhen, sondern möglichst alle verfügbaren Informationen in den Prozess der Diagnosestellung mit einbeziehen. In diesem Zusammenhang könnte die systematische Analyse bereits beschriebener Pathologien und deren Auftreten und Häufigkeit bei ausgestorbenen und rezenten (lebenden) verwandten Arten des erkrankten Individuums unter Verwendung der phylogenetischen Systematik (PGS) ein vielversprechendes Konzept für robustere und zuverlässigere Klassifizierungen von pathologischen Befunden bieten. Dieser Ansatz beruht auf dem Konzept der Phylogenie („dem Baum des Lebens“) (10). Mittels kladistischer Analysen morphologischer Ausprägungen oder mit molekularen Untersuchungen werden hier Verwandtschaftsverhältnisse zwischen ausgestorbenen und lebenden Wirbeltieren untersucht. Ergebnisse fließen dann in Verzweigungsdiagramme (Kladogramme) ein, welche alle untersuchten rezenten und fossilen Arten miteinander verbinden, wobei die Verzweigungspunkte die Schnittstellen markieren, an denen ein Merkmal in mindestens zwei Arten auftritt (so genannte Synapomorphien). Die Phylogenie wird

bislang in erster Linie für die Verdeutlichung von Verwandtschaftsverhältnissen verwendet und hat bisher noch keine Anwendung für die systematische Erhebung von pathologischen Veränderungen bei fossilen Lebewesen und deren rezenten Verwandten (enge (rezente) phylogenetische Klammer, EPK) gefunden (11). Mit dem Ziel mögliche Differentialdiagnosen durch Wahrscheinlichkeiten für das Auftreten von Erkrankungen einzuschränken, bietet dieser Ansatz jedoch auch in der Paläopathologie einen potentiellen Mehrwert.

Darüber hinaus kann eine Krankheit bei verschiedenen Arten unterschiedliche morphologische Merkmale aufweisen, die die Notwendigkeit eines mehrstufigen diagnostischen Ansatzes für pathologische Läsionen in Fossilien hervorhebt (12, 13). Obwohl bereits bei mehreren Dinosaurierarten eine Vielzahl medizinischer Diagnosen gestellt wurden, stützten sich diese meist lediglich auf die Charakterisierung pathomorphologischer Veränderungen und vernachlässigten den Aspekt der phylogenetischen Plausibilität der jeweiligen Krankheiten (14). In vielen paläontologischen Studien wird zudem keine differenzierte Diskussion möglicher weiterer Differentialdiagnosen geführt, wie man es aus der klinischen Praxis und humanmedizinischen Forschung gewohnt ist.

1.3 Digitale und computertomographische Methoden in der Paläontologie

Die Digitalisierung und dreidimensionale Rekonstruktion von Fossilien ist von entscheidender Bedeutung, um Wissenschaftlern aus aller Welt die Untersuchung oft einzigartiger Exemplare zu ermöglichen und internationale Kooperationen zu fördern.

Der Goldstandard für die dreidimensionale Digitalisierung in der Paläontologie ist die Photogrammetrie, bei welchem ein Objekt aus verschiedenen Winkeln fotografiert wird und durch den Abgleich von Merkmalen auf den Fotos mittels Computersoftware ein 3D-Modell erstellt werden kann (15). Diese Methode bietet die höchste räumliche Auflösung aller Bildgebungsmodalitäten, kann bei Exemplaren jeder Größe angewendet werden und bildet die tatsächliche Farbe des Exemplars ab (15, 16). Die Kombination aus Vielseitigkeit, Beweglichkeit und relativer Benutzerfreundlichkeit macht diese hochauflösende Methode zu einem universellen Werkzeug für die Digitalisierung paläontologischer Exemplare (15). Die radiologische Schnittbildgebung mittels CT zeichnet sich jedoch durch die Eigenschaft aus, innere Strukturen des Objekts zerstörungsfrei darstellen und analysieren zu können, was zusätzliche wichtige Erkenntnisse liefern kann.

Eine im Vorfeld dieser Arbeit durchgeführte Studie untersuchte daher den technischen Aufwand, die nötigen Arbeitsabläufe, die Kosten und die Bildqualität bei der Verwendung eines klinischen CT-Scanners für paläontologische Untersuchungen am Beispiel eines Schädels des *Tyrannosaurus rex* (*T. rex*) (17). In einem direkten Vergleich mit der manuellen Photogrammetrie zeigte die Studie, dass der Einsatz eines klinischen CT-Scanners auch bei großen paläontologischen Objekten mit hoher Dichte machbar und deutlich kostengünstiger ist. Da die CT-Scans zudem multiplanare und volumenbezogene Informationen über das Objekt liefern, ist eine Analyse der inneren Strukturen in verschiedenen Ebenen möglich. In diesem Zusammenhang wurde in einem der untersuchten Schädelknochen ein bei der Oberflächenbetrachtung nicht sichtbarer Hohlraum entdeckt, der dieses Knochensegment anfällig für Brüche macht. Dieser Befund war für die Paläontologen von erheblicher Bedeutung in Bezug auf die Handhabung und Lagerung. Allerdings zeigten beide Methoden individuelle Stärken und vor allem einen klaren Mehrwert, wenn sie komplementär zueinander eingesetzt werden. Damit hat die radiologische Bildgebung einen bedeutenden Beitrag in der Paläopathologie geleistet, da innere Strukturen beurteilt und aus der Humanmedizin stammende Krankheitsmerkmale erkannt werden können, wodurch das Spektrum an zur Verfügung stehenden differenzialdiagnostischen Kriterien zunimmt (12, 13, 18, 19).

Darüber hinaus könnte die DECT-Technik auch den ungedeckten Bedarf in der paläontologischen Forschung an zerstörungsfreien bildgebenden Verfahren adressieren, die morphologische und molekulare Informationen über die oft einzigartigen fossilen Objekte liefern und damit eine Defragmentierung oder Zerstörung vermeiden (20). Die Fähigkeit der Dual-Energy-Methode, die effektive Ordnungszahl (Z_{eff}) zu erkennen, wird neben der Humanmedizin auch in den Naturwissenschaften wie der Hydrologie, Geologie und Mineralogie genutzt (21-24). Des Weiteren hat die DECT bereits auch zur Erforschung der Menschheitsgeschichte beigetragen, indem sie neue Aspekte der für die Mumifizierung im Ägypten um 800 v. Chr. verwendeten Materialien aufgedeckt hat (25). Die potenzielle Anwendbarkeit der DECT-Bildgebung im Bereich der Paläontologie ist bisher jedoch noch nicht näher erforscht worden, könnte aber aufgrund der zerstörungsfreien Erkennung, Darstellung und Quantifizierung von versteinertem biologischen Gewebe und seiner chemischen Zusammensetzung neue Einblicke in die Geschichte des Lebens bieten.

1.4 Hypothese und Zielsetzungen

Die grundlegende Hypothese dieser Arbeit ist die Idee, dass durch die Zusammenführung der CT mit etablierten paläontologischen Techniken sowie die Verwendung neuartiger DECT-Bildgebungsverfahren ein bedeutender diagnostischer Fortschritt bei der Analyse paläontologischer Objekte erreicht werden kann.

Ziele dieser Arbeit waren daher **(i)** die Entwicklung eines umfangreichen diagnostischen Ansatzes, der zur Differentialdiagnostik ossärer Pathologien eine detaillierte radiologische Charakterisierung mit Daten zur Wahrscheinlichkeit des Auftretens spezifischer Erkrankungen innerhalb der engen phylogenetischen Klammer verbindet, **(ii)** die Entwicklung und Anwendung der quantitativen DECT-Bildgebung für die zerstörungsfreie, elementbasierte Materialdifferenzierung fossiler Knochen und **(iii)** die Zusammenführung und Validierung der entwickelten Methoden am Beispiel des pathologisch veränderten Unterkieferknochens des *T. rex* „Tristan Otto“.

2. Methodik

2.1 Studiendesign

Diese Dissertation fußt auf der Methodik und den Ergebnissen von zwei Originalarbeiten in wissenschaftlichen Fachzeitschriften mit Peer-Review-Verfahren sowie der Demonstration der entwickelten Methoden im Rahmen einer zusätzlichen Untersuchung des *T. rex* „Tristan Otto“. Die Studien konzentrierten sich auf die Kombination aus CT-Schnittbildgebung und etablierten paläontologischen Methoden zur Klassifizierung knöcherner Pathologien (Hamm et al. 2020 (14)) und die Anwendung sowie Validierung einer eigens entwickelten DECT-Bildgebungsmethode für die zerstörungsfreie Materialzerlegung von fossilen Objekten (Hamm et al. 2022 (26)). Darüber hinaus ist explizit für die Dissertation eine zusätzliche Untersuchung des *T. rex* „Tristan Otto“ durchgeführt worden, welche dem Prinzip einer Validierungsstudie der in den beiden vorgenannten Publikationen entwickelten Methoden entspricht. In dieser Untersuchung wurden gewonnene Erkenntnisse und entwickelte Methoden kombiniert und für die präzise Charakterisierung einer am Unterkiefer eines *T. rex* beobachteten Pathologie angewandt (unveröffentlicht). Die in den Studien verwendeten fossilen Objekte und die bildgebenden sowie paläontologischen Methoden werden im Folgenden detailliert erläutert.

2.2 Untersuchte Skelettelemente

2.2.1. Unauffällige rezente und fossile Knochen

Mit dem Ziel, einen innovativen DECT-Algorithmus für die zerstörungsfreie Materialzerlegung von fossilen Objekten zu entwickeln, wurden zwei Kalibrierungsobjekte (das Femur eines rezenten *Bos taurus* und ein Hämälbogen von *T. rex* "Tristan Otto") und vier weitere in Sediment eingebettete Testobjekte (fossile Knochen von *Nothosaurus* sp., *Ichthyosauria* indet., *Dysalotosaurus lettowvorbecki* und *Alcelaphinae* indet.) verwendet (Abbildung 1 in (26)). Während die durch invasive Knochenanalyse ermittelte, elementare Zusammensetzung der Kalibrierungsobjekte die Basis für die Entwicklung des DECT-Algorithmus bildete, dienten die Testobjekte der Überprüfung und Validierung der DECT-Analysen.

2.2.1.1 Objekte für die DECT-Kalibrierung

Die zur DECT-Kalibrierung verwendeten Objekte (Kalibrierungsobjekte) waren der Hämälbogen eines vorderen Schwanzwirbels (ca. 3. – 5. Schwanzwirbel) von *T. rex* „Tristan Otto“ (MB.R. 91216) und das Femur des *Bos taurus* MB.Ma. 52910 (rezent) aus Bückeberg, Niedersachsen, Deutschland. Der Hämälbogen hat eine Länge von 31,5 cm, eine maximale Breite von 10,4 cm und eine maximale Höhe von 6,6 cm. Zur Stabilisierung ist an der Rückenseite des Knochens ein Stahlrahmen angebracht. Für die Analyse der Knochenmatrix wurde im Verlauf ein 5,5 cm x 3 cm x 2 cm großes Knochenfragment des proximalen Teils des Knochens entnommen.

Das verwendete Oberschenkelknochenfragment des *Bos taurus* hatte die Maße 2,5 cm x 6,1 cm x 3,2 cm. Bis zum Zeitpunkt der Defragmentierung und anschließenden Knochenanalyse wurde der Knochen des *Bos taurus* bei -18 °C tiefgekühlt gelagert. Vor der Knochendefragmentierung wurde von beiden Objekten ein CT-Scan angefertigt, welcher für den Hämälbogen nach der Entfernung des Knochenfragments wiederholt wurde. Dies ermöglichte eine exakte anatomische Korrelation der Ergebnisse der Knochenanalyse mit den folgenden DECT-Untersuchungen (Abbildung S1 in (26)).

2.2.1.2 Objekte für die DECT-Validierung

Der entwickelte DECT-Algorithmus zur Quantifizierung spezifischer Elementkonzentrationen in fossilen Knochen wurde an in Sediment eingebetteten fossilen Knochen von zwei marinen Reptilien (*Nothosaurus* und *Ichthyosaurus*) und zwei terrestrischen Wirbeltieren (*Dysalotosaurus* und *Alcelaphinae*) getestet: ein Femur von *Nothosaurus* sp. MB.R. 2830 (Reptil, Sauropterygia, Bad Sulza Formation, oberer Muschelkalk, Illyrien, spätes Anisium, Mittlere Trias von Bad Sulza, Thüringen, Deutschland; etwa 242 Ma), ein Wirbelkörper von *Ichthyosauria* indet. MB.R. 3538.3 (Reptil, *Ichthyosauria*, Aalensis Zone, spätes Toarcium (Lias ζ), früher Jura der Tongrube Mistelgau, bei Bayreuth/Oberfranken, Deutschland; ca. 175 Ma), ein Parietalknochen von *Dysalotosaurus lettowvorbecki* MB. R. 1317 (Reptil, *Dinosauria*, spätes Kimmeridgium, Spätjura des Kindope-Bachbettes, Tendaguru, Lindi Region, Tansania; ca. 153 Ma), und Knochen der Gliedmaßen von *Alcelaphinae* indet. MB.Ma. 51906 (Säugetier, *Artiodactyla*, Bett II, Pleistozän der Olduvai-Schlucht, Arusha-Region, N-Tansania; ca. 1,7-1,3 Ma). Alle Exemplare sind Teil der Sammlung des Museums für Naturkunde Berlin.

2.2.2 Pathologisch veränderte Knochen des *Tyrannosaurus rex*

Der *T. rex* ist das Sinnbild eines terrestrischen Raubsauriers und wohl der einprägsamste Dinosaurier. Diese nordamerikanische Dinosaurierart aus der späten Kreidezeit (Maastricht: ca. 68-66 Jahrmillionen (Ma)) ist einer der bekanntesten großen Theropoden und zählt zu den größten Raubdinosauriern (27-29). Nach mehr als 100 Jahren Forschung ist der *T. rex* immer noch ein willkommenes Forschungsobjekt in der Wirbeltierpaläontologie, wie neuere Arbeiten über seine beeindruckende Körpergröße, die hochentwickelten fazialen Sinnesorgane, die Bisskraft, Fortbewegungsfähigkeit, seine Artenverwandtschaft und Evolutionsgeschichte belegen (30-36). Im Rahmen dieser Arbeit wurden pathologisch veränderte, noch nicht näher untersuchte Knochen von zwei *T. rex* Exemplaren untersucht.

2.2.2.1 Fusionierte Schwanzwirbel und linke Fibula des *T. rex* "Sue"

Die untersuchten Knochen gehören zu dem *T. rex* Exemplar FMNH PR2081, das den Spitznamen "Sue" trägt und im Field Museum of Natural History in Chicago, IL, USA, ausgestellt ist. Das Exemplar wurde von der Fossiliensammlerin Sue Hendrickson in Tonsteinen der unteren Hell Creek Formation in der Nähe von Faith in South Dakota entdeckt und 1991 geborgen. Das Skelett, welches etwa zu 70% vollständig ist, zählt zu den am besten erhaltenen *T. rex* Skeletten weltweit (18).

Die Schwanzwirbel c26 und c27 und ihr gemeinsamer Hämälbogen sind miteinander verschmolzen (**Abbildung 1**). Die anteroposteriore Länge der fusionierten Wirbelkörper beträgt 26,5 cm und die mediolaterale Länge 19,8 cm. Die Pathologie ist als tumoröse Raumforderung auf der Höhe der Zwischenwirbelgelenke zu erkennen und hat eine anteroposteriore Gesamtlänge von 14,5 cm und einen Durchmesser von 19,8 cm. Die Knochenneubildung erstreckt sich von der intervertebralen Fusionszone bis zum Hämälbogen und erscheint oberflächlich rau und unregelmäßig, abgesehen von langen anteroposterioren Furchen, die bilateral symmetrisch sind. Diese Furchen wurden bereits früher beschrieben und auf mögliche natürliche Abdrücke der Schwanzmuskulatur zurückgeführt (18). Die Zygapophysengelenke sind nicht verändert oder betroffen, und es sind keine Anzeichen einer Sehnenverknöcherung zu erkennen.

Im Vergleich zur kontralateralen unauffälligen Seite ist in den distalen Zweidritteln der linken Fibula eine pathologische Veränderung des Schafts zu

erkennen (**Abbildung 2**). Die proximalen und distalen Gelenkflächen sind nicht betroffen und zeigen keine Anzeichen für pathologische Veränderungen. Die Fibula hat eine Länge von 104 cm und einen maximalen Durchmesser von 16 cm auf der Höhe der pathologischen Knochenveränderung. Das umfangsvermehrte und pathologisch veränderte Knochensegment hat eine Länge von ca. 68 cm, welches in fließendem Übergang proximal und distal in den angrenzenden normalen Knochen übergeht. Die Knochenoberfläche der Pathologie erscheint zerfurcht und unregelmäßig im Vergleich zur glatten Oberfläche der kontralateralen Seite. Die Fibula zeigt im Seitenvergleich jedoch keinen Anhalt für eine Achsendeviation oder Knochenverkürzung.

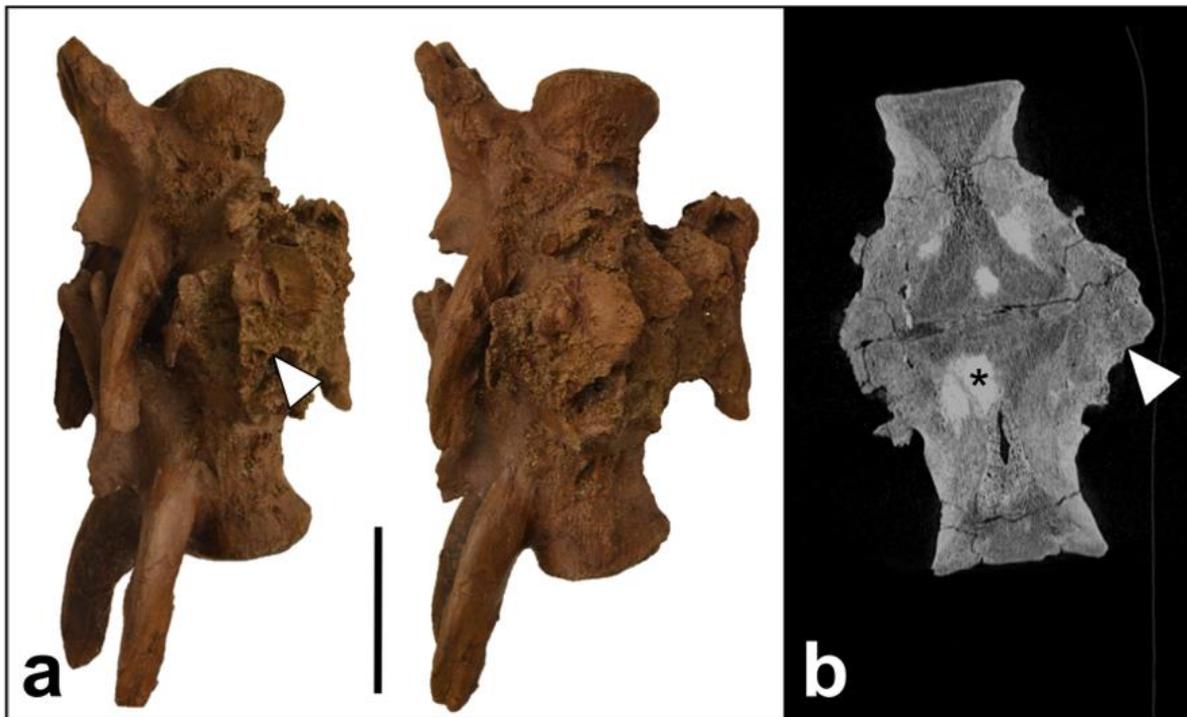


Abbildung 1: Schwanzwirbel c26 und c27 des *T. rex* „Sue“

Photographien der Schwanzwirbel in angulierter Seitansicht (a) und CT-Rekonstruktion in koronarer Ebene (b). Die leicht erkennbare zirkumferentielle raue Knochenneubildung der fusionierten Schwanzwirbel ist durch Pfeilspitzen gekennzeichnet. Bereiche mit erhöhter Dichte innerhalb der Läsion () sind am ehesten auf Sedimenteinschlüsse zurückzuführen. Der Maßstab entspricht 10 cm (schwarzer Balken). (eigene Darstellung)*

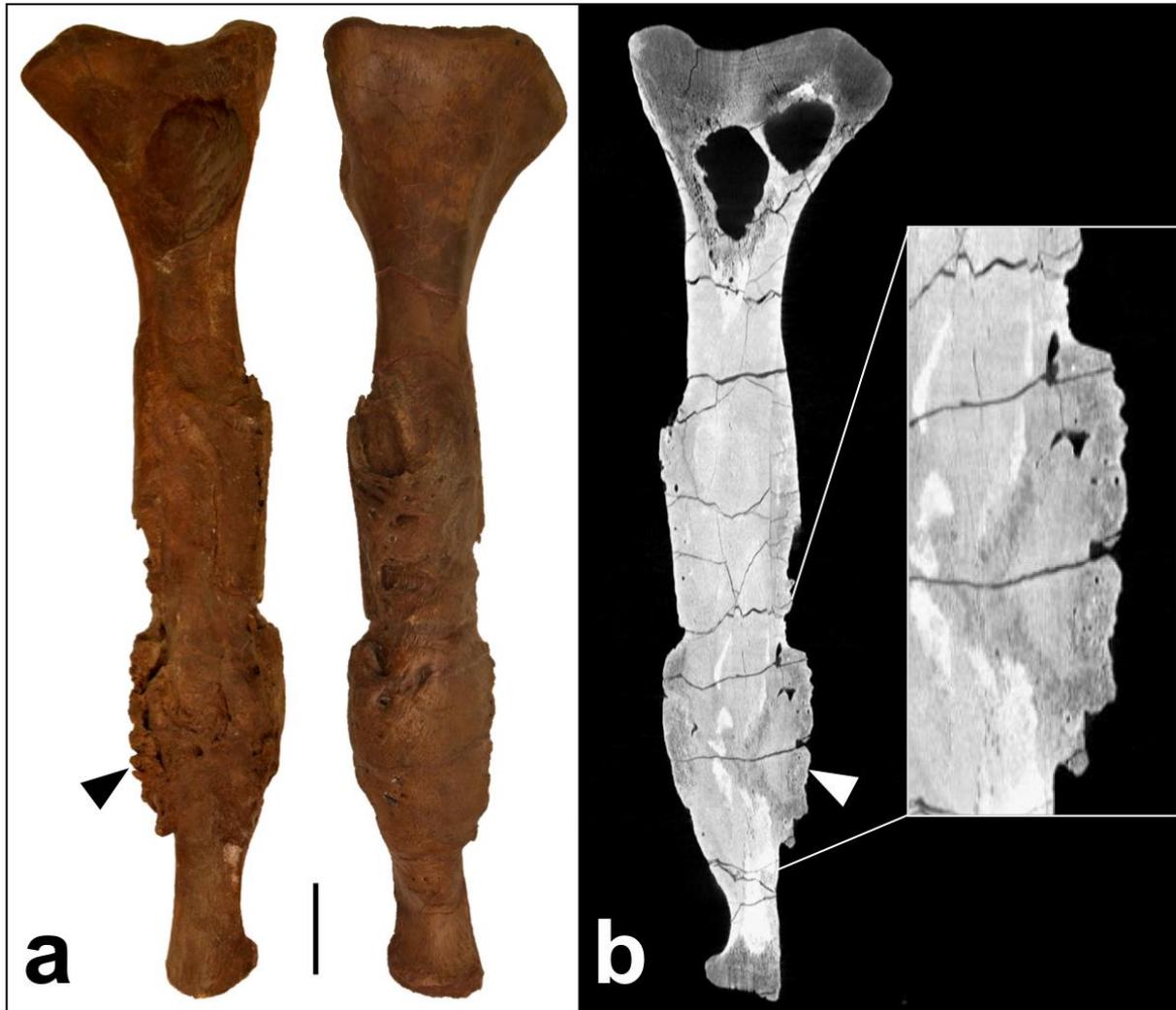


Abbildung 2: Linke Fibula des *T. rex* „Sue“

Photographien der Vorder- und Rückseite (a) sowie CT-Rekonstruktion in sagittaler Ebene (b). Das sagittale CT-Querschnittsbild zeigt eine deutliche Knochenneubildung mit reduzierter Knochendichte (Pfeilspitzen). Der Maßstab entspricht 10 cm (schwarzer Balken). (modifiziert nach Hamm et al. 2020 (14))

2.2.2.2 Tumortragender linker Unterkieferknochen des *T. rex* "Tristan Otto"

Bei dem zweiten untersuchten Objekt handelt es sich um den *T. rex* "Tristan Otto" (MB.R. 91216) aus SE Montana (Carter County), USA. Das Skelett wurde 2009 entdeckt und war zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie im Museum für Naturkunde Berlin ausgestellt. Das Individuum ist in einem sehr guten Zustand mit 170 fossilen Knochen und einem fast vollständigen dreidimensional erhaltenen Schädel (17). Das Skelett zeichnet sich besonders durch seine tief schwarze Farbe aus.

Die hier beschriebene Pathologie betrifft das linke Os dentale (**Abbildung 3**), das zusammen mit dem Os spleniale, Os coronoideum Os supradentale, Os praearticulare, Os surangulare, Os angulare und Os articulare den linken Unterkiefer

bildet. Der gesamte hier untersuchte linke Unterkiefer misst 126,2 cm in anteroposteriorer Dimension (von der Spitze des Os dentale bis zum Ende des Os surangulare). Das linke Os dentale ist 79,5 cm lang und es sind 12 der 13 funktionellen Zähne erhalten.

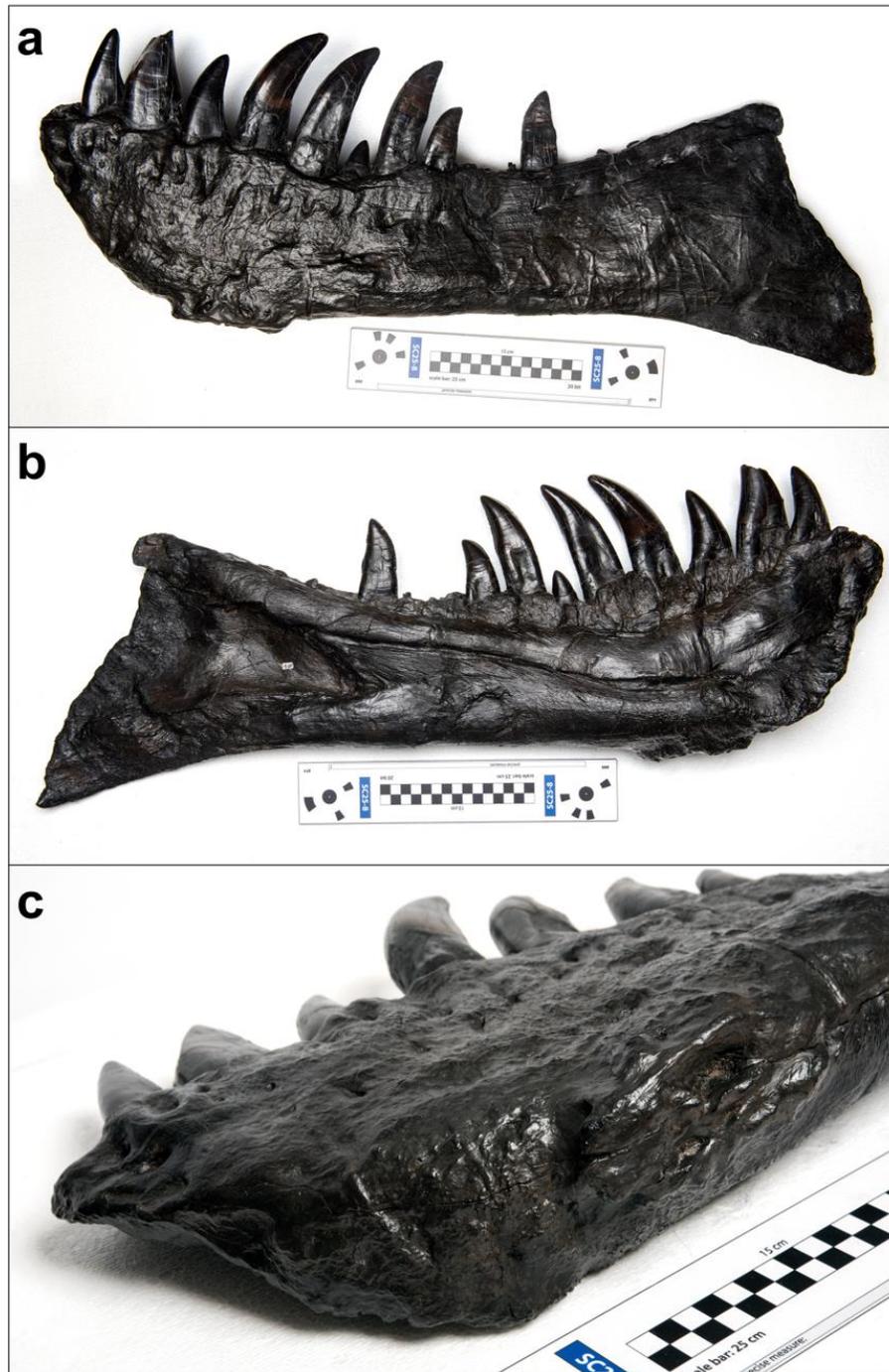


Abbildung 3: Linkes Os dentale des *T. rex* „Tristan Otto“

Photographien von vestibulär (a) und lingual (b) sowie der knöchernen Pathologie im rostralen Drittel am Unterrand des Knochens (c). (eigene Darstellung)

2.3 CT-Techniken

2.3.1 Entwicklung eines DECT-Algorithmus

Die Entwicklung eines anwendungsspezifischen DECT-Algorithmus erforderte ein mehrstufiges Konzept von CT-Bildaufnahmen in Dual-Energy Methode und Bildnachbearbeitungsschritten, wie in Hamm et al. 2022 ausführlich beschrieben (26). Zunächst wurden die Kalibrierungsobjekte unter Verwendung eines Dual-Energy-Akquisitionsprotokolls in einem medizinischen 320-Zeilen-CT-Scanner (Aquilion ONE - Vision Edition, Toshiba Medical Systems, Tochigi, Japan) mit den Röhrenspannungen 80 und 135 kVp untersucht. Anschließend wurde auf der Grundlage der Ergebnisse der invasiven multimodalen Knochenanalyse ein umfassendes Spektrum von Kalibrierungsmaterialien für die DECT-Kalibrierung ausgewählt und mittels DECT untersucht.

Der hierbei verwendete klinische CT-Scanner befindet sich in der Klinik für Radiologie am Campus Mitte der Charité in Berlin. Dieser CT-Scanner hat eine Gantry-Öffnung von 78 cm und ein Field-of-View von 50 cm in x-y-Richtung und 200 cm in der z-Achse und ist somit für die Untersuchung größerer Fossilien geeignet. Die DECT-Kalibrierung erfolgte in drei Schritten: (i) Messung der HU bei den unterschiedlich verwendeten Röhrenenergien (80 und 135 kVp), (ii) Ermittlung des Quotienten der HU-Werte bei 135 kVp und 80 kVp für das jeweilige Element und (iii) die elementspezifische Anpassung der Parameter des DECT-Algorithmus zur Dreimaterialdifferenzierung. Die detaillierten DECT-Protokolle sind in **Tabelle 1 und 2** dargestellt. Das Prinzip der quantitativen Bildanalyse sowie der Rekonstruktion der DECT-Materialkarten wird in **Abbildung 4** am Beispiel des untersuchten *Nothosaurus* sp. verdeutlicht. Darüber hinaus wird das verwendete DECT-Bildgebungsprotokoll sowie die DECT-Bildanalyse im Folgenden am Beispiel des pathologisch veränderten linken Os dentale von *T. rex* "Tristan Otto" demonstriert und detailliert dargestellt (2.3.3).

Tabelle 1: Dual-Energy CT-Untersuchungsprotokoll für das Übersichtsbild (eigene Darstellung)

	Scan-Modus	kVp	mA	Bereich (mm)	Richtung	Bilddarstellung	Scan-Winkel (°)
Kalibrierungs- materialien	Übersicht (Draufsicht)	120	50	300.0	IN	detailreich	0
	Übersicht (seitlich)	120	50	300.0	OUT	detailreich	90
Kalibrierungs- und Testobjekte	Übersicht (Draufsicht)	120	50	1000.0	IN	detailreich	0
	Übersicht (seitlich)	120	50	1000.0	OUT	detailreich	90

(kVp=Kilovolt peak, mA=Milliampere)

2.3.2 CT der Knochen von *T. rex* "Sue"

Die CT der hier untersuchten Knochen von *T. rex* "Sue" wurde am Richard and Loan Hill Department of Bioengineering an der University of Illinois in Chicago mit einem klinischen 16-Zeilen-CT-Scanner (Bright Speed, GE Medical Systems, Waukesha, WI, USA) durchgeführt (**Abbildung 5**). Basierend auf der gesammelten Expertise der im Vorfeld durchgeführten Studie (17) wurde folgendes Ein-Energie Scan-Protokoll verwendet: Kollimation 16 x 0,625 mm, Röhrenspannung 120 kVp, Röhrenstrom 440 & 305 mA. Für die Rekonstruktion wurde ein Weichteil- und Knochenkern mit einer Schichtdicke von 0,625 mm für die Schwanzwirbel und einer Schichtdicke von 1,25 mm für die linke Fibula verwendet. Die multiplanaren Bildrekonstruktionen wurden mit einer gängigen radiologischen Nachbearbeitungssoftware erstellt.

Tabelle 2: Dual-Energy CT-Untersuchungsprotokoll für die DECT-Volumenscans (eigene Darstellung)

Scan-Modus	Kollimation	Pitch	kVp	mA	Rotationszeit (s)	CFOV	Rekonstruktion	Schichtdicke [mm]	Rekonstruktionsintervall [mm]	Bilddarstellung	FC
Volumen	0,5 x 320	NA	135 & 80	100 & 570	1,0	SS	Volumen1	0,50	0,50	Weichteil	13
							Volumen2	0,50	0,25	Knochen hochauflösend	81
Spirale	0,5 x 80	0,41	80	400	0,75	SS	Volumen1	0,50	0,30	Weichteil	13
							Volumen2	0,50	0,30	Knochen hochauflösend	81
Spirale	0,5 x 80	0,41	135	150	0,75	SS	Volumen1	0,50	0,30	Weichteil	13
							Volumen2	0,50	0,30	Knochen hochauflösend	81
Spirale	0,5 x 80	0,41	80	700	0,75	M	Volumen1	0,50	0,30	Weichteil	13
							Volumen2	0,50	0,30	Knochen hochauflösend	81
Spirale	0,5 x 80	0,41	135	200	0,75	M	Volumen1	0,50	0,30	Weichteil	13
							Volumen2	0,50	0,30	Knochen hochauflösend	81

(kVp=Kilovolt peak, mA=Milliampere, CFOV: kalibriertes Field-of-View, FC: Faltungskern)

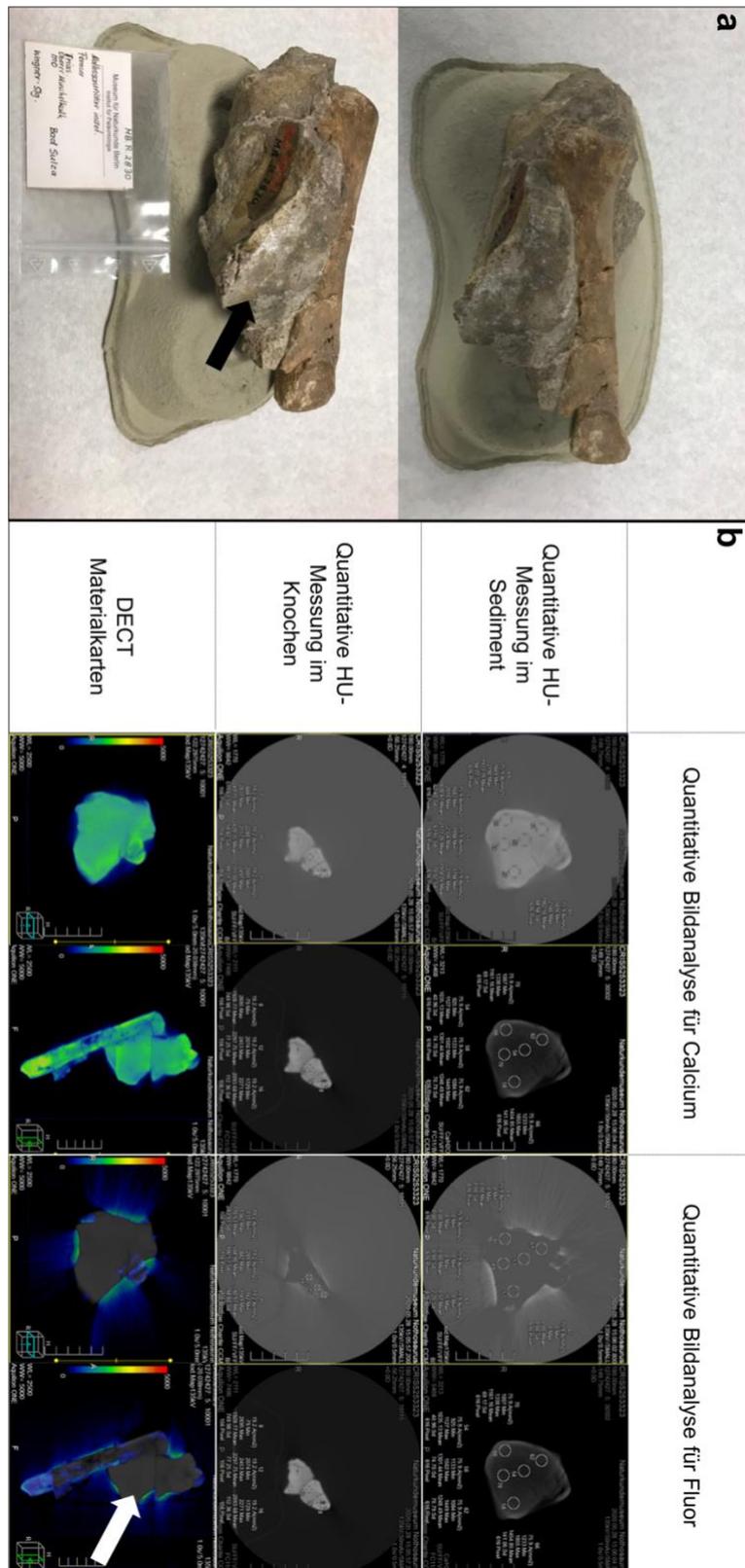


Abbildung 4: Quantitative Analyse der DECT-Bilddaten am Beispiel des Nothosaurus sp.

Auf dem CT-Tisch gelagertes, teils in Sediment (Pfeile) eingebettetes Femur des Nothosaurus sp. (a). Quantitative Bildanalyse für die Elemente Calcium und Fluor mittels manueller Platzierung von Messbereichen (region of interest (ROI)) in den jeweiligen DECT-Rekonstruktionen und konventionellen CT-Daten sowie Erstellung von Materialkarten für die jeweiligen Elemente (b). (eigene Darstellung)

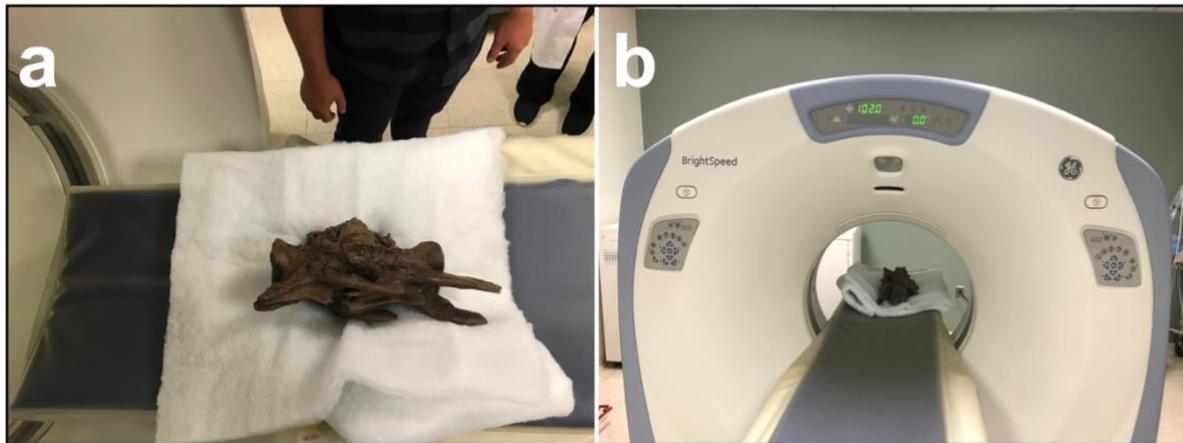


Abbildung 5: CT der fusionierten Wirbelkörper des *T. rex* „Sue“ im klinischen 16-Zeilen CT-Scanner (eigene Darstellung)

2.3.3 DECT-Untersuchung des pathologischen Unterkieferknochens des *T. rex* „Tristan Otto“

2.3.3.1 DECT und Bildrekonstruktion

Die CT des linken Os dentale von *T. rex* "Tristan Otto" wurde mit dem identischen in Hamm et al. 2020 verwendeten klinischen 320-Zeilen-CT-Scanner in der Klinik für Radiologie der Charité durchgeführt. Das linke Os dentale wurde aus den für den Transport verwendeten Sicherheitsboxen entnommen und direkt auf dem CT-Tisch platziert, um eine präzise Positionierung zu ermöglichen. Es wurde das etablierte Dual-Energy-Akquisitionsprotokoll für „große Objekte“ (siehe Tabelle 2) verwendet, bei dem sequenzielle Akquisitionen bei verschiedenen Energien ohne Tischbewegung durchgeführt wurden. Röhrenspannungen und Röhrenströme wurden zwischen den Scans angepasst (200 mA (135 kVp) und 700 mA (80 kVp)). Das hier verwendete CT-Protokoll sieht einen Pitch von 0,41 und eine Kollimation von 80 x 0,5 mm sowie eine Gantry-Rotationszeit von 0,75 s/Rot. vor. Für die Bildrekonstruktion wurde ein Weichteilkern mit einer Schichtdicke von 0,5 mm und einem Rekonstruktionsintervall von 0,3 mm verwendet. Die multiplanaren Bildrekonstruktionen wurden mit einer gängigen radiologischen Nachbearbeitungssoftware erstellt. Die 3D-Oberflächenrekonstruktion wurde unter Verwendung der radiologischen Rekonstruktionssoftware Vitrea Enterprise Suite (Version 6.7.2, Vital Images Inc. Minnetonka, Minnesota) auf einem Hewlett Packard-Desktop-Computer mit folgenden Spezifikationen durchgeführt: 64-Bit-Betriebssystem, 3,5-GHz-Intel-Xeon-CPU, 16 GB RAM, SSD-Festplatte, Windows 7-Systemplattform.

2.3.3.2 Quantitative Bildanalyse

Für die quantitative Bildanalyse wurden die HU-Werte der konventionellen CT-Datensätze und der DECT-Rekonstruktionen bei gleicher Röhrenenergie (135 kVp) gemessen (wie in Abbildung 4), indem zehn Messbereiche (regions of interest; ROIs) in die tumoröse Raumforderung und übrigen unauffälligen Knochenarealen des linken Os dentale sowie sechs ROIs in den neurovaskulären Kanälen des Knochens platziert wurden. Die ROIs wurden im Konsens von zwei Radiologen in repräsentativen Bereichen der Strukturen platziert, welche nur geringe Strahlenaufhärtungs- oder Photon-Starvation-Artefakte aufwiesen. ROIs, die frei von offensichtlichen Artefakten waren, wurden in die Analyse einbezogen und die entsprechenden HU-Werte wurden für die weitere statistische Analyse erfasst. Letztendlich wurden die einzelnen Mineraliengehalte mit Hilfe der DECT-Algorithmen quantifiziert und in Form einer Farbkarte dargestellt.

2.4 Angewandte etablierte paläontologische Methoden

2.4.1 Analysen mittels phylogenetischer Systematik

Die PGS hat zum Ziel, die evolutionären Abläufe der Erdgeschichte und die Organismen im Kontext ihrer phylogenetischen Verwandtschaft zu sortieren und systematisch darzustellen (10). Verschiedene phylogenetische Indizien werden in Form eines Kladogramms systematisch geordnet und zur Definition einer Klade (Organismen mit einem letzten gemeinsamen Vorfahren) verwendet.

Die Kriterien, die zur Erstellung eines Kladogramms verwendet werden, können grob in morphologische (z.B. Anatomie) oder molekulare (z.B. DNA) Merkmale eingeteilt werden (10). Im Regelfall wird in der PGS ein Kladogramm verwendet, welches auf morphologischen Merkmalen und feinen anatomischen Details basiert, deren Beurteilung eine detaillierte Untersuchung und Dokumentation sämtlicher knöcherner Strukturen erfordert (37). Dieses etablierte Schema unterteilt die Dinosaurier in zwei grundlegende Gruppen: die 'echsenartigen' Saurier (einschließlich der fleischfressenden Theropoden und der langhalsigen Sauropodomorphen) und die 'vogelartigen' Ornithischier (einschließlich einer Vielzahl pflanzenfressender Arten) (37, 38). Neben der erwähnten Beckenanatomie werden jedoch auch mehrere weitere anatomische Ausprägungen spezifischer Gruppen und damit verbundene Schlüsselfragen bzgl. der grundlegenden Verwandtschaft der frühen Dinosaurier und

der Phylogenie der Nicht-Vogel-Dinosaurier (NVD) weiterhin kontrovers diskutiert (39). In diesem Zusammenhang wurde für die systematische Aufarbeitung bekannter Krankheiten und Erhebung der Wahrscheinlichkeiten bestimmter Erkrankungen in dieser Studie ein "konservativerer" phylogenetischer Ansatz für NVD verwendet, der auf die "traditionellen" NVD-Hauptkladen Ornithischia und Saurischia zurückgreift (37). Bei der Entwicklung des Kladogramms, in Anlehnung an die Topologie von Benson et al. (11), wurden ausschließlich Gruppen berücksichtigt, bei denen neoplastische und infektiöse Krankheiten bekannt sind.

Die dabei berücksichtigten Gruppen begrenzten sich auf die EPK für NVD (speziell *T. rex*), welche Vögel und Nicht-Vogel-Reptilien (NVR) einschließt. Die veterinärmedizinische Literatur über Krankheiten bei rezenten Vögeln und NVR wurde nach pathologischen Berichten durchsucht und das Vorhandensein der jeweiligen Krankheiten wurde in die Analyse einbezogen. Um die Häufigkeiten der jeweiligen Krankheiten zu berechnen und eine mögliche Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden, wurden nur Studien berücksichtigt, in denen die Häufigkeiten von infektiösen und neoplastischen Erkrankungen innerhalb derselben Kohorte untersucht wurde. Um umfangreichere Informationen hinsichtlich der Häufigkeit von Neoplasien bei diesen Tierarten zu erhalten, wurde zudem eine Analyse gepoolter Daten über die Anzahl der Neoplasien in den jeweiligen Tierkohorten durchgeführt und die Häufigkeit von Neoplasien bei Vögeln und NVR insgesamt berechnet. Um alle möglichen Differentialdiagnosen zu berücksichtigen, wurde angesichts des enormen Wissens über Krankheiten beim Menschen im Vergleich zu Tierkrankheiten auch die Literatur der Humanmedizin mit einbezogen. Fachartikel über Krankheiten bei NVD wurden nach Pathologieberichten und Beschreibungen von knöchernen Läsionen durchsucht.

Die Literaturrecherche konzentrierte sich auf neoplastische und infektiöse Läsionen bei den oben genannten Tierarten; sie wurde in den folgenden Datenbanken durchgeführt: Google Scholar, PubMed, Web of Science und Scopus. Die Datenbanken wurden nach folgenden Stichwörtern (mesh terms) in entsprechenden Konstellationen durchsucht: ((Bird* OR Avian OR Reptile*) AND (neoplasm* OR tumor* OR infect* OR inflammat*)); ((dinosaur* OR saurischian OR tyrannosaurus) AND (neoplasm* OR tumor* OR infect* OR inflammat*)). Zusätzlich wurde die Literaturrecherche für die beschriebene Pathologie des Os dentale des *T. rex* „Tristan Otto“ um folgende mesh terms erweitert: ((mandibular OR mandible OR jaw) AND (neoplasm* OR* tumor* OR infect* OR inflammat*)). Darüber hinaus wurden auch

gängige Lehrbücher gesichtet, die in der örtlichen veterinärmedizinischen Bibliothek der Freien Universität Berlin und der medizinischen Zentralbibliothek der Charité verfügbar waren. Bis März 2019 veröffentlichte Fachartikel wurden berücksichtigt.

2.4.2 Multimodale Knochenanalyse

Die Charakterisierung der elementaren Zusammensetzung der untersuchten Kalibrierungsobjekte (Femur des *Bos taurus* und Hämälbogen von *T. rex*) erfolgte mit Hilfe verschiedener invasiver Materialcharakterisierungstechniken, die im Bereich der Mineralogie, Geologie und Paläontologie allgemein etabliert sind. Für die invasive Knochenanalyse wurden die *Bos Taurus*-Probe und ein kleines Fragment des *T. rex*-Knochens, welches nach der DECT-Untersuchung abgetrennt wurde, im Museum für Naturkunde Berlin zerkleinert und gemahlen. Das daraus entstandene feine Knochenpulver wurde zunächst hinsichtlich der kristallinen Phasenzusammensetzung untersucht, um dann mit Hilfe von Spektroskopiemethoden selektiv die Mineralzusammensetzung zu analysieren (**Abbildung 6**). Die kristalline Phasenzusammensetzung wurde mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie (XRD) an einem Panalytical Empyrean Diffraktometer an der Freien Universität Berlin untersucht. Im Folgenden wurde die Rasterelektronenmikroskopie (REM) in Verbindung mit der Energiedispersions-Röntgenspektrometrie (EDX) für die orientierende Analyse der Materialzusammensetzung und die weitere Planung der Detailspektroskopie auf einem JEOL JSM 6510 REM-Gerät an der Universität Potsdam durchgeführt. Abschließend erfolgte die Bestimmung von Haupt-, Neben- und Spurenelementen in der *T. rex*- und *Bos taurus*-Probe mit Hilfe eines optischen Emissionsspektrometers (ICP-OES) und einer Elementaranalyse (EA), die ebenfalls an der Universität Potsdam durchgeführt wurde. Da eine detaillierte Beschreibung der angewandten multimodalen Knochenanalyse den Umfang dieser Arbeit übersteigen würde, darf ich freundlicherweise auf den Methodenteil der Originalarbeit Hamm et al. 2022 verweisen (26).



Abbildung 6: Invasive Knochenanalyse mittels Röntgendiffraktometrie und Spektroskopie

*Träger des Röntgendiffraktometers (a) und Rasterelektronenmikroskops (b) mit kleinsten Mengen des Knochenpulvers vom *T. rex* (braun) und *Bos taurus* (weiß). Photographien des Versuchsaufbaus der Röntgendiffraktometrie an der Freien Universität Berlin (c) sowie der Rasterelektronenmikroskopie in Verbindung mit der Energiedispersions-Röntgenspektroskopie an der Universität Potsdam (d). (eigene Darstellung)*

2.5 Statistik

Die deskriptiven Ergebnisse der quantitativen DECT-Bildanalyse werden als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD), Median und Range angegeben. Komparative Analysen der detektierten Mineralienmengen im Knochen im Vergleich zum Sediment, in den untersuchten Knochenstrukturen bzw. zwischen den untersuchten Proben wurden mittels parametrischer einseitiger ANOVA mit Bonferroni und Tukey-Post-Hoc-Tests durchgeführt. p-Werte $<0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen. Die statistischen Analysen wurden mit SPSS (v24.0, IBM Corp., Armonk, USA) und Prism (v9.0, Graphpad, San Diego, USA) durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Zerstörungsfreie dichte- und elementbasierte Charakterisierung fossiler Knochen mittels quantitativer DECT

3.1.1 Fluorapatit als Biosignatur für fossile Knochen in der invasiven Knochenanalyse

Die XRD-Analyse der *T. rex*-Probe zeigte eine kristalline Phase mit niedrigem und homogenem Hintergrundsignal, das Fluorapatit (JCPDF 98-008-4227) zugeordnet werden konnte. Im Vergleich zeigte die *Bos taurus*-Probe einen weniger deutlich entwickelten Beugungsreflex und ein hohes Hintergrundsignal, die typisch für calciumarmes Hydroxylapatit (JCPDF 98-009-3783) sind. Auch die REM in Verbindung mit der EDX bestätigte das Vorhandensein von Fluorapatit im Hämälbogen des *T. rex*, da der Fluorgehalt der *T. rex*-Probe durchschnittlich bei 4,16 Gewichtsprozent (wt.%) und der Fluorgehalt des Femurs des *Bos taurus* unterhalb der Nachweisgrenze lag. In der quantitativen chemischen Analyse bestätigte sich eine Apatitphase von 96,40 wt.% mit einem Gesamtfluorgehalt von 4,16 wt.% und einem Eisengehalt von 0,57 wt.% in der *T. rex*-Probe und eine Apatitphase von 75,57 wt.% im *Bos taurus*, jedoch kaum nachweisbaren Fluor- und Eisenanteilen (<0,05 wt.% und 0,01 wt.%).

Zusammenfassend betrachtet identifizierte die multimodale Knochenanalyse Fluorapatit als potenzielle Biosignatur für permineralisiertes Knochengewebe, während Hydroxylapatit ein potenzieller Indikator für eher "frisches" Knochengewebe ist. Diese Ergebnisse bildeten die Grundlage für die Entwicklung eines DECT-Algorithmus zur Quantifizierung von Calcium und Fluor mittels Dreimaterialdifferenzierung.

3.1.2 Nachweis von Calcium und Fluor mittels DECT

Die Ergebnisse der multimodalen Knochenanalyse ergaben, dass Fluor, Kohlenstoff, Schwefel, Eisen und Natrium die häufigsten Elemente in der Apatitphase (Calcium) im *T. rex* sind. Um eine möglichst anwendungsspezifische DECT-Kalibrierung zu erreichen, wurde daher ein reiner Calcitkristall (Island-Doppelspat, CaCO_3) für Calcium, ein natürlich vorkommender Fluoritkristall (Fundort Cumberland, England, reines CaF_2) für Fluor, ein reiner Graphitzylinder (Typ SE 232, Spectral Systems Peter R. Perzl, Augsburgener Straße 37, D-82256 Fürstenfeldbruck) für Kohlenstoff, ein reiner synthetischer Schwefelkristall für Schwefel, ein reiner Eisenstab ($\text{Fe} \geq 99,99\%$),

Hersteller Futt) für Eisen und Natriumchloridpulver (99,90 % ± 0,09 %, durch BAM zert. Ursubstanz) für Natrium als Kalibrierungsmaterialien gewählt. Der Calcitkristall wies in der DECT einen HU-Wert von 4248 bei 80 kVp und 3000 bei 135 kVp auf, was einen Gradienten von 0,707 ergab. Der Fluoritkristall wies einen HU-Wert von 5432 bei 80 kVp und 3753 bei 135 kVp auf, was einen Gradienten von 0,691 ergab. Eisen wies bei 80 kVp einen HU-Wert von 24422 und bei 135 kVp einen Wert von 18311 auf, was einen Gradienten von 0,75 ergab. Daraus ließ sich schlussfolgern, dass Eisen wesentlich höhere HU-Werte erreichte und einen deutlich anderen Gradienten aufwies als Calcium und Fluor. Die bestimmten HU-Werte und Gradienten der übrigen Kalibrierungselemente sind in Tabelle 1 in Hamm et al. 2022 aufgeführt (26).

Für die Quantifizierung von Calcium und Fluor mittels DECT wurden Algorithmen mit folgenden Spezifikationen angewandt: ein bereits in der CT-Nachbearbeitungssoftware implementierter calciumspezifischer Algorithmus mit einem Gradienten von 0,69 und ein neu konfigurierter, fluorspezifischer Algorithmus mit den Kalibrierungsmaterialien Calcium (4248 HU und 3000 HU bei 80 kVp bzw. 135 kVp) und Eisen (10000 HU und 7365 HU bei 80 kVp bzw. 135 kVp) sowie einem Gradienten von 0,69.

3.1.3 Nichtinvasiver Nachweis von Fluor im fossilen Knochen

Die quantitative Analyse der konventionellen CT-Datensätze zeigte HU-Werte von 3040 ± 542 (Median 3217 HU; 1940-3540 HU) beim *T. rex* und 1658 ± 90 HU (Median 1685 HU; 1513-1756 HU) beim *Bos taurus*. Bei der Anwendung des DECT-Algorithmus zur Erkennung von Calcium zeigten die erstellten Materialkarten eine homogene Verteilung dieses Elements im gesamten Knochen beider Exemplare. Im *T. rex* war die Calciumkonzentration jedoch signifikant höher (3335 ± 404 HU (Median 3492 HU; 2476-3739 HU) vs. 1445 ± 93 HU (Median 1500 HU; 1309-1538 HU); $p < 0,001$). Im Vergleich dazu zeigte die Materialkarte bei Anwendung des entwickelten fluorspezifischen DECT-Algorithmus einen nur mäßigen und heterogenen Fluorgehalt innerhalb des *T. rex*, 1809 ± 296 HU (Median 1794 HU; 1422-2375 HU), wohingegen, abgesehen von Partialvolumen- und Strahlenaufhärungsartefakten bedingten Signalen auf der Knochenoberfläche, der *Bos taurus* keinerlei Fluorgehalt aufwies (1 ± 4 HU, Median 0 HU; 0-14 HU). So zeigt die quantitative DECT-Bildanalyse eine vergleichbare Verteilung von Calcium und Fluor, wie sie zuvor in der multimodalen

Knochenanalyse gefunden wurde, mit einer signifikant höheren Menge an Fluor in *T. rex* als in *Bos taurus* ($p < 0,001$).

3.1.4 Identifikation von in Sediment eingebetteten fossilen Knochen mittels nichtinvasiver Fluorquantifizierung

Die konventionellen CT-Datensätze der vier Testobjekte zeigten gut erhaltene Knochenstrukturen mit Aufhärungsartefakten, welche primär auf die Oberfläche begrenzt waren. Die Calciumkarten zeigten eine mäßige bis hohe Konzentration in den Knochenstrukturen und eine geringe bis mäßige Calciumkonzentration im Sediment der vier Testobjekte (**Tabelle 3**). Es ließ sich bei allen in Sediment eingebetteten Objekten ein signifikanter Unterschied in der Calciumkonzentration zwischen Knochen und Sediment nachgewiesen (Abbildung 3 und 4 in Hamm et al. 2022 (26)). Unter Verwendung des fluorspezifischen DECT-Algorithmus zeigten die Knochen ein breites Spektrum an Fluorkonzentrationen, von extrem hohen Werten beim *Dysalotosaurus* bis hin zu kaum nachweisbaren Konzentrationen beim *Ichthyosaurus* (**Tabelle 4**). Darüber hinaus ließ sich im Sediment nahezu kein Fluor nachweisen. Die Unterschiede in der Fluorkonzentration zwischen Knochen und Sediment waren bei allen Objekten, mit Ausnahme des *Ichthyosaurier*-Objektes, ebenfalls signifikant wie in Abbildung 4 in Hamm et al. 2022 dargestellt (26).

Auffällig war, dass die fossilen Knochen von Landtieren (*Bos taurus*, *Alcelaphinae*, *T. rex* und *Dysalotosaurus*) einen mit dem geologischen Alter zunehmenden Fluorgehalt zeigten. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den älteren (*Dysalotosaurus* und *T. rex*) und den jüngeren Exemplaren (*Alcelaphinae* und *Bos taurus*; $p < 0,001$; **Abbildung 7**). Obwohl der Unterschied zwischen den Exemplaren von *T. rex* und *Alcelaphinae* statistisch nicht signifikant war ($p = 0,17$), konnte auch im *Alcelaphinae*-Objekt eine erhebliche Abnahme des Fluors festgestellt werden. Zusätzlich konnte auch ein signifikanter Unterschied im Calciumgehalt der *T. rex*-, der *Alcelaphinae*- und *Bos taurus*-Exemplare im zeitlichen Verlauf festgestellt werden ($p < 0,001$).

Ein weiterer Unterschied ließ sich im Fluorgehalt der Knochen von Land- und Meerestieren beobachten (Abbildung 7). Die Fluorgehalte in den marinen Reptilien (*Nothosaurus* und *Ichthyosauria* indet.) waren niedrig (778 ± 173 HU (Median 782 HU; 540-1166 HU) im Knochen des *Nothosaurus* sp. und 106 ± 79 HU (Median 91 HU; 0-267 HU) im Knochen des *Ichthyosauria* indet).

Tabelle 3: Quantifizierung von Calcium mittels DECT (eigene Darstellung)

	Untersuchtes Objekt	Mittelwert	SD	Median	Range
Kalibrierungs-objekte	Knochen <i>Tyrannosaurus rex</i>	3335	403,6	3492	1263
	Knochen <i>Bos taurus</i>	1445	92,8	1500	229
Testobjekte	Knochen <i>Nothosaurus</i>	2371	308,2	2413	1093
	Sediment <i>Nothosaurus</i>	1890	154,9	1920	499
	Knochen <i>Ichthyosaurus</i>	2342	266	2326	936
	Sediment <i>Ichthyosaurus</i>	1414	557,9	1509	1409
	Knochen <i>Dysalotosaurus</i>	2896	239,7	2862	810
	Sediment <i>Dysalotosaurus</i>	1537	475,5	1541	1443
	Knochen <i>Artiodaktyla</i>	2246	577	2452	1555
	Sediment <i>Artiodaktyla</i>	514	212,1	404,8	494

(Angaben in Hounsfield-Einheiten)

Tabelle 4: Quantifizierung von Fluor mittels DECT (eigene Darstellung)

	Untersuchtes Objekt	Mittelwert	SD	Median	Range
Kalibrierungs-objekte	Knochen <i>Tyrannosaurus rex</i>	1809	296,2	1794	953
	Knochen <i>Bos taurus</i>	1,4	4,4	0	13,8
Testobjekte	Knochen <i>Nothosaurus</i>	778	173,6	781,8	626
	Sediment <i>Nothosaurus</i>	2,7	8,3	0	26,4
	Knochen <i>Ichthyosaurus</i>	106	79,2	91	267
	Sediment <i>Ichthyosaurus</i>	0	0	0	0
	Knochen <i>Dysalotosaurus</i>	3619	1003	3502	3327
	Sediment <i>Dysalotosaurus</i>	121	332,7	0	1059
	Knochen <i>Artiodaktyla</i>	1194	897,3	1104	2636
	Sediment <i>Artiodaktyla</i>	0	0	0	0

(Angaben in Hounsfield-Einheiten)

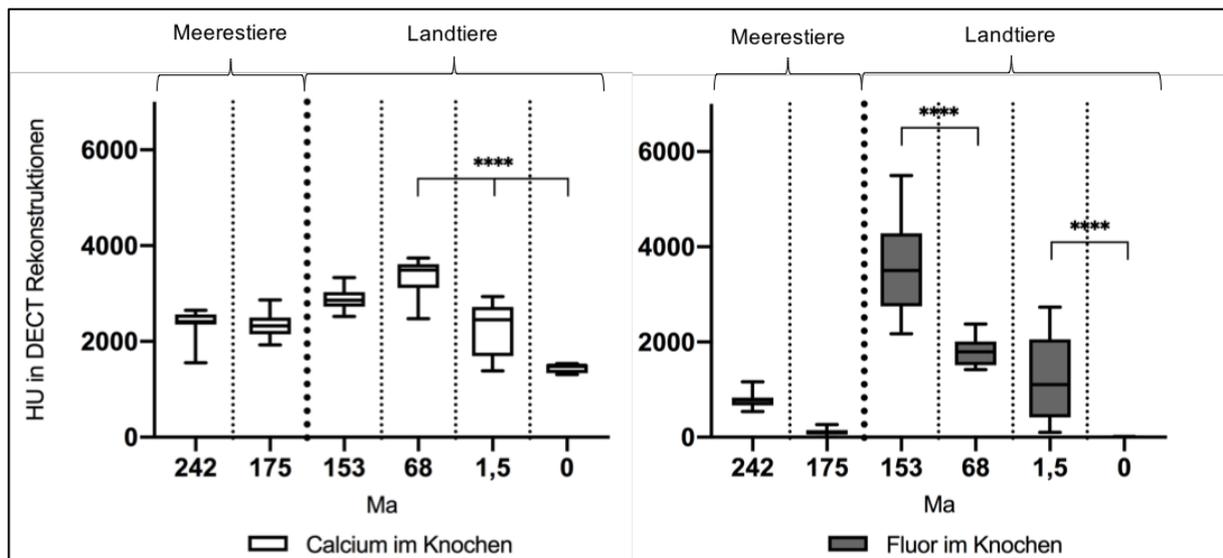


Abbildung 7: Korrelation geologisches Alter mit Calcium- und Fluorgehalt der Knochen

In der Horizontalen sind die Objekte in Meeres- und Landtiere unterteilt und in der Reihenfolge ihres geologischen Alters aufgeführt. Signifikante Unterschiede zwischen dem Calcium- bzw. Fluorgehalt im Knochen und dem geologischen Alter in den Tiergruppen sind durch Sternchen gekennzeichnet (****, $p < 0,001$). (modifiziert nach Hamm et al. 2022 (26))

3.2 Diagnose einer Osteomyelitis im *T. rex* „Sue“ mittels CT und phylogenetischer Systematik

Die hier untersuchten Knochenpathologien der fusionierten Wirbelkörper und linken Fibula des *T. rex* "Sue" zeigten beide ähnliche Veränderungen der Knochenstruktur bei multiplanarer radiologischer Beurteilung mittels CT (Abbildung 1 & 2). Die beobachteten Veränderungen des trabekulären und kortikalen Knochens, das Vorhandensein zentraler Auflockerungen der Knochenstruktur mit häufig dichten Sedimenteinschlüssen und die Fusion zweier Wirbelkörper sind typische Anzeichen für Knocheninfektionen (40-42). Darüber hinaus weist die umfangreiche Knochenneubildung und der Knochenumbau am ehesten auf eine Reaktion des Knochens im Rahmen einer chronischen Entzündung hin (43). In Anbetracht des Fehlens sowohl lytischer Läsionen, die auf bösartige Knochentumore hinweisen würden, als auch typischer Anzeichen anderer häufiger Knochenerkrankungen unterstützte die pathomorphologische Charakterisierung am ehesten die Diagnose einer chronischen Osteomyelitis.

Die Analyse von pathologischen Berichten in der EPK zeigte, dass die meisten beim Menschen bekannten Krankheiten auch bei Vögeln und Reptilien bekannt sind, auch wenn der Umfang an Literatur zu Krankheiten bei diesen Tieren im Vergleich zur Humanmedizin begrenzt ist. Zudem haben häufig auftretende Krankheiten mehrere

Artengrenzen überschritten, was sich in der Vielzahl von beschriebenen Krankheiten bei allen großen Dinosauriergruppen widerspiegelt (44, 45). Bis zu 86 % der osteologischen Erkrankungen bei Vögeln scheinen traumatisch bedingt zu sein (46) und bis zu 90 % der orthopädischen Fälle in der NVR-Veterinärmedizin stehen im Zusammenhang mit Traumata oder metabolischen Erkrankungen (47, 48). Eine traumatische oder metabolische Ätiologie konnte jedoch aufgrund der beobachteten Knochenveränderungen bei den hier untersuchten Pathologien ausgeschlossen werden. Während die augenscheinlichen und CT-morphologischen Merkmale eher auf eine Knocheninfektion hindeuteten, konnte letztlich eine neoplastische Ätiologie anhand morphologischer Kriterien nicht mit ausreichender Sicherheit ausgeschlossen werden. Die im Anschluss durchgeführte Literaturanalyse ergab, dass Infektionen in der EPK deutlich häufiger sind (32,0 %, 836/2.610 bei Vögeln & 53,9 %, 1374/2.549 bei NVR) als Neoplasien (3,1 %, 81/2.610 bei Vögeln & 1,8 %, 47/2.549 bei NVR; **Abbildung 8**). Darüber hinaus zeigte die Analyse gepoolter Studiendaten, eine Neoplasie-Häufigkeit von 2,3 % bei Vögeln (in 3.298/144.277 Tieren) und 6,2 % bei NVR (in 824/13.299 Tieren).

Zudem sind Neoplasien bei Wirbeltierfossilien generell selten (44, 49). Dennoch gibt es Berichte zu Osteomen, Hämangiomen, Ameloblastomen und metastasierten Malignomen in der Paläopathologie (44, 49-51). Bis vor kurzem beschränkten sich die diagnostizierten Neoplasien auf die Hadrosaurier. Die ersten Neoplasien (Osteom und Hämangiom), die außerhalb der Hadrosaurier beobachtet wurden, sind erst kürzlich bei einem brasilianischen Titanosauriden aus der späten Kreidezeit dokumentiert worden (44). Damit übereinstimmend konnten die meisten Neoplasien in der hier durchgeführten Literaturrecherche Hadrosauriern zugeordnet werden; einige andere NVD-Gruppen wiesen jedoch auch Fälle von Neoplasien auf (Abbildung 8). Bei Tyrannosauriern konnte jedoch keine Diagnose einer Neoplasie festgestellt werden.

Demgegenüber sind infizierte Frakturen bei Wirbeltierfossilien häufig und vor allem bei den großen Theropoden finden sich oft Frakturen, Bisswunden und Infektionen (50, 52). Auch von nicht-traumatischen Infektionen wurde für NVD berichtet (53), wobei jedoch die meisten Knocheninfektionen als Komplikationen eines vorangegangenen Traumas angesehen werden müssen (43).

In Zusammenschau der pathomorphologischen Charakteristiken der hier untersuchten Knochen und der erhobenen Daten zur Wahrscheinlichkeit des Auftretens infektiöser und neoplastischer Krankheiten in der EPK handelt es sich bei

den hier beschriebenen Pathologien des *T. rex* „Sue“ um Foci einer chronischen Osteomyelitis.

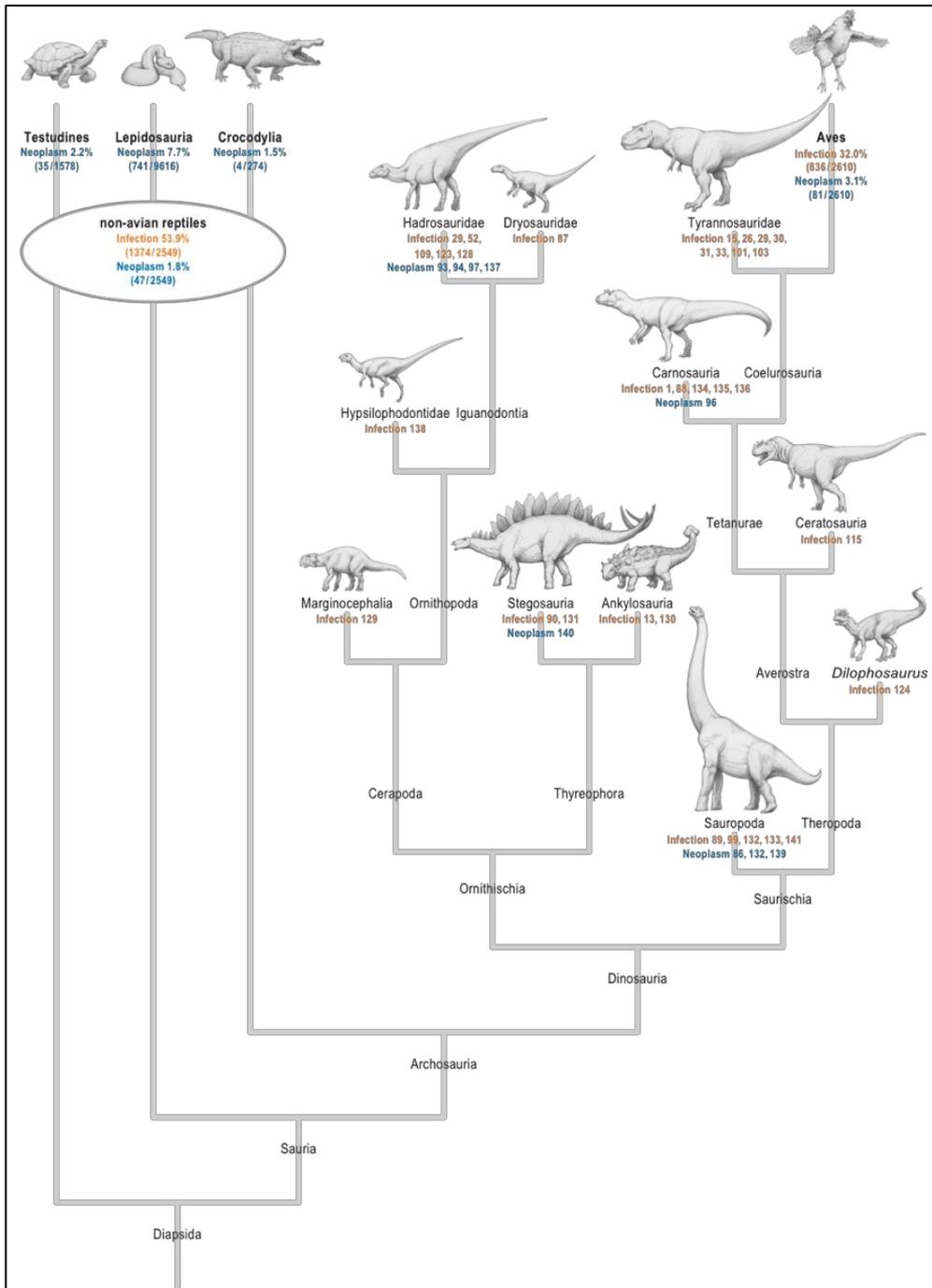


Abbildung 8: Neoplastische und infektiöse Krankheiten im Kladogramm der Dinosaurier

Vorkommen von infektiösen (orange) und neoplastischen Krankheiten (blau) im vereinfachten Stammbaum der Nicht-Vogel-Dinosaurier (NVD; die Zahlen geben die jeweiligen Referenzen in der Originalarbeit Hamm et al. 2020 an (14)). Für Vögel und Nicht-Vogel-Reptilien sind die Prävalenzen der jeweiligen Krankheiten als Prozentsätze angegeben und wurden aus den Tabellen 1 und 2 in (14) abgeleitet. Die spezifischen neoplastischen Erkrankungsdaten für die Nicht-Vogel-Reptilientaxa Testudinen, Lepidosaurier und Krokodile wurden separat analysiert und lassen sich aus der Ergänzungstabelle 2 in (14) entnehmen. (modifiziert nach Hamm et al. 2020 (14))

3.3 Diagnose einer Osteomyelitis im *T. rex* "Tristan Otto" mittels CT- und DECT-basierter Knochencharakterisierung sowie phylogenetischer Systematik

3.3.1 Pathomorphologische Charakterisierung

Im Vergleich zum normalen rechten Os dentale weist die erkrankte linke Seite eine diffuse Verbreiterung des gesamten zahntragenden Segmentes auf (**Abbildung 9**) und einen fokalen exophytischen Tumor auf der rostralen Oberfläche (**Abbildung 10**). Aufgrund der diffusen Volumenzunahme verwandelt sich der typische D-förmige Querschnitt des Os dentale mit einer konvexen lateralseitigen Oberfläche in einen bilateralen konvexen Querschnitt (18). Diese Veränderung zeigt sich auch im Seitenvergleich des mediolateralen Durchmessers, gemessen auf Höhe der 3. (81 mm links und 45 mm rechts) und 5. Zahnwurzel (73 mm links und 50 mm rechts). Die allgemeine Verbreiterung erstreckt sich von der rostralen Spitze des Os dentale bis in den nicht zahntragenden Bereich mit einer Gesamtlänge von ca. 43 cm. Das linke Os dentale weist außerdem einen konkaven Alveolarkamm auf, der sich vom 6. bis zum letzten Zahn erstreckt und zu einer eher schlanken Kontur des Os dentale führt. Die Zähne erscheinen länger und weisen eine einheitlichere Länge auf als die der kontralateralen Seite.

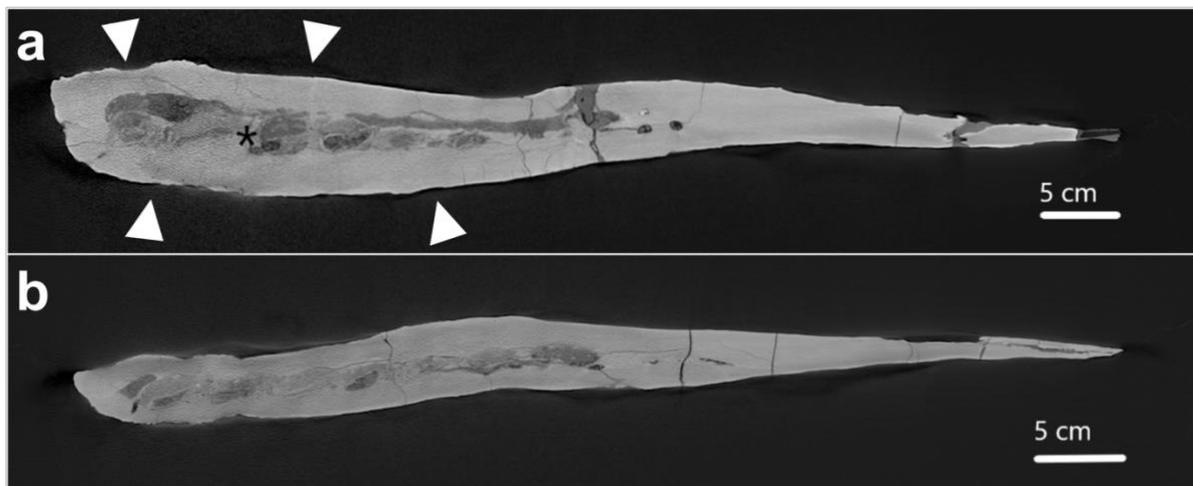


Abbildung 9: CT-Rekonstruktionen der Dentaria in axialer Ebene

Die Pfeilspitzen zeigen die Knochenzunahme an, die zu einer diffusen Verbreiterung des linken Os dentale führt (a). Die zentral gelegenen Zahnwurzeln () lassen sich gut vom umgebenden Knochen abgrenzen. Die CT-Rekonstruktion des rechten Os dentale zeigt vergleichsweise eine gleichmäßigere Knochendicke (b). (eigene Darstellung)*

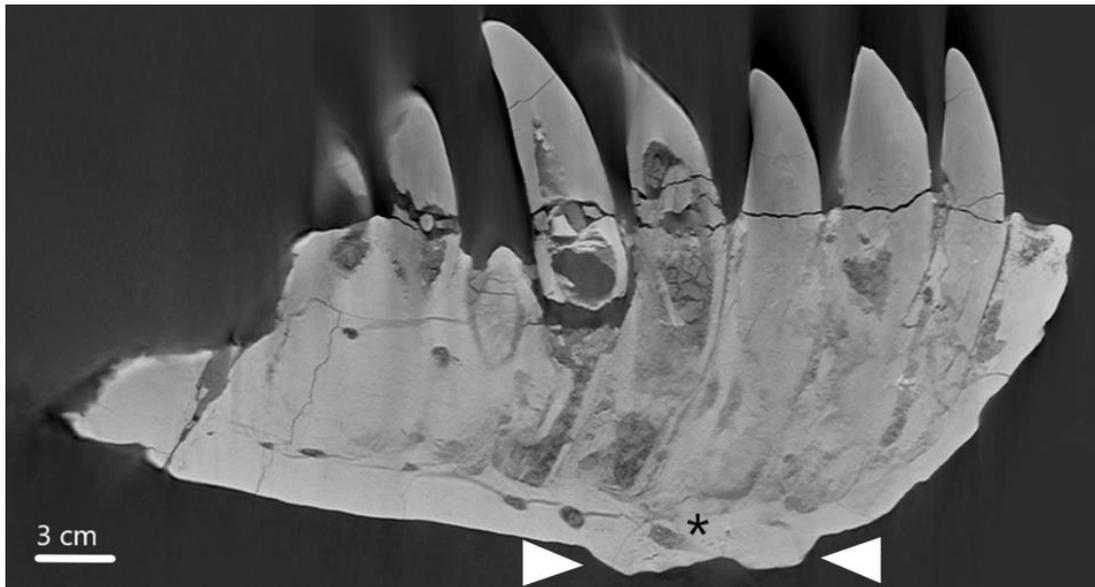


Abbildung 10: CT-Rekonstruktion des zahntragenden Teils des linken Os dentale in sagittaler Ebene

Die Pfeilspitzen zeigen den fokalen exophytischen Tumor auf der rostralen Oberfläche in Höhe der 3. bis 5. Zahnwurzel. Innerhalb der Raumforderung lassen sich neurovaskuläre Kanäle () abgrenzen, welche keine Unterbrechungen oder Auffälligkeiten aufweisen. (eigene Darstellung)*

Die Knochenverdickung ist auf der lingualen Seite des Os dentale stärker ausgeprägt als auf der lateralen Seite und der fokale Tumor auf der rostralen Oberfläche zeigt eine zentrale Vertiefung sowie eine raue und unregelmäßige Oberfläche. In der CT erstreckt sich die fokale Raumforderung von der 3. bis zur 5. Zahnwurzel mit einer anteroposterioren Länge von 113 mm, einer Vorwölbung von 14 mm, einer mediolateralen Breite von 47 mm und einer zentralen Oberflächenvertiefung von 8 mm. Die innere Struktur der Raumforderung ist durch punktförmige kleine Knochenauflockerungen charakterisiert, die sich von der Oberfläche bis zur Zahnwurzel des 5. Ersatzzahns erstrecken (Tiefenausdehnung von ca. 40 mm). Dabei sind die Aufhellungen im koronaren CT-Querschnitt spitz zulaufend, was an eine Fistelbildung erinnern lässt (**Abbildung 11**). Anatomische Strukturen innerhalb der Raumforderungen scheinen intakt, da mehrere neurovaskuläre Kanäle durch die Struktur verlaufen, von denen drei in Foramina an der Oberfläche des Tumors austreten (Abbildung 10). Der Knochen erscheint im CT homogen und weist keine fokalen oder diffusen lytischen Strukturunterbrechungen auf (abgesehen von den beschriebenen kleinen punktförmigen Knochenauflockerungen). Anatomische Strukturen, wie Zähne und neurovaskuläre Kanäle sind im gesamten Os dentale gut erhalten.

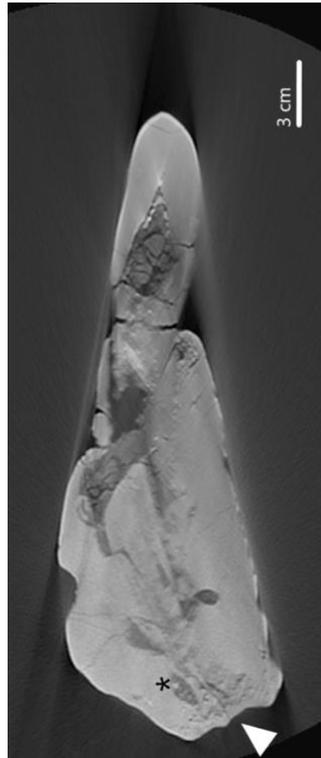


Abbildung 11: CT-Rekonstruktion des linken Os dentale in koronarer Ebene auf der Höhe des fokalen exophytischen Tumors

Es lassen sich punktförmige Knochenauflockerungen (Pfeilspitzen) im Zentrum des fokalen exophytischen Tumors abgrenzen, während neurovaskuläre Kanäle () innerhalb der Raumforderung erhalten sind. (eigene Darstellung)*

3.3.2 Differentialdiagnostische Analyse anhand der Morphologie

In der human- und veterinärmedizinischen Literatur sind viele verschiedene Arten von pathologischen Läsionen des Kiefers bekannt (**Tabelle 5**; angesichts der großen Anzahl der in der Humanmedizin beschriebenen knöchernen Pathologien wurden hier nur solche erfasst, welche sich durch tumoröse Morphologie auszeichnen und gängige Differenzialdiagnosen von echten knöchernen Neoplasien im Unterkiefer sind). Im Allgemeinen können Pathologien des Kiefers zystische, infektiöse/entzündliche, neoplastische oder metabolische Merkmale aufweisen (54, 55). Auf der Grundlage der oben beschriebenen morphologischen Merkmale erscheint das Vorliegen eines malignen, zystischen oder metabolischen Prozesses als Ursache der Erkrankung unwahrscheinlich. Prominente knöchernen Strukturen wie die neurovaskulären Kanäle sind innerhalb der Raumforderung und des übrigen verdickten Teils des Os dentale respektiert und intakt. Bösartige bzw. metastatische Läsionen wachsen typischerweise infiltrativ und zerstören die Architektur des Knochens. Außerdem weisen zystische und bösartige Läsionen meist große lytische Bereiche mit zerstörtem Knochen auf. In der

humanmedizinischen Literatur wird eine Vielzahl verschiedener zystischer Läsionen des Kiefers beschrieben (Tabelle 5) (42, 56), die durch eine runde oder tropfenförmige, gut abgegrenzte, dichterereduzierte Struktur in der Nähe von Zahnwurzeln oder im Knochen gekennzeichnet sind (54, 55). Das hier untersuchte Exemplar weist keines dieser Merkmale auf. Typische zystische Pathologien können daher auch als mögliche Differentialdiagnose ausgeschlossen werden. Eine gutartige neoplastische oder infektiöse Entität ist als Differentialdiagnose wesentlich wahrscheinlicher. Beide können sich als fokaler Tumor mit einem nicht-invasiven Wachstumsmuster präsentieren und sind in der Literatur für Menschen, Dinosaurier und Tiere beschrieben worden (siehe Hamm et al. 2020 (14)). Doch ähnlich zu der Fibula und den fusionierten Wirbelkörpern von *T. rex* "Sue", spricht das Fehlen einer scharfen Kontur der Läsion und die diffuse Knochenneubildung gegen eine benigne Neoplasie.

Im Gegensatz dazu können knöcherne Infektionen diffuse strukturelle Knochenveränderungen bewirken, einschließlich einer (sub)periostalen Knochenreaktion und einer Auflockerung der Knochenarchitektur. Infektionen, die das Periost des Knochens betreffen, führen häufig zu einer Knochenneubildung und einer möglichen Fistelbildung (40, 42). Die hier beobachtete fokale Raumforderung und Volumenzunahme des gesamten betroffenen Os dentale könnte sich auf eine Infektion zurückführen lassen, bei der sich fibrinhaltiges Exsudat mit Debris und Immunzellen ansammelt, was bei Reptilien und Vögeln als „Fibrissess“ bezeichnet wird (57). In Zusammenschau der hier diskutierten morphologischen und radiologischen Merkmale ist eine tumoröse chronische Osteomyelitis des linken Os dentale daher die wahrscheinlichste Diagnose.

Tabelle 5: Infektiöse, entzündliche und gutartige neoplastische Erkrankungen in der engen phylogenetischen Klammer der Nicht-Vogel-Dinosaurier und beim Menschen (eigene Darstellung)

Pathologie	Vögel	NVR	Dinosaurier	Menschen
<u>Benigne odontogene Läsionen</u>				
adenomatoider odontogener Tumor				(54, 56)
ameloblastisches Fibrodentinom				(56)
ameloblastisches Fibrom				(54, 56)
Ameloblastom		(58)	(49)	(54-56, 59)
dentinogener Geisterzelltumor				(56)
kalzifizierend-zystischer odontogener Tumor				(56)

kalifizierender epithelialer odontogener Tumor				(54, 56)
keratozystischer odontogener Tumor				(56) (59)
Odontameloblastom				(56)
odontogener Plattenepitheltumor				(56)
odontogenes Fibrom				(56)
odontogenes Myxom				(54, 56)
Odontom				(54, 56, 59)
Zementoblastom				(54, 56)
Zementoma				(55)
<u>Gutartige knöcherne Läsionen</u>				
aneurysmatische Knochenzyste				(42, 54)
Chondrom	(60, 61)	(62, 63)		
desmoplastisches Fibrom		(50)		
fibröse Osteodystrophie	(64)	(48, 65)		
Follikelzyste				(55)
Hypertrophie / Hyperplasie / Exostose (inkl. Torus mandibularis)	(66)			*
ossäre Dysplasie	(67-69)	(63)		(42, 54-56)
Osteoblastom	(70)		(50)	(56)
Osteochondrom	(60)	(71, 72)		(55, 56)
Osteom	(60, 61, 73-77)	(78, 79)	(44, 80)	(54)
Osteomalazie	(66)	(67, 81)		
Osteopetrose	(82)			(56)
Osteoporose	(64, 66, 82-84)	(85)		(54)
Paget-Krankheit			(45)	(42, 54, 56)
Periostchondrom		(62)		
Riesenzelltumor	(86)			(42, 55, 56)
sekundärer Hyperparathyreoidismus	(87)	(88-90)		(42, 56)
verknöcherndes Fibrom		(63)		(42, 54, 59) (56)
zentrales Unterkiefergranulom				(56)
<u>Gutartige nichtknöcherne Läsionen</u>				
<i>Solide Läsionen</i>				
Hämangiom	(91)	(91)	(44, 50, 92)	(54)
Neurofibrom				(54)
Schwannom				(54, 56)
<i>Infektiöse/entzündliche Läsionen</i>				
apikale Parodontitis				(54)
Fibrizsness	(57)	(57)	(93)	X
Gicht	(61, 70, 94)	(48, 95)	(96)	(97)
Gingivitis		(89, 98)		*
infizierte Fraktur	(70, 99, 100)	(48, 101, 102)	(18, 52, 103, 104)	*

Osteomyelitis/Periostitis	(66, 70, 82, 83, 105)	(13, 81, 106-109)	(8, 18, 53, 103, 110-115)	(42, 55, 59, 116)
Riesenzellgranulom				(42, 54)
Stomatitis	(117)	(48, 89, 98)		*

(NVR= Nicht-Vogel-Reptilien; *= extrem häufig; X= kommt beim Menschen nicht vor)

3.3.3 Charakterisierung der Pathologie mittels quantitativer DECT

Im Zentrum des fokalen exophytischen Tumors des Os dentale und im Bereich der punktförmigen Knochenauflockerungen, die sich von der Oberfläche bis zur 5. Ersatzzahnwurzel in fistelartiger Konfiguration erstrecken, lässt sich im Vergleich zum übrigen Knochen erstmals eine signifikante Anhäufung von Fluor nachweisen (3700 ± 769 HU (Median 3533; 2723-4988) vs. 970 ± 242 HU (Median 928; 660-1374); $p < 0,001$; **Abbildung 12 und 13**). Im Vergleich dazu zeigt sich kein wesentlicher Unterschied in der Calciumverteilung zwischen Tumor und übriger Knochenneubildung (2587 ± 355 HU (Median 2605; 2038-3001) vs. 2659 ± 194 HU (Median 2579; 2412-3024)), wobei jedoch in der Calciumfarbkarte eine Strukturänderung im Bereich der fokalen Raumforderung erkennbar ist. Darüber hinaus zeigen die erhaltenen neurovaskulären Kanäle, im Vergleich zum gesunden Knochen, einen verminderten Calciumgehalt (981 ± 512 HU (Median 927; 352-1891 HU)) und einen erhöhten Fluorgehalt (1684 ± 695 HU (Median 1536; 1083-2994 HU); **Abbildung 14**).

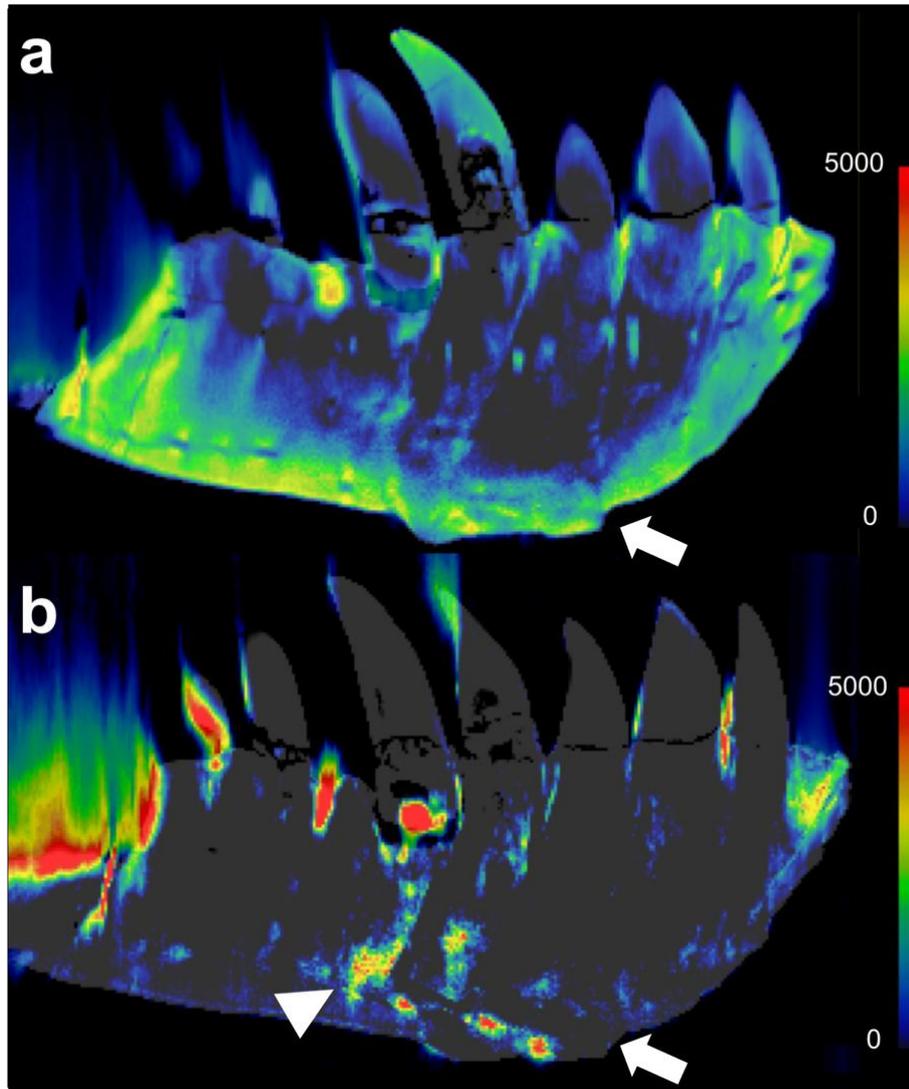


Abbildung 12: Charakterisierung der Pathologie im linken Os dentale mittels DECT-basierter Calcium- und Fluorkartierung

DECT-basierte Calciumkarte (a) und Fluorkarte (b) des linken Os dentale des T. rex „Tristan Otto“ in sagittaler Ebene auf Höhe des fokalen exophytischen Tumors (Pfeil). Die DECT-Materialkarte zeigt eine erhöhte Fluoranreicherung an der Basis der Zahnwurzel (Pfeilspitzen) und eine tubuläre Fluorablagerung im Zentrum der Raumforderung. Hohe Materialkonzentrationen sind in Rot dargestellt (Farbskala in HU rechts im Bild), wobei die Signale an der Oberfläche auf Strahlenthärtungsartefakte zurückzuführen sind. (modifiziert nach Hamm et al. 2022 (26))

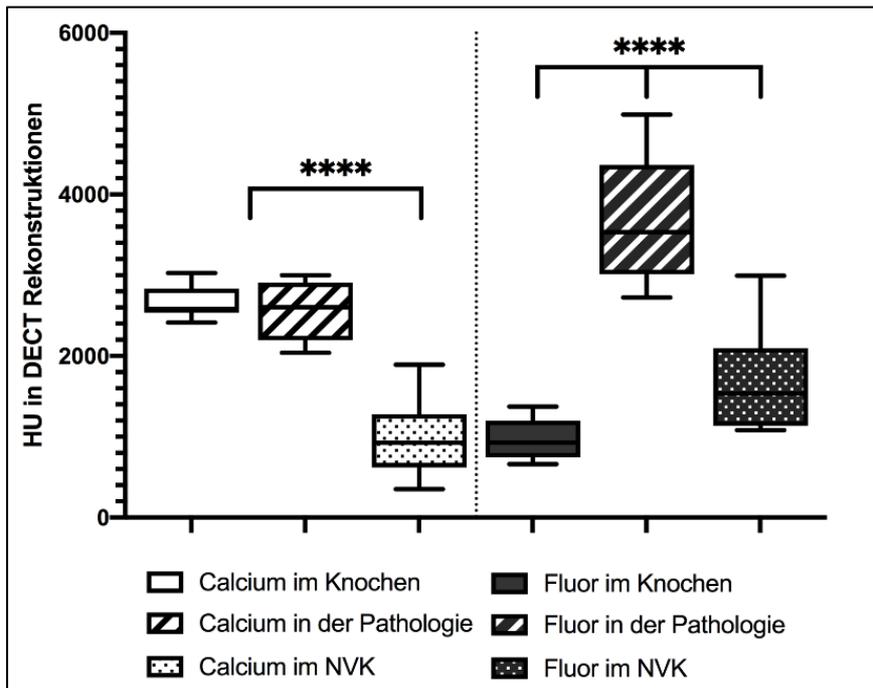


Abbildung 13: Zerstörungsfreie Quantifizierung von Calcium und Fluor im linken Os dentale mittels DECT

Die Whisker-Plots zeigen, dass der Fluorgehalt in dem exophytischen Tumor höher ist als im umgebenden gesunden Knochengewebe und den neurovaskulären Kanälen (NVK) ($p < 0,001$). Es zeigt sich auch eine deutlich reduzierte Calciumkonzentration in den NVK im Vergleich zu den übrigen Strukturen ($p < 0,001$). Signifikante Unterschiede zwischen den Strukturen sind durch Sternchen gekennzeichnet (****, $p < 0,001$). (modifiziert nach Hamm et al. 2022 (26))

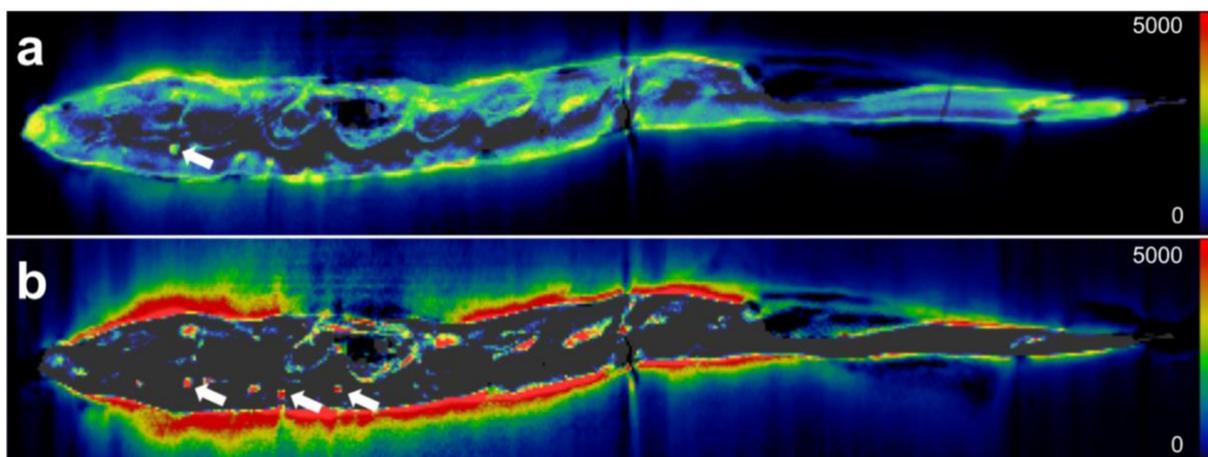


Abbildung 14: DECT-Materialkarten des linken Os dentale

DECT-basierte Calciumkarte (a) und Fluorkarte (b) des linken Os dentale des *T. rex* „Tristan Otto“ (axiale Ebene). Es zeigt sich eine deutliche Fluoranreicherung in den neurovaskulären Kanälen (Pfeile), während die Kanäle in der Calciumkarte weniger deutlich abgrenzbar sind. Hohe Materialkonzentrationen sind in Rot dargestellt (Farbskala in HU rechts im Bild), wobei die ausgeprägten Signale an der Oberfläche, besonders in der Fluorkarte, auf Strahlenhärtungsartefakte zurückzuführen sind. (eigene Darstellung)

3.3.4 Differentialdiagnosen im Kontext der phylogenetischen Systematik

Auf der Grundlage der oben genannten morphologischen und radiologischen Merkmale können maligne, zystische oder metabolische Prozesse mit hoher Sicherheit als Krankheitsursache ausgeschlossen werden, während die verbleibenden Differentialdiagnosen hinsichtlich ihrer Wahrscheinlichkeit und ihrer Merkmale in der RPK im Folgenden analysiert werden.

Zunächst muss eine traumatische Ätiologie als Differentialdiagnose in Betracht gezogen werden, da traumatische Ereignisse die Mehrheit der Knochenanomalien in allen Kladen der RPK ausmachen (siehe 3.2). Hervorzuheben ist dabei, dass 13% der Pathologien bei Theropoden-Dinosauriern den Schädel und den Unterkiefer betreffen (43). Insbesondere pathologische Veränderungen der Schädelknochen, die auf aggressives Verhalten (Bisse) innerhalb oder zwischen den Arten zurückzuführen sind, wurden in mehreren großen Theropodengruppen, wie Allosauriden und Tyrannosauriden, gefunden (118). 60% der nichtausgewachsenen Tyrannosauriden und 44% aller präparierten Schädel von Tyrannosauriden in den Sammlungen des Tyrrell Museums in Drumheller, Alberta, USA, zeigen verheilte Bissverletzungen (118). Jüngste Belege für eine hohe Empfindlichkeit der Gesichtsrezeptoren bei großen Theropoden (32, 119) geben Hinweise darauf, dass Kopf-Kopf-Interaktionen bei Theropoden-Dinosauriern wahrscheinlich ein wichtiger Teil der sozialen Interaktion waren und damit eine plausible Ursache für ein Trauma am Unterkiefer sein könnten (118, 120, 121). Die Oberflächen des Os dentale sind jedoch glatt und durchgängig, ohne Anzeichen von Kallusbildung, was eine akute traumatische Ursache unwahrscheinlich erscheinen lässt. In Anbetracht der diffusen Volumenzunahme des umgebenden Knochens ist jedoch ein chronischer Prozess nach einem traumatischen Ereignis an dieser Stelle hochwahrscheinlich, zumal Traumata eine häufige Ursache für sekundäre infektiöse Prozesse innerhalb des Knochens darstellen (66, 70). Somit lässt sich schlussfolgern, dass Theropoden prädisponiert für Infektionen durch Bissverletzungen im Gesicht waren, die häufig zu Läsionen am Knochen führten (110, 122). Darüber hinaus ist eine Knochenbeteiligung in Form einer Osteomyelitis eine häufige Folge eines Traumas bei Reptilien (47) und wurde in mehreren Studien beschrieben (13, 89, 123). Rothschild (2009) wies darauf hin, dass Knocheninfektionen bei Theropoden entweder wirklich selten sind oder zum frühen Tod des betroffenen Exemplars führen und dass die meisten Knocheninfektionen als Komplikation eines Traumas betrachtet werden müssen (43).

Hinsichtlich einer möglichen infektiösen Ätiologie sind verletzte und infizierte Zähne eine weitere häufige Ursache für eine Osteomyelitis im Kiefer bei Dinosauriern (49, 124, 125). Weiterhin stellen bakterielle Infektionen eine der häufigsten Erkrankungen bei Reptilien dar (48, 126). In Reptilien sind Wunden mit einer Sekundärinfektion die häufigste orale Pathologie und verschiedene andere Erkrankungen wie Stomatitis und parodontale Infektionen können zu einer Knocheninfektion führen (89). Die typischen Charakteristika der Osteomyelitis bei Reptilien zeichnen sich durch eine reaktive und proliferative Knochenbildung aus (48, 123).

Mit Blick auf die morphologischen Charakteristiken der untersuchten Läsion ist eine gutartige neoplastische Erkrankung weniger wahrscheinlich, kann jedoch nicht vollständig ausgeschlossen werden, insbesondere da ein breites Spektrum an Neoplasien bei Reptilien beschrieben ist (89). Es ist außerdem hervorzuheben, dass bei Reptilien insbesondere die Maulhöhle häufig von Tumoren betroffen ist (63, 127). Studien haben jedoch gezeigt, dass mit ca. 80 % aller diagnostizierten Neoplasien bösartige Entitäten bei Reptilien dominieren (83,3 % in Page-Karjian et al. 2017 und 76 % in Ramsay et al. 1996) (78, 128) und nur 3,6 % (63) bis 5,5 % (129) aller Tumoren im Knochen lokalisiert sind. Da Osteome jedoch häufig im Unterkiefer und in Röhrenknochen auftreten (123) und auch ein Ameloblastom, eine sich auf die Zahnwurzel beschränkende Neoplasie, in einer Erdnatter (*Pantherophis obsoletus*) diagnostiziert wurde (58), sind diese beiden gutartigen Knochentumore trotz ihrer Seltenheit (130, 131) eine mögliche Differentialdiagnose.

3.3.5 Zusammenführung der durchgeführten differenzialdiagnostischen Analysen

Die Evaluation der äußeren und inneren morphologischen Merkmale einschließlich der zerstörungsfreien DECT-basierten Fluor- und Calciumquantifizierung des linken Os dentale legt die Diagnose einer chronischen Osteomyelitis mit tumoröser Ausprägung nahe. Die Ergebnisse der phylogenetischen Analyse zur Krankheitswahrscheinlichkeit zeigen darüber hinaus, dass eine infektiöse Erkrankung wesentlich häufiger vorkommt als eine neoplastische Erkrankung. Osteomyelitis wurde auch bei allen Mitgliedern der Klade der NVD beschrieben, wohingegen keine Fälle von Neoplasien bei Tryannosauriden bekannt sind. In Zusammenschau der hier erhobenen Ergebnisse handelt es sich bei der hier beschriebene Pathologie des linken Os dentale hochwahrscheinlich um eine chronische Osteomyelitis.

4. Diskussion

Diese Arbeit bestärkt die Rolle der klinischen CT in der paläontologischen Forschung, indem sie ein diagnostisches Konzept für die Paläopathologie unter Verwendung der CT und Daten zur Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Erkrankungen im Rahmen der phylogenetischen Systematik etabliert. Des Weiteren präsentiert sie die DECT-basierte Fluor- und Calciumquantifizierung als zerstörungsfreie und innovative Methode für die Charakterisierung fossiler Knochen und Pathologien. Schließlich erwiesen sich beide Konzepte in einer ergänzenden Analyse des Kieferknochens des *T. rex* "Tristan Otto" als praktikabel und ermöglichten die Diagnose einer chronischen Osteomyelitis.

4.1 Steigerung der Diagnosesicherheit durch neues Diagnosekonzept mittels CT und phylogenetischer Systematik

In vorangegangenen Studien wurde berichtet, dass die Spezies *T. rex* eine Vielzahl von medizinischen Diagnosen aufweist, einschließlich einer Reihe von Pathologien, die bei dem hier untersuchten *T. rex* "Sue" beobachtet wurden (18, 27, 132). Diese Pathologien waren Gegenstand früherer Untersuchungen und wurden entweder allein anhand der groben Morphologie oder unter Verwendung von konventionellen CT-Scans klassifiziert (18, 19). Die phylogenetische Systematik und die Wahrscheinlichkeit des Auftretens jener Krankheiten wurden jedoch bisher nicht im Sinne eines systematischen Ansatzes berücksichtigt (18, 96, 103, 120, 122, 133, 134). Auf dieser Grundlage konnte in der EPK gezeigt werden, dass Infektionskrankheiten in den verwandten Kladen wesentlich häufiger vorkommen als neoplastische Krankheiten. Auf der Grundlage einer detaillierten morphologischen Charakterisierung mit Hilfe der CT-Bildgebung, die typische Anzeichen einer Knocheninfektion zeigte, untermauerte auch das erstellte Kladogramm die Diagnose der Osteomyelitis, da alle Mitglieder der Klade der NADs Fälle von Osteomyelitis aufwiesen. Im Gegensatz dazu sind bisher keine Neoplasien bei Tyrannosauriden bekannt.

Trotz des mittlerweile beträchtlichen Wissens über Erkrankungen der spinalen Achse bei NADs konnte bei einer kürzlich durchgeführten Untersuchung eines fusionierten Schwanzwirbels eines Titanosauriers (CPPLIP-1020) weder die eindeutige Diagnose einer Spondyloarthropathie noch einer Infektion gestellt werden, da keine überzeugenden pathognomonischen Merkmale festgestellt werden konnten

(135). Die Diagnose einer multifokalen chronischen Osteomyelitis mit Manifestationen an der linken Fibula und den fusionierten Schwanzwirbeln im *T. rex* „Sue“ konnte hier jedoch mit einer hohen Diagnosesicherheit getroffen werden, insbesondere unter Berücksichtigung der erhobenen Daten im Rahmen der EPK.

Interessanterweise wies die hier untersuchte Pathologie des linken Os dentale des *T. rex* "Tristan Otto" eine ähnliche Pathomorphologie auf, wie sie an der linken Fibula und den fusionierten Wirbeln des *T. rex* "Sue" beobachtet wurde. Die diffuse Knochenneubildung der linken Hemimandibula und der fokale exophytische Tumor im Bereich der 3. bis 5. Zahnwurzel lassen sich durch einen erhöhten intraossären Druck, der häufig in der Pathophysiologie chronischer Infektionen beobachtet wird (43), sowie durch die Ablagerung von Fibrin zur Immobilisierung von Erregern, bekannt als Fibrinzess (52, 57), erklären. Diese sind beide Phänomene, die bekanntermaßen bei Vögeln und Reptilien auftreten und einen entscheidenden Hinweis in der Beurteilung der Pathologie geliefert haben. Mit Augenmerk auf die pathophysiologischen Merkmale entzündlicher Prozesse bei Vögeln und Reptilien, stimmen die hier beobachtete diffuse Verbreiterung des Knochens und die beobachteten bildmorphologischen Merkmale einer Fistelbildung zudem mit der Definition einer tumorösen chronisch Osteomyelitis überein (40, 42). Die primäre Ursache für die Entstehung einer chronischen Infektion im untersuchten Kiefer lässt sich nicht abschließend klären. Zu den möglichen Ursachen für eine Osteomyelitis im Kiefer von Reptilien gehören die Freilegung von Knochen, Parodontalerkrankungen und Stomatitis, die durch Bakterien, Mykobakterien und Pilze oder Traumata verursacht werden (47, 89, 106, 123). Die Mundhöhle von Reptilien ist überwiegend von gramnegativen Bakterien besiedelt, die eine hohe Mortalitäts- und Morbiditätsrate aufweisen und häufig Ursache für lokale Infektionen sind (89). Auch bei Vögeln stehen Knocheninfektionen in engem Zusammenhang mit Traumata, die die häufigste Ursache für Osteomyelitis sind (66, 70). In Anbetracht der Tatsache, dass bei Tryannosauriden häufig Spuren von Bissverletzungen am Schädel beobachtet werden (118, 136) und Läsionen, die mit Bisspuren übereinstimmen, typischerweise an Oberkiefer, Prämaxilla und Unterkiefer zu finden sind (118), kann davon ausgegangen werden, dass ein Trauma eine wahrscheinliche Ursache für die beobachtete Knocheninfektion ist.

In der Literatur lassen sich lediglich zwei Fälle von Neoplasien im Kiefer eines Dinosauriers finden. Die Kieferläsionen in den Skeletten des *Albertosaurus sarcophagus* (RTMP 1981.10.1) und *Protoceratops andrewsii* (AMNH FR6460)

wurden dabei als Osteome klassifiziert (80). Diese Läsionen zeichneten sich jedoch durch deutlich andere morphologische Merkmale aus, als die der Pathologie des *T. rex* „Tristan Otto“. Darüber hinaus liefern die Erkenntnisse der Literaturrecherche weitere quantitative diagnostische Informationen, die die Diagnose einer infektiösen Ätiologie unterstützen.

Es bleibt unklar, ob die Diagnose einer chronisch tumorösen Osteomyelitis im linken Os dentale zum Tod des Individuums geführt hat. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass diese Pathologie aufgrund mechanischer Veränderungen, die mit der Schwellung oder möglichen Schmerzen zusammenhängen, Auswirkungen auf das Fressverhalten hatte. Obwohl die physiologischen Komponenten, die für die Nozizeption notwendig sind, bei Vögeln und Reptilien beschrieben sind (137, 138), ist die Frage, ob Reptilien "Schmerz" empfinden können oder wie sich die Nozizeption auf die physiologische Homöostase auswirkt, nicht eindeutig beantwortet (139). Bislang konnten keine eindeutigen Schmerzreaktionen bei Reptilien mit Osteomyelitis identifiziert werden (47). Da Erkrankungen der Maulhöhle häufig repräsentativ für ein systemisches Geschehen sind (89), könnte der hier untersuchte *T. rex* auch an den Folgen einer systemischen Erkrankung verendet sein.

Zusammenfassend, wie am Beispiel von *T. rex* "Sue" und "Tristan Otto" gezeigt werden konnte, können Daten zur Wahrscheinlichkeit des Auftretens bestimmter Erkrankungen im Rahmen der EPK zusätzlich zur radiologischen Bildgebung herangezogen werden. Sie liefern wesentliche Informationen über mögliche Krankheiten und ihre Häufigkeit und können so Differentialdiagnosen ausgehend von bildmorphologischen Eigenschaften in einen evolutionären Kontext setzen. Der Nachweis und die Häufigkeit von Pathologien, die bei nahen Verwandten in der EPK gefunden werden, können somit eine Diagnose in der Paläopathologie unterstützen und den Grad der Diagnosesicherheit erhöhen. So ist es nicht verwunderlich, dass dieses diagnostische Konzept mittlerweile auch von sehr bekannten Paläontologen für die Differenzialdiagnostik von verschiedensten Pathologien verwendet wird, wie zum Beispiel von der Arbeitsgruppe um Prof. Adam K. Huttenlocker (University of Southern California, USA) für die Diagnose einer akuten Periostitis mit subperiostalen Hämatom in einem *Gorgonopsia* (140).

4.2 Neue Einblicke in die Krankheiten der Vergangenheit

Während paläopathologische Diagnosen bisher vorwiegend auf die Erkennung morphologischer Muster bei der visuellen Inspektion und der Schnittbildgebung mittels CT basieren, zeigt diese Arbeit, dass die zerstörungsfreie DECT-basierte Fluorkartierung auch als diagnostisches Instrument in der Paläopathologie dienen kann. So konnte unter Verwendung des fluorspezifischen DECT-Algorithmus erstmals eine signifikant erhöhte Fluorablagerung im Zentrum des exophytischen Tumors des linken Os dentale von *T. rex* "Tristan Otto" als im übrigen Knochen detektiert werden. Ausgehend von der Hypothese, dass fluorhaltiges Grundwasser während der Fossilisierung (ausführliche Schilderung im folgenden Absatz) in den Knochen eindringt (141), deuten diese Befunde auf eine Auflockerung der Knochenstruktur hin, wie sie häufig bei Knocheninfektionen beobachtet wird. Diese Hypothese wird auch durch den deutlich erhöhten Fluorgehalt und den verminderten Calciumgehalt in den neurovaskulären Kanälen unterstützt. Das Fehlen einer kompakten Knochenstruktur in den neurovaskulären Kanälen könnte den reduzierten Calciumgehalt erklären und gleichzeitig einen leichteren Eintritt von Grundwasser und Sediment in diese Hohlräume des Knochens ermöglicht haben, was zu einer erhöhten Ablagerung von Fluor führte. Auch im Hinblick auf die oben genannten möglichen Ursachen für die Knocheninfektion, eine orale oder parodontale Infektion oder ein sekundär infiziertes Trauma, lieferte die DECT-basierte Fluorkartierung weitere Hinweise zur Pathologie. Die fluorbasierende DECT-Materialkartierung zeigte eine Verbindung zwischen der Fluoranreicherung an der Wurzel des 5. Ersatzzahns und der im zentralen Teil der Raumforderung, was den Verdacht einer Fistelbildung erhärtet und die Beteiligung des Parodontiums und tendenziell einen odontogenen Infektionsherd vermuten lässt. Die homogene Verteilung von Calcium und Fluor in den peripheren Regionen der Raumforderung und der diffus verbreiteten Hemimandibula deuten auf eine Knochenneubildung im Rahmen einer periostalen Reaktion hin, was wiederum den Aspekt unterstützt, dass es sich um eine chronische Entzündung handelte.

Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse könnte die DECT-Bildgebung eine neue Methode für die Erforschung von Krankheiten der Vergangenheit darstellen. In der klinischen Routine spielt die DECT-Bildgebung eine zentrale Rolle bei der Diagnose von Gichtarthritis beim Menschen, indem die Ablagerung von Uratkristallen quantifiziert wird (3, 142, 143). In dieser Hinsicht könnte die bereits bei einem *T. rex*

aufgestellte Diagnose von Gicht als hervorragendes Anwendungsbeispiel für die mögliche Entwicklung eines krankheitsspezifischen DECT-Algorithmus dienen (96).

4.3 Potential und künftige Anwendungen der DECT in der Paläontologie

Die Grundlage für den hier entwickelten fluor-spezifischen DECT-Algorithmus basiert auf den Ergebnissen der multimodalen Knochenanalyse, welche einen hohen Gehalt an Hydroxylapatit im rezenten Knochen und einen hohen Gehalt an Fluorapatit im fossilen Knochen nachwies. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Erkenntnissen der Fossilisationslehre (Taphonomie) von Knochen (144).

Hydroxylapatit in Knochen und Zähnen wird im Verlauf der Fossilisierung durch das thermodynamisch stabilere Fluorapatit ersetzt. Bei Kontakt mit fluorhaltigem Grundwasser oder Sediment führt die Absorption von Fluorionen durch das Knochenmineral zur Bildung von Fluorapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$) (141). Diese Wechselwirkung erfolgt aufgrund der höheren chemischen Stabilität von Fluorapatit im Vergleich zu Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) (145-148). Diese Transformation des Knochens beginnt bereits in frühen Stadien der Fossilisierung und wird im Laufe der Zeit weiterhin fortgesetzt (145-149).

Dieses Wissen über die Veränderungen der Apatitstruktur in fossilen Knochen bildet auch die Grundlage für die Methode der Fluordatierung (141, 150, 151). Diese in der Archäologie etablierte Methode, bei der die Menge des von den Knochen absorbierten Fluors gemessen wird, dient zur Bestimmung des relativen Alters untersuchter Objekte. Bei diesem Verfahren muss jedoch eine Materialprobe entnommen werden und zu Pulver zerstoßen werden. In diesem Zusammenhang zeigten die DECT-Materialkarten nicht nur eine deutlich höhere Fluorkonzentration im Knochen als im umgebenden Sediment, sondern auch eine signifikante Veränderung der Fluorkonzentration mit dem Alter der terrestrischen fossilen Objekte. Der Fluorgehalt stieg mit dem geologischen Alter an, wobei der höchste Wert beim *Dysalotosaurus* (153 Ma; 3500 HU) und der niedrigste beim *Bos taurus* (rezent; 0 HU) in den DECT-Rekonstruktionen erreicht wurde. Diese Ergebnisse legen die Entwicklung einer neuartigen, zerstörungsfreien und schnellen Methode zur Bestimmung des relativen Alters terrestrischer fossiler Objekte mittels DECT-Bildgebung nahe.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die DECT nicht nur eine zerstörungsfreie Differenzierung von Knochen und Sediment und eine elementbasierte

Charakterisierung von Knochenpathologien ermöglicht, sondern auch als innovatives Instrument für die Altersbestimmung fossiler Objekte eingesetzt werden könnte.

4.4 Limitationen und weiterführende Fragestellungen

Die generalisierte Anwendbarkeit und Übertragbarkeit des hier entwickelten diagnostischen Konzepts und der neuen quantitativen Bildgebungsmethoden kann aus den folgenden Gründen eingeschränkt sein.

Die Pathologieberichte über Vögel und NVR, die im Rahmen der EPK berücksichtigt wurden, basieren hauptsächlich auf Individuen, die in Gefangenschaft gehalten wurden (Zoos und Tierparks). Dies impliziert eine gewisse medizinische Versorgung und ein eher artifizielles Umfeld, was wiederum eine längere Lebensdauer bedeutet und naturgemäß das Risiko höherer Inzidenzraten von Neoplasien birgt. Diese Aspekte müssen bei den hier berechneten Krankheitswahrscheinlichkeiten berücksichtigt werden. Darüber hinaus unterschieden sich die zitierten Studien bzgl. untersuchter Pathologien in ihrem methodischen Ansatz, von denen wenige die EPK für die Diagnosestellung berücksichtigt haben (z.B. 152-154).

Im Hinblick auf die Diagnose der chronischen Osteomyelitis, die bei beiden untersuchten *T. rex*-Exemplaren gestellt wurde, ist der Goldstandard in der Paläopathologie die histologische Untersuchung von Knochenproben. Aufgrund der Vorschriften der Museen war es jedoch nicht möglich, bei den hier untersuchten Pathologien eine invasive Diagnostik durchzuführen, um die Diagnose histologisch belegen zu können. Nichtsdestotrotz konnte mit Hilfe der Kombination von PGS und CT-Verfahren in den hier untersuchten Fällen die Diagnose Osteomyelitis mit hoher Sicherheit gestellt werden, wenn auch gleich die Anwendbarkeit und der Nutzen des Konzepts für sonstige Pathologien erst noch unter Beweis zu stellen ist.

Diese Arbeit konnte im Sinne einer Machbarkeitsstudie die Anwendbarkeit der DECT bei fossilen Objekten demonstrieren, allerdings mit der Einschränkung, dass nur einige wenige Knochen in dieser Studie untersucht worden sind. Daher kann diese Arbeit keine eindeutige Korrelation zwischen dem mit DECT gemessenen Calcium- und Fluorgehalt und dem tatsächlichen Gehalt in allen fossilen Objekten nachweisen, die über ein scheinbar plausibles Verhältnis zum Alter und der Art des Objekts hinausgeht. Der auf das untersuchte *T. rex*-Exemplar zugeschnittene Algorithmus zur Dreimaterialdifferenzierung unter Verwendung von Eisen und Calcium für den

Nachweis von Fluor hat sich jedoch bei fossilen Objekten terrestrischen Ursprungs als praktikabel erwiesen. Zudem dürfte der Algorithmus auch bei anderen fossilen Objekten terrestrischen Ursprungs anwendbar sein. Dies basiert zum einen auf dem Wissen, dass im Zuge der Knochenidiagenese Hydroxylapatit durch Fluorapatit substituiert wird, wie oben bereits erwähnt, und zum anderen, dass sich in der Permineralisierung Eisenoxide in Gefäßkanälen, Trabekeln und Frakturen ablagern und somit auch Eisen in der Mehrzahl der terrestrischen fossilen Objekte vorhanden ist (147). Darüber hinaus, obwohl die *T. rex*-Probe nur geringe Mengen an Eisen enthielt (0,57 wt.%), reichten diese kleinsten Mengen aufgrund der extrem hohen HU-Werte (24422 HU bei 80 kVp und 18311 HU bei 135 kVp) für die Verwendung als Kalibriermaterial aus. Die Röntgeneigenschaften von Eisen und die nachgewiesenen Prozesse der Bildung von Fluorapatit und Eisenablagerungen während der Permineralisierung machen die hier ausgewählten Kalibrierungselemente zu einem zuverlässigen und leicht verfügbaren Kalibrierungsmaterial für die DECT terrestrischer fossiler Objekte.

Im Gegensatz dazu zeigten die DECT-Rekonstruktionen der marinen Fossilien nur einen sehr geringen Fluorgehalt. Dies kann einerseits auf die diagenetischen Stadien (geologische Prozesse der Sedimentgesteinbildung) zurückgeführt werden, die sich von denen der Landtiere mit nur geringen Ablagerungen von Fluor und Eisen unterscheiden, oder aber, dass der DECT-Algorithmus andere Einschränkungen aufweist, die derzeit nicht spezifiziert werden können.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen jedoch auch, dass die DECT-Bildgebung bei großen, dichten und metallhaltigen Objekten anfällig für Artefakte ist, wie z.B. beim linken Os dentale des *T. rex* „Tristan Otto“ beobachtet wurde. Diese Objekteigenschaften sind eine bekannte Herausforderung für jeden klinischen Computertomographen. Zudem variieren die Aufhärtungsartefakte mit der Strahlenenergie, was einen weiteren Schwachpunkt der Dual-Energy Methode darstellt. Ferner gibt es in geologischen Materialien eine große Variation an chemischen Zusammensetzungen, die möglicherweise die Signale stören, von denen angenommen wird, dass sie auf Calcium oder Fluor zurückzuführen sind. Im Vergleich zum Menschen, der grundsätzlich eine annähernd identische Körperzusammensetzung aus Wasser, Fett, Eiweiß und Mineralien aufweist, sind Fossilien sehr viel dichter und variieren in Bezug auf Zusammensetzung und chemischer Wechselwirkungen. Aus diesem Grund sollten Studien folgen, in denen

ein Schema entwickelt wird, mit dem die Strahlenaufhärtung bei DECT-Untersuchungen berücksichtigt werden kann und somit falsch positive und falsch negative Signale unterschieden werden können.

Letztlich muss die Hypothese, dass die quantitative DECT-basierte Messung von Fluor als zerstörungsfreies Instrument zur Bestimmung des Alters terrestrischer fossiler Objekte dienen kann, in weiteren Studien mit einer größeren Anzahl von Objekten und mit Ergebnissen multimodaler Knochenanalysen validiert werden. Darüber hinaus ist die Anwendung der Fluordatierung in der Archäologie üblicherweise nur für Objekte aus demselben Fundort akzeptiert (151, 155). Im Gegensatz dazu wurden in dieser Studie terrestrische Objekte aus Tansania (*Dysalotosaurus*, *Alcelaphinae*), Nordamerika (*T. rex*) und Deutschland (*Bos taurus*) verwendet. Künftige Studien sollten daher darauf abzielen, die Fluorquantifizierung mittels DECT in terrestrischen Objekten unterschiedlichen Alters, aber vom selben Fundort durchzuführen.

5. Schlussfolgerung

Diese Arbeit unterstreicht die Bedeutung radiologischer Bildgebungsverfahren in den Naturwissenschaften, indem sie ein auf die Paläopathologie zugeschnittenes diagnostisches Konzept und zerstörungsfreie bildbasierte Untersuchungstechniken für fossile Knochen präsentiert und evaluiert.

Durch die Kombination einer detaillierten morphologischen Charakterisierung von Knochenpathologien mittels CT mit der Evaluation der phylogenetischen Plausibilität entsprechender Erkrankungen konnte die Diagnose einer multifokalen chronischen Osteomyelitis bei *T. rex* "Sue" und einer chronischen Osteomyelitis bei *T. rex* "Tristan Otto" mit einer bisher nicht erreichten diagnostischen Sicherheit gestellt werden. Zudem können die vorgestellten Ergebnisse zum Auftreten und der Häufigkeit von Krankheiten in der EPK und innerhalb der Klade der Dinosaurier als Referenz für weitere paläopathologische Studien dienen.

Zum anderen wurde in dieser Arbeit eine zerstörungsfreie DECT-basierte Quantifizierung von Calcium und Fluor in Knochen von fünf ausgestorbenen Taxa und einem rezenten Taxon entwickelt und validiert. Mittels DECT konnte Fluor als Biosignatur fossiler Knochen identifiziert und mittels Materialkarten quantifiziert werden. In anschließenden DECT-Analysen erwies sich Fluor als ein zuverlässiger Indikator für das Alter von terrestrischen Fossilien und erlaubte die zerstörungsfreie Differenzierung fossiler Knochen vom umgebenden Sediment. Darüber hinaus ermöglichte die DECT-basierte Fluorquantifizierung eine erweiterte Charakterisierung der hier untersuchten tumorösen Läsion im Os dentale des *T. rex* „Tristan Otto“, die die Diagnose einer chronischen tumorösen Osteomyelitis unterstützte. In diesem Kontext stellt die zerstörungsfreie, auf element- und dichte-basierende Materialdifferenzierung mittels DECT eine innovative Methode für die Untersuchung fossiler Objekte dar und könnte Wissenschaftlern erlauben, fossile Knochenstrukturen zu charakterisieren, ohne deren Integrität durch invasive Probenentnahmen zu beeinträchtigen.

Literaturverzeichnis

1. Karcaaltincaba M, Aktas A. Dual-energy CT revisited with multidetector CT: review of principles and clinical applications. *Diagnostic and interventional radiology*. 2011;17(3):181.
2. Silva AC, Morse BG, Hara AK, Paden RG, Hongo N, Pavlicek W. Dual-energy (spectral) CT: applications in abdominal imaging. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*. 2011;31(4):1031-46.
3. Glazebrook KN, Guimarães LS, Murthy NS, Black DF, Bongartz T, J. Manek N, Leng S, Fletcher JG, McCollough CH. Identification of intraarticular and periarticular uric acid crystals with dual-energy CT: initial evaluation. *Radiology*. 2011;261(2):516-24.
4. Lee YH, Park KK, Song H-T, Kim S, Suh J-S. Metal artefact reduction in gemstone spectral imaging dual-energy CT with and without metal artefact reduction software. *European radiology*. 2012;22(6):1331-40.
5. Liu X, Yu L, Primak AN, McCollough CH. Quantitative imaging of element composition and mass fraction using dual-energy CT: Three-material decomposition. *Medical physics*. 2009;36(5):1602-9.
6. Andree C. Rudolf Virchow als Prähistoriker. Vol 1. Virchow als Begründer der neueren deutschen Ur- und Frühgeschichtswissenschaft: Vienna: Böhlau; 1976.
7. Waldron T. Roy Lee Moodie (1880–1934) and the beginnings of palaeopathology. *Journal of Medical Biography*. 2015;23(1):8-13.
8. Hanna RR. Multiple injury and infection in a sub-adult theropod dinosaur *Allosaurus fragilis* with comparisons to allosaur pathology in the Cleveland-Lloyd Dinosaur Quarry Collection. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 2002;22(1):76-90.
9. Taylor LH, Latham SM, Mark E. Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2001;356(1411):983-9.
10. Benton MJ. Discovering Phylogeny. In: Benton MJ, editor. *Vertebrate palaeontology*. 3rd Edition: Blackwell Science Ltd; 2005. p. 31-5.
11. Benson RB, Campione NE, Carrano MT, Mannion PD, Sullivan C, Upchurch P, Evans DC. Rates of dinosaur body mass evolution indicate 170 million years of

- sustained ecological innovation on the avian stem lineage. PLoS Biology. 2014;12(5):e1001853.
12. Wolff E. The discovery of two novel archosaur diseases with implications for future paleopathological exploration. *Historical Biology*. 2008;20(3):185-9.
 13. Antinoff N. Osteomyelitis in reptiles. *Proceedings of the 6th Conference of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians, Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians, Columbus, OH; 1997*.
 14. Hamm CA, Hampe O, Schwarz D, Witzmann F, Makovicky PJ, Brochu CA, Reiter R, Asbach P. A comprehensive diagnostic approach combining phylogenetic disease bracketing and CT imaging reveals osteomyelitis in a *Tyrannosaurus rex*. *Scientific reports*. 2020;10(1):18897.
 15. Mallison H, Wings O. Photogrammetry in paleontology—a practical guide. *Journal of Paleontological Techniques*. 2014;12(12):1-31.
 16. Sutton M, Rahman I, Garwood R. *Techniques for virtual palaeontology*: John Wiley & Sons; 2014.
 17. Hamm CA, Mallison H, Hampe O, Schwarz D, Mews J, Blobel J, Issever AS, Asbach P. Efficiency, workflow and image quality of clinical Computed Tomography scanning compared to photogrammetry on the example of a *Tyrannosaurus rex* skull from the Maastrichtian of Montana, U.S.A. *Journal of Paleontological Techniques*. 2018;21:1-13.
 18. Brochu CA. Osteology of *Tyrannosaurus rex*: insights from a nearly complete skeleton and high-resolution computed tomographic analysis of the skull. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 2003;22(sup4):1-138.
 19. Rega E. Disease in dinosaurs. *The Complete Dinosaur*. 2012;667711.
 20. Racicot R. Fossil secrets revealed: X-ray CT scanning and applications in paleontology. *The Paleontological Society Papers*. 2017;22:21-38.
 21. Alves H, Lima I, de Assis J, Neves A, Lopes R. Mineralogy evaluation and segmentation using dual-energy microtomography. *X-Ray Spectrometry*. 2015;44(3):99-104.
 22. Duvillier J, Dierick M, Dhaene J, Van Loo D, Masschaele B, Geurts R, Van Hoorebeke L, Boone MN. Inline multi-material identification via dual energy radiographic measurements. *NDT & E International*. 2018;94:120-5.

23. Ivanova T, Frank-Kamenetskaya O, Kol'tsov A, Ugolkov V. Crystal structure of calcium-deficient carbonated hydroxyapatite. Thermal decomposition. *Journal of Solid State Chemistry*. 2001;160(2):340-9.
24. Van Geet M, Swennen R, Wevers M. Quantitative analysis of reservoir rocks by microfocus X-ray computerised tomography. *Sedimentary Geology*. 2000;132(1-2):25-36.
25. Longo S, Mormina E, Granata F, Mallamace D, Longo M, Capuani S. Investigation of an Egyptian Mummy board by Using Clinical Multi-slice Computed Tomography. *Studies in Conservation*. 2018;63(7):383-90.
26. Hamm CA, Hampe O, Mews J, Günter C, Milke R, Witzmann F, Savic LJ, Hecht L, Meister S, Hamm B, Asbach P, Diekhoff T. Quantitative dual-energy CT as a nondestructive tool to identify indicators for fossilized bone in vertebrate paleontology. *Scientific reports*. 2022;12(1):1-11.
27. Brusatte SL, Norell MA, Carr TD, Erickson GM, Hutchinson JR, Balanoff AM, Bever GS, Choiniere JN, Makovicky PJ, Xu X. Tyrannosaur paleobiology: new research on ancient exemplar organisms. *Science*. 2010;329(5998):1481-5.
28. Hutchinson JR, Bates KT, Molnar J, Allen V, Makovicky PJ. A computational analysis of limb and body dimensions in *Tyrannosaurus rex* with implications for locomotion, ontogeny, and growth. *PLoS One*. 2011;6(10):e26037.
29. Therrien F, Henderson DM. My theropod is bigger than yours... or not: estimating body size from skull length in theropods. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 2007;27(1):108-15.
30. Belli PR, Campione NE, Persons WS, Currie PJ, Larson PL, Tanke DH, Bakker RT. Tyrannosauroid integument reveals conflicting patterns of gigantism and feather evolution. *Biology Letters*. 2017;13(6).
31. Brusatte SL, Averianov A, Sues HD, Muir A, Butler IB. New tyrannosaur from the mid-Cretaceous of Uzbekistan clarifies evolution of giant body sizes and advanced senses in tyrant dinosaurs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2016;113(13):3447-52.
32. Carr TD, Varricchio DJ, Sedlmayr JC, Roberts EM, Moore JR. A new tyrannosaur with evidence for anagenesis and crocodile-like facial sensory system. *Scientific reports*. 2017;7.

33. Erickson GM, Makovicky PJ, Currie PJ, Norell MA, Yerby SA, Brochu CA. Gigantism and comparative life-history parameters of tyrannosaurid dinosaurs. *Nature*. 2004;430(7001):772.
34. Brusatte SL, Carr TD. The phylogeny and evolutionary history of tyrannosauroid dinosaurs. *Scientific reports*. 2016;6:20252.
35. Gignac PM, Erickson GM. The Biomechanics Behind Extreme Osteophagy in *Tyrannosaurus rex*. *Scientific reports*. 2017;7(1):2012.
36. Hirt MR, Jetz W, Rall BC, Brose U. A general scaling law reveals why the largest animals are not the fastest. *Nature ecology & evolution*. 2017;1(8):1116.
37. Langer MC, Ezcurra MD, Rauhut OW, Benton MJ, Knoll F, McPhee BW, Novas FE, Pol D, Brusatte SL. Untangling the dinosaur family tree. *Nature*. 2017;551(7678):E1-E3.
38. Seeley HG. I. On the classification of the fossil animals commonly named Dinosauria. *Proceedings of the Royal Society of London*. 1888;43(258-265):165-71.
39. Baron MG, Norman DB, Barrett PM. A new hypothesis of dinosaur relationships and early dinosaur evolution. *Nature*. 2017;543(7646):501-6.
40. Fitzgerald Jr R, Brewer N, Dahlin D. Squamous-cell carcinoma complicating chronic osteomyelitis. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1976;58(8):1146.
41. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *The Lancet*. 2004;364(9431):369-79.
42. Wick MR, McDermott MB, Swanson PE. Proliferative, reparative, and reactive benign bone lesions that may be confused diagnostically with true osseous neoplasms. *Semin Diagn Pathol*. 2014;31(1):66-88.
43. Rothschild B. Scientifically rigorous reptile and amphibian osseous pathology: Lessons for forensic herpetology from comparative and paleo-pathology. *Applied Herpetology*. 2009;6(1):47-79.
44. Barbosa FHdS, Pereira PVLGdC, Bergqvist LP, Rothschild BM. Multiple neoplasms in a single sauropod dinosaur from the Upper Cretaceous of Brazil. *Cretaceous Research*. 2016;62:13-7.
45. Witzmann F, Claeson KM, Hampe O, Wieder F, Hilger A, Manke I, Niederhagen M, Rothschild BM, Asbach P. Paget disease of bone in a Jurassic dinosaur. *Current Biology*. 2011;21(17):R647-R8.

46. Goodman S, Glynn C. Comparative rates of natural osteological disorders in a collection of Paraguayan birds. *Journal of Zoology*. 1988;214(1):167-77.
47. Raftery A. Reptile Orthopedic Medicine and Surgery. *Journal of Exotic Pet Medicine*. 2011;20(2):107-16.
48. Sinn AD. Pathologie der Reptilien-eine retrospektive Studie [Dissertation]. LMU ; 2004.
49. Dumbrava MD, Rothschild BM, Weishampel DB, Csiki-Sava Z, Andrei RA, Acheson KA, Codrea VA. A dinosaurian facial deformity and the first occurrence of ameloblastoma in the fossil record. *Scientific reports*. 2016;6:29271.
50. Rothschild BM, Tanke D, Helbling M, Martin L. Epidemiologic study of tumors in dinosaurs. *Naturwissenschaften*. 2003;90(11):495-500.
51. Rothschild BM, Witzke BJ, Hershkovitz I. Metastatic cancer in the Jurassic. *The Lancet*. 1999;354(9176).
52. Foth C, Evers SW, Pabst B, Mateus O, Flisch A, Patthey M, Rauhut OW. New insights into the lifestyle of *Allosaurus* (Dinosauria: Theropoda) based on another specimen with multiple pathologies. *PeerJ*. 2015;3:e940.
53. Redelstorff R, Hayashi S, Rothschild BM, Chinsamy A. Non-traumatic bone infection in stegosaurs from Como Bluff, Wyoming. *Lethaia*. 2015;48(1):47-55.
54. Dunfee BL, Sakai O, Pistey R, Gohel A. Radiologic and pathologic characteristics of benign and malignant lesions of the mandible. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*. 2006;26(6):1751-68.
55. Meyer KA, Bancroft LW, Dietrich TJ, Kransdorf MJ, Peterson JJ. Imaging characteristics of benign, malignant, and infectious jaw lesions: a pictorial review. *AJR American journal of roentgenology*. 2011;197(3):W412-21.
56. Gujer AK, Jacobsen C, Grätz KW. *Facharztwissen Mund-, Kiefer-und Gesichtschirurgie*: Springer; 2013.
57. Huchzermeyer F, Cooper J. Fibriscess, not abscess, resulting from a localised inflammatory response to infection in reptiles and birds. *The Veterinary record*. 2000;147(18):515.
58. Comolli JR, Olsen HMM, Seguel M, Schnellbacher RW, Fox AJ, Divers SJ, Sakamoto K. Ameloblastoma in a wild black rat snake (*Pantherophis alleghaniensis*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2015;27(4):536-9.

59. Kloth C, Horger M, Bösmüller H, Haap M, Ioanoviciu S, editors. Benign and malignant disorders of the jaw–Benigne und maligne Knochenläsionen des Kiefers. RÖFo-Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren; 2016: Georg Thieme Verlag KG.
60. Dittmer KE, French AF, Thompson DJ, Buckle KN, Thompson KG. Primary bone tumors in birds: a review and description of two new cases. *Avian Diseases*. 2012;56(2):422-6.
61. Reece RL. Observations on naturally occurring neoplasms in birds in the state of Victoria, Australia. *Avian Pathol*. 1992;21(1):3-32.
62. Gál J, Jakab C, Balogh B, Toth T, Farkas B. First occurrence of periosteal chondroma (juxtacortical chondroma) in *Uromastyx maliensis* (Reptilia: Sauria: Agamidae). *Acta veterinaria Hungarica*. 2007;55(3):327-31.
63. Dietz J, Heckers KO, Pees M, Aupperle H. Bone tumours in lizards and snakes. A rare clinical finding. *Tieraerztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere*. 2015;43(1):31-9.
64. Riddell C. Skeletal deformities in poultry. *Advances in veterinary science and comparative medicine*. 1981.
65. Schmidt-Ukaj S, Hochleithner M, Richter B, Hochleithner C, Brandstetter D, Knotek Z. A survey of diseases in captive bearded dragons: A retrospective study of 529 patients. *Veterinari Medicina*. 2017;62(9):508-15.
66. Gylstorff I. GF. *Vogelkrankheiten* Ulmer, Stuttgart 1998. 359-61 p.
67. Huchzermeyer F. Diseases of farmed crocodiles and ostriches. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*. 2002;21(2):265-76.
68. Kirkwood J. Twisting and bending deformities of the long bones in growing birds. *Avian Medicine London: Mosby*. 2000:173-7.
69. Kreeger T, Walser M. Carpometacarpal deformity in giant Canada geese (*Branta canadensis maxima* Delacour). *Journal of wildlife diseases*. 1984;20(3):245-8.
70. Rothschild BM, Panza RK. Epidemiologic assessment of trauma-independent skeletal pathology in non-passerine birds from museum collections. *Avian Pathol*. 2005;34(3):212-9.
71. Ippen R. Vergleichend pathologische Betrachtungen über einige Knochenerkrankungen bei Reptilien. *Zbl Allg Path*. 1966;108:424-34.

72. Frye F. Common pathologic lesions and disease processes: neoplasia. *Reptile care*. 1991;2:530-619.
73. Cardoso JFR, Levy MGB, Liparisi F, Romao MAP. Osteoma in a Blue-Fronted Amazon Parrot (*Amazona aestiva*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 2013;27(3):218-21.
74. Rothschild BM, Ruhli FJ. Comparison of arthritis characteristics in lowland Gorilla gorilla and mountain Gorilla beringei. *Am J Primatol*. 2005;66(3):205-18.
75. Hahn K, Jones M, Petersen M, Patterson M. Clinical and pathological characterization of an osteoma in a barred owl. *Avian pathology: journal of the WVPA*. 1998;27(3):306.
76. Efron M, Griner L, Benirschke K. Nature and rate of neoplasia found in captive wild mammals, birds, and reptiles at necropsy. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1977;59(1):185-98.
77. Reece R. Some observations on naturally occurring neoplasms of domestic fowls in the State of Victoria, Australia (1977-87). *Avian pathology: journal of the WVPA*. 1996;25(3):407.
78. Page-Karjian A, Hahne M, Leach K, Murphy H, Lock B, Rivera S. Neoplasia in snakes at zoo Atlanta during 1992-2012. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2017;48(2):521-4.
79. Frye FL, Modrý D, Široký P. Pathology In Practice. Primary osteoma cutis (benign). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2009;235(5):511-2.
80. Wolff EDS. Oral pathology of the archosauria bony abnormalities and phylogenetic inference [Dissertation]. Bozeman, Montana: Montana State University 2007.
81. Keymer I. Diseases of chelonians: necropsy survey of terrapins and turtles. *The Veterinary Record*. 1978;103(26-27):577-82.
82. Pattison M, McMullin P, Bradbury JM. *Poultry diseases*: Elsevier Health Sciences; 2008.
83. Halliwell WH. Diseases of birds of prey. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1979;9(3):541-68.
84. Crespo R, Shivaprasad H. Developmental, metabolic, and other noninfectious disorders. *Diseases of poultry*. 2013:1233-70.

85. Frye FL. Husbandry, medicine & surgery in captive reptiles. Husbandry, medicine & surgery in captive reptiles. 1973.
86. Nemeth NM, Gonzalez-Astudillo V, Oesterle PT, Howerth EW. A 5-Year Retrospective Review of Avian Diseases Diagnosed at the Department of Pathology, University of Georgia. *J Comp Pathol*. 2016;155(2-3):105-20.
87. Wallach J, Flieg G. Nutritional secondary hyperparathyroidism in captive birds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1969;155(7):1046.
88. Boyer T. Metabolic bone disease. *Reptile medicine and surgery*. 1996:385-92.
89. Mehler S, Bennett R. Oral, dental, and beak disorders of reptiles. *The veterinary clinics of North America Exotic animal practice*. 2003;6(3):477.
90. Klaphake E. A fresh look at metabolic bone diseases in reptiles and amphibians. *The veterinary clinics of North America Exotic animal practice*. 2010;13(3):375.
91. Hubbard G, Schmidt R, Fletcher K. Neoplasia in zoo animals. *The Journal of Zoo Animal Medicine*. 1983;14(1):33-40.
92. Rothschild BM, Tanke D, Hershkovitz I, Schultz M. Mesozoic neoplasia: origins of haemangioma in the Jurassic age. *The Lancet*. 1998;351(9119).
93. Senter P, Juengst SL. Record-Breaking Pain: The Largest Number and Variety of Forelimb Bone Maladies in a Theropod Dinosaur. *Plos One*. 2016;11(2).
94. Rothschild BM, Ruhli FR. Comparative frequency of osseous macroscopic pathology and first report of gout in captive and wild-caught ratites. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2007;54(5):265-9.
95. Mendyk RW, Newton AL, Baumer M. A retrospective study of mortality in varanid lizards (Reptilia: Squamata: Varanidae) at the Bronx Zoo: Implications for husbandry and reproductive management in zoos. *Zoo biology*. 2013;32(2):152-62.
96. Rothschild B, Tanke D, Carpenter K. Tyrannosaurs suffered from gout. *Nature*. 1997;387(6631):357.
97. Oliveira INF, Gomes RCF, Dos Santos RR, Oliveira TdP, Pereira LLC, Mainenti P. Gout of the temporomandibular joint: report of a case. *International archives of otorhinolaryngology*. 2014;18:316-8.
98. McCracken H, Fowler M, Miller R. Periodontal disease in lizards. *Zoo and wild animal medicine: current therapy*. 1999;4:252-7.
99. Williams J. Orthopedic radiography in exotic animal practice. *The veterinary clinics of North America Exotic animal practice*. 2002;5(1):1-22.

100. Santos GGC, Matuella GA, Coraiola AM, Silva LCS, Lange RR, Santin E. Diseases of wild birds diagnosed at the Federal University of Parana, Brazil (2003-2007). *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 2008;28(11):565-70.
101. Mitchell MA. Diagnosis and management of reptile orthopedic injuries. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*. 2002;5(1):97-114.
102. Sack A, Butler E, Cowen P, Lewbart GA. Morbidity and mortality of wild turtles at a north carolina wildlife clinic: a 10-year retrospective. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2017;48(3):716-24.
103. Anne J, Garwood RJ, Lowe T, Withers PJ, Manning PL. Interpreting pathologies in extant and extinct archosaurs using micro-CT. *PeerJ*. 2015;3:e1130.
104. Bell PR, Coria RA. Palaeopathological survey of a population of *Mapusaurus* (Theropoda: Carcharodontosauridae) from the Late Cretaceous Huincul Formation, Argentina. *PLoS One*. 2013;8(5):e63409.
105. Morishita TY, Aye PP, Brooks DL. A survey of diseases of raptorial birds. *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 1997:77-92.
106. de Souza SO, Casagrande RA, Guerra PR, Cruz CE, Veit E, Cardoso MR, Driemeier D. Osteomyelitis caused by *Salmonella enterica* serovar derby in boa constrictor. *J Zoo Wildl Med*. 2014;45(3):642-4.
107. Gartrell B, Hare K. Mycotic dermatitis with digital gangrene and osteomyelitis, and protozoal intestinal parasitism in Marlborough green geckos (*Naultinus manukanus*). *New Zealand veterinary journal*. 2005;53(5):363-7.
108. Ramsay EC, Daniel GB, Tryon BW, Merryman JI, Morris PJ, Bemis DA. Osteomyelitis associated with *Salmonella enterica* SS arizonae in a colony of ridgenose rattlesnakes (*Crotalus willardi*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2002:301-10.
109. Rothschild BM. Paravertebral masses in blue-tailed monitor, *Varanus dorianus*, indicative of soft-tissue infection with associated osteomyelitis. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2014;45(1):47-52.
110. García RA, Cerda IA, Heller M, Rothschild BM, Zurriaguz V. The first evidence of osteomyelitis in a sauropod dinosaur. *Lethaia*. 2017;50(2):227-36.
111. Gonzalez R, Gallina PA, Cerda IA. Multiple paleopathologies in the dinosaur *Bonitasaura salgadoi* (Sauropoda: Titanosauria) from the Upper Cretaceous of Patagonia, Argentina. *Cretaceous Research*. 2017;79:159-70.

112. McWhinney LA, Rothschild BM, Carpenter K. Posttraumatic chronic osteomyelitis in *Stegosaurus* dermal spikes. *The armored dinosaurs*. 2001:141-56.
113. Romo-de-Vivar-Martínez PR, Martinelli AG, Paes Neto VD, Soares MB. Evidence of osteomyelitis in the dentary of the late Triassic rhynchocephalian *Clevosaurus brasiliensis* (Lepidosauria: Rhynchocephalia) from southern Brazil and behavioural implications. *Historical Biology*. 2016;29(3):320-7.
114. Madsen Jr JH. *Allosaurus fragilis*: a revised osteology. *Utah Geological and Mining Survey Bulletin*. 1976;109:1-163.
115. McWhinney L, Carpenter K, Rothschild B. 25. Dinosaurian Humeral Periostitis: A Case of a Juxtacortical Lesion in the Fossil Record. 2001.
116. Eyrich GK, Baltensperger MM, Bruder E, Graetz KW. Primary chronic osteomyelitis in childhood and adolescence: a retrospective analysis of 11 cases and review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003;61(5):561-73.
117. Cooper JE. *Birds of prey. Birds of prey: health & disease 3rd ed* Oxford: Blackwell Science Ltd. 2002:121-31.
118. Tanke DH, Currie PJ. Head-biting behavior in theropod dinosaurs: paleopathological evidence. *GAIA: revista de geociências*. 1998(15):167-84.
119. Barker CT, Naish D, Newham E, Katsamenis OL, Dyke G. Complex neuroanatomy in the rostrum of the Isle of Wight theropod *Neovenator salerii*. *Scientific reports*. 2017;7(1):3749.
120. Hone DWE, Tanke DH. Pre- and postmortem tyrannosaurid bite marks on the remains of *Daspletosaurus* (Tyrannosaurinae: Theropoda) from Dinosaur Provincial Park, Alberta, Canada. *Peerj*. 2015;3.
121. Peterson JE, Henderson MD, Scherer RP, Vittore CP. Face biting on a juvenile tyrannosaurid and behavioral implications. *Palaios*. 2009;24(11):780-4.
122. Wolff EDS, Salisbury SW, Horner JR, Varricchio DJ. Common Avian Infection Plagued the Tyrant Dinosaurs. *Plos One*. 2009;4(9).
123. Reavill DR. Review of musculoskeletal pathology in reptiles. *Proc ARAV*. 2014:86-96.
124. Reisz RR, Scott DM, Pynn BR, Modesto SP. Osteomyelitis in a Paleozoic reptile: ancient evidence for bacterial infection and its evolutionary significance. *Naturwissenschaften*. 2011;98(6):551-5.

125. Schulp AS, Walenkamp G, Hofman P, Stuip Y, Rothschild BM. Chronic bone infection in the jaw of *Mosasaurus hoffmanni* (Squamata). *Oryctos*. 2006;6:41-52.
126. Plowman CA, Montali RJ, Phillips LG, Schlater LK, Lowenstine LJ. Septicemia and chronic abscesses in iguanas (*Cyclura cornuta* and *Iguana iguana*) associated with a *Neisseria* species. *The Journal of Zoo Animal Medicine*. 1987:86-93.
127. Schlumberger HG. Comparative pathology of oral neoplasms. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 1953;6(9):1078-94.
128. Ramsay EC, Munson L, Lowenstine L, Fowler ME. A retrospective study of neoplasia in a collection of captive snakes. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 1996;27(1):28-34.
129. Dietz J, Heckers KO, Aupperle H, Pees M. Cutaneous and Subcutaneous Soft Tissue Tumours in Snakes: A Retrospective Study of 33 Cases. *J Comp Pathol*. 2016;155(1):76-87.
130. Garner MM, Hernandez-Divers SM, Raymond JT. Reptile neoplasia: A retrospective study of case submissions to a specialty diagnostic service. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2004;7(3):653-71.
131. Sykes JM, Trupkiewicz JG. Reptile neoplasia at the Philadelphia Zoological Garden, 1901-2002. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2006;37(1):11-9.
132. Rega E, Brochu C. Paleopathology of a mature *Tyrannosaurus rex* skeleton. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 2001;21(3):92A.
133. Neiburger EJ. Similar mandibular osseous lesions in *Tyrannosaurus rex* and man. *J Mass Dent Soc*. 2005;54(3):14-7.
134. Bell P. A medley of maladies: multiple paleopathologies in a specimen of *Gorgosaurus libratus* (Tyrannosauridae). *Journal of Vertebrate Paleontology*. 2008;28(3):50A-A.
135. Martinelli AG, Teixeira VP, Marinho TS, Fonseca PH, Cavellani CL, Araujo AJ, Ribeiro LC, Ferraz ML. Fused mid-caudal vertebrae in the titanosaur *Uberabatitan ribeiroi* from the Late Cretaceous of Brazil and other bone lesions. *Lethaia*. 2015;48(4):456-62.
136. Erickson GM, Olson KH. Bite marks attributable to *Tyrannosaurus rex*: Preliminary description and implications. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 1996;16(1):175-8.

137. Perry SM, Nevarez JG. Pain and Its Control in Reptiles. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2018;21(1):1-16.
138. Douglas JM, Sanchez-Migallon Guzman D, Paul-Murphy JR. Pain in Birds: The Anatomical and Physiological Basis. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2018;21(1):17-31.
139. Mosley C. Pain and nociception in reptiles. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2011;14(1):45-60.
140. Kato KM, Rega EA, Sidor CA, Huttenlocker AK. Investigation of a bone lesion in a gorgonopsian (Synapsida) from the Permian of Zambia and periosteal reactions in fossil non-mammalian tetrapods. *Philosophical Transactions of the Royal Society B.* 2020;375(1793):20190144 %@ 0962-8436.
141. Goodrum MR. Fluorine Dating. In *Encyclopedia of Geoarchaeology* (Ed Gilbert AS): Dordrecht: Springer Netherlands; 2017. p. 275-6.
142. Desai MA, Peterson JJ, Garner HW, Kransdorf MJ. Clinical utility of dual-energy CT for evaluation of tophaceous gout. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc.* 2011;31(5):1365-75.
143. Diekhoff T, Kiefer T, Stroux A, Pilhofer I, Juran R, Mews J, Blobel J, Tsuyuki M, Ackermann B, Hamm B. Detection and characterization of crystal suspensions using single-source dual-energy computed tomography: a phantom model of crystal arthropathies. *Investigative radiology.* 2015;50(4):255-60.
144. Keenan SW. From bone to fossil: A review of the diagenesis of bioapatite. *American Mineralogist.* 2016;101(9):1943-51.
145. Bailleul A, Ségalen L, Buscalioni AD, Cambra-Moo O, Cubo J. Palaeohistology and preservation of tetrapods from Las Hoyas (lower cretaceous, Spain). *Comptes Rendus Palevol.* 2011;10(5-6):367-80.
146. Piga G, Santos-Cubedo A, Solà SM, Brunetti A, Malgosa A, Enzo S. An X-ray Diffraction (XRD) and X-ray Fluorescence (XRF) investigation in human and animal fossil bones from Holocene to Middle Triassic. *Journal of Archaeological Science.* 2009;36(9):1857-68.
147. Previtera E. Diagenetic characterization of dinosaur remains through histology in fluvial contexts from the Upper Cretaceous of the Loncoche Formation, Mendoza, Argentina. *Ameghiniana.* 2019;56(2):135-52.
148. Roche D, Ségalen L, Balan E, Delattre S. Preservation assessment of Miocene–Pliocene tooth enamel from Tugen Hills (Kenyan Rift Valley) through FTIR,

- chemical and stable-isotope analyses. *Journal of Archaeological Science*. 2010;37(7):1690-9.
149. Trueman CN, Tuross N. Trace elements in recent and fossil bone apatite. *Reviews in mineralogy and geochemistry*. 2002;48(1):489-521.
 150. Berger R, Protsch R. *Fluorine dating*: Dordrecht: Kluwer Academic; 1991. 251-70 p.
 151. Lyman RL, Rosania CN, Boulanger MT. Comparison of fluoride and direct AMS radiocarbon dating of black bear bone from Lawson Cave, Missouri. *Journal of field archaeology*. 2012;37(3):226-37.
 152. Anné J, Hedrick BP, Schein JP. First diagnosis of septic arthritis in a dinosaur. *Royal Society Open Science*. 2016;3(8).
 153. Arbour VM, Currie PJ. Tail and pelvis pathologies of ankylosaurian dinosaurs. *Historical Biology*. 2011;23(4):375-90.
 154. Wolff EDS. *Oral pathology of the Archosauria: bony abnormalities and phylogenetic inference*: Montana State University-Bozeman, College of Letters & Science; 2007.
 155. Wopenka B, Pasteris JD. A mineralogical perspective on the apatite in bone. *Materials Science and Engineering: C*. 2005;25(2):131-43.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Charlie Alexander Hamm, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

„Einsatz und Evaluation computertomographischer Methoden zur zerstörungsfreien Analyse fossiler Knochen und Erforschung der Evolution ossärer Pathologien

Non-destructive analysis of fossil bones and insights into the evolution of osseous pathologies using computed tomography“

selbstständig 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/innen 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.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

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

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

_____ Datum

_____ Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Charlie Alexander Hamm hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Vorarbeit

Charlie A. Hamm, Heinrich Mallison, Oliver Hampe, Daniela, Jürgen Mews, Jörg Blobel, Ahi Sema Issever, Patrick Asbach

Efficiency, workflow and image quality of clinical computed tomography scanning compared to photogrammetry on the example of a *Tyrannosaurus rex* skull from the Maastrichtian of Montana, U.S.A. *Journal of Paleontological Techniques*, 2018

Beitrag im Einzelnen: Als Erstautor erfolgte durch Charlie A. Hamm die Begleitung und Durchführung der CT-Untersuchung der Schädelknochen des *T. rex* am Campus Mitte – Charité Universitätsmedizin Berlin, die Protokollierung und Analyse der Arbeitsabläufe, die Literaturrecherche und Erstellung der Abbildungen 1 & 3 sowie der Tabelle 1, die Dateninterpretation, die Manuskripterstellung, -einreichung und -revision.

1. Publikation

Charlie A. Hamm, Oliver Hampe, Daniela Schwarz, Florian Witzmann, Peter J. Makovicky, Christopher A. Brochu, Rolf Reiter, Patrick Asbach

A comprehensive diagnostic approach combining phylogenetic disease bracketing and CT imaging reveals osteomyelitis in a *Tyrannosaurus rex*. *Scientific reports*, 2020

Beitrag im Einzelnen: Als Erstautor erfolgte durch Charlie A. Hamm die Untersuchung des *T. rex* Skeletts im Field Museum, Chicago, IL, USA, die Leitung und Planung der CT-Untersuchung der Knochen am Richard and Loan Hill Department of Bioengineering, University of Illinois, Chicago, IL, USA, die Literaturrecherche zu NADs, NARs, Vögeln und Menschen, die Analyse gepoolter Daten aus der Literatur (einschließlich der Zahlen in Abbildung 6 und allen Tabellen) und Erstellung der Abbildungen 1-5, die Überarbeitung der Abbildung 6, die Dateninterpretation, die Manuskripterstellung, -einreichung und -revision.

2. Publikation

Charlie A. Hamm, Oliver Hampe, Jürgen Mews, Christina Günter, Ralf Milke, Florian Witzmann, Lynn J. Savic, Lutz Hecht, Sabine Meister, Bernd Hamm, Patrick Asbach, Torsten Diekhoff

Quantitative dual-energy CT as a nondestructive tool to identify indicators for fossilized bone in vertebrate paleontology. *Scientific reports*, 2022

Beitrag im Einzelnen: Als Erstautor erfolgte durch Charlie A. Hamm die Untersuchung der verwendeten Knochen und die Erstellung des Knochenpulvers vom Rinder- und *T. rex*-Knochen im Museum für Naturkunde, Berlin, die Leitung und Planung der CT-Untersuchung der Knochen und Kalibrierungsmaterialien am Campus Mitte – Charité Universitätsmedizin Berlin, die angeleitete Durchführung der multimodalen Knochenanalyse an der Freien Universität Berlin und der Universität Potsdam, die Auswertung und Verarbeitung der Bilddatensätze, die statistische Analyse, die Literaturrecherche, die Erstellung der Abbildungen 1-6 sowie der Tabelle 1, die Dateninterpretation, die Manuskripterstellung, -einreichung und -revision.

ISI-Weblisten und Druckexemplare der Publikationen

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2018** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **"MULTIDISCIPLINARY SCIENCES"** Selected Category
 Scheme: WoS

Gesamtanzahl: 69 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	NATURE	745,692	43.070	1.285010
2	SCIENCE	680,994	41.037	1.070190
3	National Science Review	1,842	13.222	0.006500
4	Science Advances	21,901	12.804	0.110010
5	Nature Communications	243,793	11.878	1.103290
6	Nature Human Behaviour	1,230	10.575	0.006550
7	PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA	661,118	9.580	1.022190
8	Science Bulletin	3,569	6.277	0.009840
9	Scientific Data	3,240	5.929	0.015610
10	Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	1,994	5.122	0.006540
11	Journal of Advanced Research	2,691	5.045	0.004780
12	Research Synthesis Methods	1,932	5.043	0.005420
13	GigaScience	2,674	4.688	0.012510
14	Annals of the New York Academy of Sciences	46,385	4.295	0.025840
15	Scientific Reports	302,086	4.011	1.061540
16	Journal of the Royal Society Interface	12,933	3.224	0.029190
17	NPJ Microgravity	203	3.111	0.000670
18	PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY A-MATHEMATICAL PHYSICAL AND ENGINEERING SCIENCES	19,227	3.093	0.028200

Publikation 1

Hamm CA., Hampe O., Schwarz D., Witzmann F., Makovicky PJ., Brochu CA., Reiter R., Asbach P.

A comprehensive diagnostic approach combining phylogenetic disease bracketing and CT imaging reveals osteomyelitis in a *Tyrannosaurus rex*.

Scientific Reports 10, 18897 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75731-0>

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2020** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **"MULTIDISCIPLINARY SCIENCES"** Selected Category
 Scheme: WoS

Gesamtanzahl: 73 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	NATURE	915,925	49.962	1.089400
2	SCIENCE	814,971	47.728	0.895760
3	National Science Review	5,889	17.275	0.011400
4	Nature Communications	453,215	14.919	1.238540
5	Science Advances	65,205	14.136	0.218640
6	Nature Human Behaviour	5,549	13.663	0.023120
7	Science Bulletin	8,832	11.780	0.016400
8	PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA	799,058	11.205	0.806620
9	Journal of Advanced Research	5,927	10.479	0.006800
10	GigaScience	5,876	6.524	0.018630
11	Scientific Data	10,617	6.444	0.034470
12	Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	7,470	5.890	0.011340
13	ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES	52,619	5.691	0.021430
14	iScience	5,235	5.458	0.012300
15	Research Synthesis Methods	3,926	5.273	0.007520
16	NPJ Microgravity	594	4.415	0.001790
17	Scientific Reports	541,615	4.379	1.232500
18	PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY A-MATHEMATICAL PHYSICAL AND ENGINEERING SCIENCES	24,950	4.226	0.025400

Publikation 2

Hamm CA., Hampe O., Mews J., Günter C., Milke R., Witzmann F., Savic LJ., Hecht L., Meister S., Hamm B., Asbach P., Diekhoff T.

Quantitative dual-energy CT as a nondestructive tool to identify indicators for fossilized bone in vertebrate paleontology.

Scientific Reports 12, 16407 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20707-5>

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

Komplette Publikationsliste

Peer-Reviewed Originalarbeiten

1. **Hamm CA.**, Baumgärtner GL., Biessmann F., Beetz NL., Hartenstein A., Savic LJ., Froböse K., Dräger F., Schallenberg S., Rudolph M., Baur ADJ., Hamm B., Haas M., Hofbauer S., Cash H., Penzkofer T.
Interactive explainable deep learning model informs prostate cancer diagnosis at MRI
Radiology (2023): 222276.
- IF: 29,146
2. **Hamm CA.**, Busch F., Pöhlmann A., Shewarega A., He Y., Schmidt S., Xu H., Wieners G., Gebauer B., Savic LJ.
Non-invasive imaging biomarkers to predict the hepatopulmonary shunt fraction before transarterial radioembolization in patients with hepatocellular carcinoma
Journal of Hepatocellular Carcinoma (2023): 10:, 27-42
- IF: 4,962
- *geteilte Erstautorenschaft
3. **Hamm CA.**, Hampe O., Mews J., Günter C., Milke R., Witzmann F., Savic LJ., Hecht L., Meister S., Hamm B., Asbach P., Diekhoff T.
Quantitative dual-energy CT as a nondestructive tool to identify indicators for fossilized bone in vertebrate paleontology
Scientific Reports (2022): 12;16407
- IF: 4,996
4. **Hamm CA.**, Hampe O., Schwarz D., Witzmann F., Makovicky PJ., Brochu CA., Reiter R., Asbach P.
A comprehensive diagnostic approach combining phylogenetic disease bracketing and CT imaging reveals osteomyelitis in a *Tyrannosaurus rex*.
Scientific Reports (2020): 3;10(1):18897
- IF: 4,379
5. **Hamm CA.***, Wang CJ.*, Savic LJ., Ferrante M., Schobert I., Schlachter T., Lin M., Duncan JS., Weinreb JC., Chapiro J., Letzen B.
Deep learning for liver tumor diagnosis part I: development of a convolutional neural network classifier for multi-phasic MRI.
European Radiology (2019): 29(7):3338-47
- IF: 4,027
- *geteilte Erstautorenschaft
6. Wang CJ.*, **Hamm CA.***, Savic LJ., Ferrante M., Schobert I., Schlachter T., Lin M., Duncan JS., Weinreb JC., Chapiro J., Letzen B.
Deep learning for liver tumor diagnosis part II: convolutional neural network interpretation using radiologic imaging features.
European Radiology (2019): 29(7):3348-57
- IF: 4,027
- *geteilte Erstautorenschaft

7. **Hamm CA.**, Mallison H., Hampe O., Schwarz D., Mews J., Blobel J., Issever AS., Asbach P.
Efficiency, workflow and image quality of clinical computed tomography scanning compared to photogrammetry on the example of a *Tyrannosaurus rex* skull from the Maastrichtian of Montana, U.S.A.
 Journal of Paleontological Techniques (2018): 21: 1-13
 - Nischen-Journal ohne IF

8. Savic LJ., Chen E., Nazami N., Murali N., **Hamm CA.**, Wang C., Lin M., Schlachter T., Hong K., Georgiades C., Chapiro J., Laage Gaupp FM.
Conventional vs. drug-eluting beads transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma-a propensity score weighted comparison of efficacy and safety.
 Cancers (2022): 14(23), 5847.
 - IF: 6,575

9. Beetz NL., Dräger F., **Hamm CA.**, Shnayien S., Rudolph MM., Froböse K., Elezkurtaj S., Haas M., Asbach P., Hamm B., Mahjoub S., Konietzschke F., Wechsung M., Balzer F., Cash H., Hofbauer S., Penzkofer T.
MRI-targeted biopsy cores from prostate index lesions: assessment and prediction of the number needed
 Prostate Cancer and Prostatic Diseases (2022): 1-9.
 - IF: 5,455

10. Beetz NL., Haas M., Baur A., Konietzschke F., Roy A., **Hamm CA.**, Rudolph M., Shnayien S., Hamm B., Cash H., Asbach P., Penzkofer T.
Inter-reader variability using PI-RADS v2 versus PI-RADS v2. 1: most new disagreement stems from scores 1 and 2.
 RöFo-Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren (2022)
 - IF: 2,03

11. Xu H., Schmidt R., **Hamm CA.**, Schobert IT., Yubei He Y., Böning G., Jonczyk M., Hamm B., Gebauer B., Savic LJ.
Comparison of intrahepatic progression patterns of hepatocellular carcinoma and colorectal liver metastases following CT-guided high dose-rate brachytherapy.
 Therapeutic Advances in Medical Oncology (2021)
 - IF: 8,168

12. Oestmann PM., Wang CJ., Savic LJ., **Hamm CA.**, Stark S., Schobert I., Gebauer B., Schlachter T., Lin M., Weinreb JC., Batra R., Mulligan D., Zhang X., Duncan JS., Chapiro J.
Deep learning-assisted differentiation of pathologically proven atypical and typical hepatocellular carcinoma (HCC) versus non-HCC in contrast enhanced liver MRI.
 European Radiology (2021): 31, 4981–4990
 - IF: 5,315

13. Doemel LA., Santana JG., Savic LJ., Gaupp FML., Borde T., Petukhova-Greenstein A., Kucukkaya AS., Schobert IT., **Hamm CA.**, Gebauer B., Walsh

JJ., Rexha I., Hyder F., Lin M., Madoff DC., Schlachter T., Chapiro J., Coman D.

Comparison of metabolic and immunologic responses to transarterial chemoembolization with different chemoembolic regimens in a rabbit VX2 liver tumor model.

European Radiology (2021): 1-11

- IF: 5,315

14. Savic LJ., Schobert IT., **Hamm CA.**, Adam LC., Hyder F., Coman D.
A high-throughput imaging platform to characterize extracellular pH in organotypic three-dimensional in vitro models of liver cancer.

NMR in Biomedicine (2020): 22:e4465.

- IF: 4,044

15. Rudolph MM., Baur ADJ., Cash H., Haas M., Mahjoub S., Hartenstein A., **Hamm CA.**, Beetz NL., Konietschke F., Hamm B., Asbach P., Penzkofer T.
Diagnostic performance of PI-RADS version 2.1 compared to version 2.0 for detection of peripheral and transition zone prostate cancer.

Scientific Reports (2020):10(1):15982.

- IF: 4,379

16. Savic LJ., Schobert I., Peters D., Walsh J., Laage-Gaupp F., **Hamm CA.**, Tritz N., Doemel LA., Lin M., Sinusas A., Schlachter T., Duncan JS., Hyder F., Coman D., Chapiro J.

Molecular imaging of extracellular tumor pH to reveal and monitor effects of loco-regional therapy on liver cancer microenvironment.

Clinical Cancer Research (2019): clincanres-1702

- IF: 10,199

17. Schobert I., Chapiro J., Nezami N., **Hamm CA.**, Gebauer B., Lin M., Pollak J., Saperstein L., Schlachter T., Savic LJ.

Quantitative imaging biomarkers for (90)y distribution on Bremsstrahlung SPECT after resin-based radioembolization.

J Nucl Med. (2019): 60(8):1066-72

- IF: 7,354

18. Wang CJ., **Hamm CA.**, Letzen BS., Duncan JS.

A probabilistic approach for interpretable deep learning in liver cancer diagnosis.

Proc. SPIE 10950, Medical Imaging: Computer-Aided Diagnosis (2019)

Peer-Reviewed Übersichtsarbeiten

19. **Hamm CA.**, Beetz NL., Savic LJ., Penzkofer T.

Künstliche Intelligenz und Radiomics in der MRT-basierten Prostatadiagnostik.

Radiologe (2020): 60, 48–55

- IF: 0,413

1. **Hamm CA.**, Baumgärtner LG., Froböse KP., Dräger F., Beetz NL., Hartenstein A., Savic LJ., Maxeiner A., Asbach P., Penzkofer T.
Prostate cancer detection on MRI using PSAD: additional benefit from zone-specific analyses?
Annual Meeting of the European Society of Urogenital Radiology (ESUR; Athen, Griechenland) & Radiological Society of North America (RSNA; Chicago, IL, USA), Oktober & November 2022
2. **Hamm CA.**, Hampe O., Milke R., Günter C., Savic LJ., Asbach P., Diekhoff T.
Quantitative dual-energy CT reveals fluorine as a noninvasive biomarker for osteomyelitis in a *Tyrannosaurus rex*
Annual Meeting of the Radiological Society of North America (RSNA), November 2021, Chicago, IL, USA
3. **Hamm CA.**, Baumgärtner LG., Beetz NL., Hartenstein A., Hosten N., Asbach P., Biessmann F., Penzkofer T.
Development of a prostate cancer diagnosis tool with deep neural networks: explainable deep learning using PI-RADS imaging features
Annual Meeting of the Radiological Society of North America (RSNA), November 2021, Chicago, IL, USA
4. **Hamm CA.**, Hartenstein A., Beetz NL., Cash H., Asbach P., Penzkofer T.
Deep learning-assisted diagnosis of prostate lesions on bi-parametric MRI: results in a large histopathologically correlated dataset with negative controls
Annual Meeting of the Radiological Society of North America (RSNA), November 2020, Chicago, IL, USA (online Veranstaltung)
5. **Hamm CA.**, Hartenstein A., Wang C., Beetz NL., Cash H., Asbach P., Penzkofer T.
Interpretable deep learning classification of prostate cancer on MRI
AI-Hackathon, Annual Meeting of the Society of Interventional Oncology (SIO), Januar 2020, New Orleans, LA, USA
6. **Hamm CA.**, Wang C., Savic LJ., Ferrante M., Schobert I., Schlachter T., Lin MD., Duncan Js., Weinreb JC., Chapiro J., Letzen BS.
Development of a liver tumor diagnosis tool with deep neural networks: radiologist-level results with artificial intelligence
Annual Meeting of the Radiological Society of North America (RSNA), November 2018, Chicago, IL, USA
7. **Hamm CA.**, Mews J., Issever AS., Asbach P.
Computertomographie-Bildgebung als Untersuchungsinstrument in der Paläontologie - Der Schädel eines *Tyrannosaurus rex* in einem klinischen CT-Scanner
European Congress of Radiology (ECR), März 2018, Wien, Österreich

Danksagung

Besonderer Dank gebührt meinen Betreuern Herrn Prof. Dr. Patrick Asbach und Frau PD Dr. Ahi Sema Issever für die Überlassung des interessanten und komplexen Themas und ihr Engagement bei der Planung und Durchführung meiner wissenschaftlichen Arbeit. Insbesondere möchte ich mich bei Prof. Dr. Patrick Asbach bedanken, der durch das Heranführen an die bildbasierte paläopathologische Diagnostik diese Forschungsarbeit erst ermöglichte. Seine stete und motivierende Unterstützung weiß ich sehr zu schätzen. Darüber hinaus gilt ihm mein besonderer Dank für sein Interesse an meiner Forschungstätigkeit und seine Bereitschaft, meinen wissenschaftlichen Werdegang bestmöglich zu unterstützen. Ich bin dankbar, dass mich Prof. Dr. Patrick Asbach zudem an die MRT-basierte Prostatadiagnostik herangeführt hat und mich seither als klinischer und wissenschaftlicher Mentor begleitet.

Zudem möchte ich mich bei PD Dr. Torsten Diekhoff für die umfangreiche Betreuung und die angenehme Zusammenarbeit bedanken. Seine fachliche-kompetente Unterstützung sowie seine positive Einstellung haben mich in meinen wissenschaftlichen Vorhaben stets gestärkt. Auch Herrn Jürgen Mews gilt mein ganz besonderer Dank, der durch geduldige und wiederholende Erklärungen mir die physikalischen Grundsätze der Computertomographie näher bringen konnte und die vielen CT-Untersuchungen begleitet hat.

Großer Dank gilt PD Dr. Oliver Hampe vom Museum für Naturkunde Berlin, der mir jederzeit für konstruktive und zielführende Gespräche zur Verfügung stand. Ich habe den interdisziplinären Austausch sehr genossen und empfand die Einblicke in die Welt der Paläontologie und des Museums für Naturkunde als ein Privileg. Herr Hampe stand mir bei allen „Dinosaurier-Fragen“ mit Rat und Tat freundschaftlich zur Seite.

In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch bei den renommierten Museen (Field Museum (Chicago, USA) & Museum für Naturkunde (Berlin, Deutschland)) und den Besitzern des *T. rex* „Tristan Otto“ Niels Nielsen und Jens Peter Jensen für die Bereitstellung der Fossilien danken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Mein größter Dank gilt meiner Familie und insbesondere meinen Eltern, die mir meine bisherige Ausbildung ermöglicht haben und mich immer mit größtmöglicher Unterstützung begleitet haben. Zuletzt möchte ich mich bei meiner Freundin Lynn Jeanette Savic und Ihrer Familie bedanken, welche mich durch motivierende Worte und ein offenes Ohr stets unterstützt haben.