

*Aus dem CharitéCentrum  
für Diagnostische und Interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin,  
Klinik für Radiologie (mit dem Bereich Kinderradiologie)  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Bernd Hamm*

## **HABILITATIONSSCHRIFT**

### **Quantitative Bildgebung mittels Fraktal-Analyse zur Charakterisierung der Perfusion bei Neoplasie, Ischämie und Inflammation**

*zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach*

### **Radiologie**

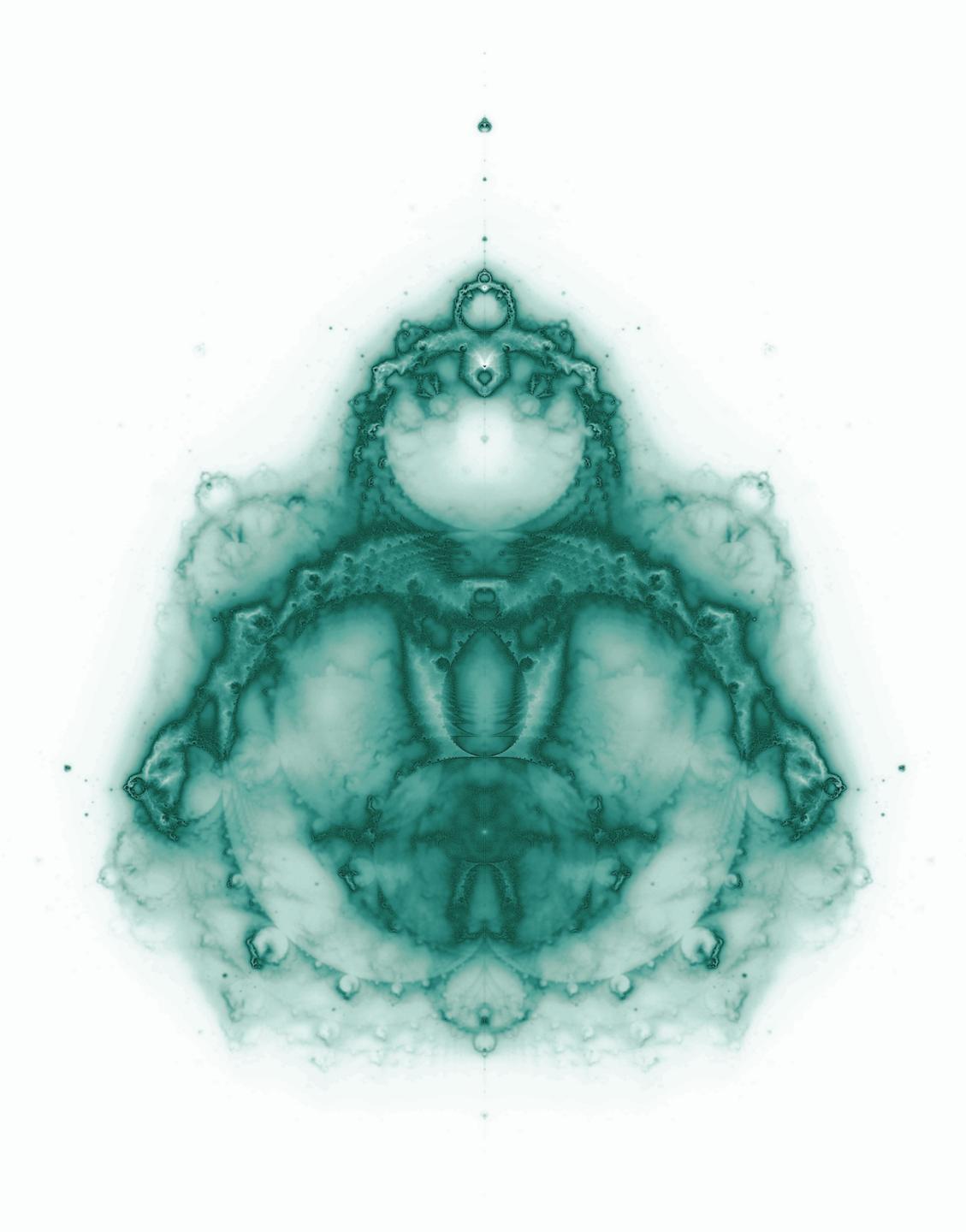
*vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin*

*von*

**Dr. med. Florian Michallek**

*Eingereicht:* Mai 2022  
*Dekan:* Professor Dr. med. Axel R. Pries  
*1. Gutachter:* Professor Dr. med. Konstantin Nikolaou  
*2. Gutachter:* Professor Dr. med. Ralf-Thorsten Hoffmann





**Buddhabrot-Fraktal.** Darstellung der Trajektorien jener komplexen Zahlen, welche bei der iterativen Bestimmung der Mandelbrot-Menge ins Unendliche zu divergieren scheinen.

*Darstellung: Eigene Arbeit.*



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>7</b>
1.1	FRAKTALE GEOMETRIE UND DAS GEFÄßSYSTEM .....	7
1.2	PERFUSIONSBILDGEBUNG.....	9
1.3	TECHNISCHE ANWENDUNG DER FRAKTAL-ANALYSE .....	11
1.4	PATHOPHYSIOLOGISCHE MOTIVATION.....	14
1.5	HYPOTHESEN.....	15
<b>2</b>	<b>EIGENE ARBEITEN .....</b>	<b>16</b>
2.1	NEOPLASIE .....	16
2.1.1	<i>Fraktal-Analyse zur Vorhersage des Tumorgradings beim Prostatakarzinom – Prinzip und Herleitung (Originalarbeit 1) .....</i>	<i>16</i>
2.1.2	<i>Fraktal-Analyse zur Vorhersage des Tumorgradings beim Prostatakarzinom – klinische Validierung (Originalarbeit 2) .....</i>	<i>30</i>
2.1.3	<i>Fraktal-Analyse zur Visualisierung der vitalen Tumorperipherie beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas (Originalarbeit 3) .....</i>	<i>44</i>
2.2	ISCHÄMIE .....	57
2.2.1	<i>Fraktal-Analyse zur Verbesserung der Detektion chronischer Myokardischämie (Originalarbeit 4).....</i>	<i>57</i>
2.3	INFLAMMATION.....	70
2.3.1	<i>Fraktal-Analyse zum objektiven Grading inflammatorischer Aktivität bei Synovialitis (Originalarbeit 5).....</i>	<i>70</i>
<b>3</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>80</b>
3.1	EVALUATION DER AUSGANGSHYPOTHESEN.....	80
3.1.1	<i>Hypothese 1: Fraktale Perfusionseigenschaften sind in silico reproduzierbar.....</i>	<i>80</i>
3.1.2	<i>Hypothese 2: Die Fraktal-Analyse ist für Routinebildgebung technisch umsetzbar .....</i>	<i>82</i>
3.1.3	<i>Hypothese 3: Die Fraktal-Analyse hat diagnostischen Nutzen in vivo.....</i>	<i>83</i>
3.2	LIMITATIONEN UND POTENZIAL FÜR WEITERE ARBEITEN .....	86
<b>4</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>88</b>

<b>5</b>	<b>IN DIESER HABILITATIONSSCHRIFT ZUSAMMENGEFASSTE VERÖFFENTLICHUNGEN</b>	
	.....	<b>92</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURANGABEN</b> .....	<b>93</b>
	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>98</b>
	<b>ERKLÄRUNG</b> .....	<b>99</b>

### **Abkürzungsverzeichnis**

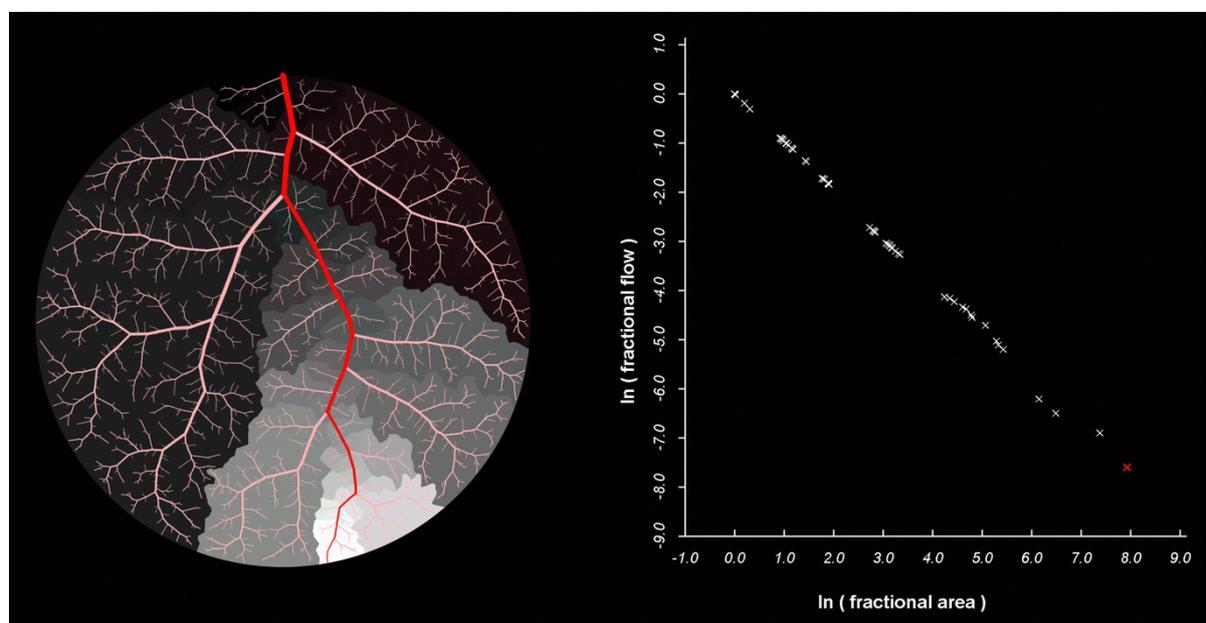
AUC	–	area under the receiver operating curve
CT	–	Computertomographie
FD	–	fraktale Dimension
FFR	–	fraktionelle Flussreserve
INOCA	–	ischemia and non-obstructed coronary arteries
ISUP	–	International Society of Urological Pathology
KHK	–	koronare Herzkrankheit
MRT	–	Magnetresonanztomographie
RAMRIS	–	Rheumatoid Arthritis MRI Scoring System
ROI	–	region of interest

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Fraktale Geometrie und das Gefäßsystem

In seinem Werk „*Die fraktale Geometrie der Natur*“ beleuchtete der Mathematiker Benoît B. Mandelbrot, der den Begriff des Fraktals prägte, natürliche Objekte und Strukturen, die gemeinhin durch ihre Rauheit und geometrische Komplexität auffallen [1]. Neben Küstenlinien, Gebirgen, Wolken oder Blattadern lassen sich auch Blutgefäße als jene komplexen Strukturen auffassen, die mit alltäglicher – euklidischer – Geometrie nur unzureichend beschreibbar wären. Als Gemeinsamkeiten lassen sich Selbstähnlichkeit und Skaleninvarianz feststellen: Ein fraktales Objekt zeigt unabhängig von der Betrachtungsauflösung immer wieder ähnliche Eigenschaften, besteht mithin gar aus Kopien seiner Selbst. Ein berühmtes Beispiel ist der Versuch, die Länge der westlichen Küstenlinie Britanniens anzugeben [2], was mit einem euklidischen Ansatz ohne Information über die Länge des verwendeten Messinstruments schlicht unmöglich ist. In der Tat hängt die Länge einer Küstenlinie vom verwendeten Betrachtungsmaßstab ab – je feingranulärer die Messung, umso mehr gehen auch kleinere Buchten, Felsen, sogar Steine bis hin zu Sandkörnern in die Messung mit ein. Die Verlängerung der Messung mit kleiner werdendem Instrument ist jedoch nicht zufällig, sondern besitzt ein konstantes Verhältnis über viele Skalen hinweg, welches charakteristisch für verschiedene Küstenlinien ist. Daher lässt sich eine Zahl angeben um wie viel länger die Messung der Küstenlinie wird, wenn man die Auflösung vergrößert. Diese Zahl – fraktale Dimension (FD) genannt – beträgt etwa 1,25 für die Westküste Britanniens [2]. Es ergibt sich ein exponentieller Zusammenhang in der Form  $n(\varepsilon) \propto \varepsilon^{-FD}$  mit  $n$  als gemessener Länge,  $\varepsilon$  als Größe des Messinstruments und  $FD$  der fraktalen Dimension. Die fraktale Dimension lässt sich folglich aus einer linearen Regression des bilogarithmischen Zusammenhangs von  $n$  und  $\varepsilon^{-1}$  bestimmen. Eine weitere Implikation der fraktalen Dimension ist, dass sie quantitativen Aufschluss über die „Rauheit“ oder geometrische Komplexität der gemessenen Küstenlinie gibt: Je komplexer die Küstenlinie, d.h. je rauer die Buchten, desto größer ist der gemessene Längenzuwachs mit kleinerem Messinstrument. Abstrahiert lässt sich die fraktale Dimension also als ein quantitatives Maß für diese Komplexität, die auch als „Chaos“ bezeichnet werden kann, interpretieren.

Auch Blutgefäße weisen hinsichtlich ihrer Bifurkationsgeometrie fraktale Eigenschaften im Sinne von Selbstähnlichkeit und Skaleninvarianz auf [3]. Darüber hinaus lassen sich basierend auf der Anatomie funktionelle Perfusionsterritorien definieren mit einem zuführenden Ast und einer entsprechenden Perfusionsrate. Betrachtet man den simulierten Gefäßbaum in **Abb. 1** mit den zugrundeliegenden Perfusionsterritorien auf unterschiedlichen vaskulären Skalen, erhält man unter bilogarithmischer Betrachtung einen linearen Zusammenhang zwischen Größe der Perfusionsterritorien und dem jeweils zugehörigen Blutfluss. Analog zu den Küstenlinien sind also vaskuläre Anatomie und Physiologie (d.h. Perfusion) aufgrund ihrer geometrischen Komplexität mittels fraktaler Geometrie zu beschreiben und damit gewissermaßen inhärent chaotisch.



**Abb. 1.** Simulation von Gefäßbaum und Perfusion. Folgt man bifurkationsweise dem rot markierten Gefäßast und trägt für jedes Gefäßsegment die Größe des zugehörigen Perfusionsterritoriums (Graustufenbild unter dem Gefäßbaum) und den jeweiligen Blutfluss dieses Asts in einem bilogarithmischen Diagramm auf, erhält man einen linearen Zusammenhang. Daraus folgt ein konstantes Verhältnis von Messinstrument (räumliches Ausmaß des Territoriums) und gemessener Eigenschaft (Blutfluss), so dass sich analog zur Küstenlinie eine fraktale Dimension bestimmen lässt. Sowohl Gefäßbaum als auch Perfusion als sein physiologisches Korrelat sind daher fraktal. Quelle: eigene Arbeit, adaptiert aus Originalarbeit 1: Michallek et al. 2021 Eur Radiol [4] (Supplement) Lizenz: CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Der experimentelle Beweis, dass auch Perfusion *in vivo* tatsächlich fraktalen Gesetzmäßigkeiten folgt, gelang u.a. der Gruppe um James B. Bassingthwaighe in einer tierexperimentellen Herangehensweise (z.B. [5; 6]): Myokardgefäße verschiedener Spezies wurde mittels radioaktiver

Mikrosphären *in vivo* markiert und anschließend *ex vivo* in immer kleinere Würfel zerteilt. Diese Würfel wurden in unterschiedlichen Größen und vielfachen Varianten wieder zu größeren Gewebekonglomeraten zusammengesetzt und die Varianz der Radioaktivität (genauer: die relative Dispersion) gemessen. Das Maß an Radioaktivität war dabei ausschließlich perfusionsdeterminiert, da die Mikrosphären sich allein im intravaskulären Kompartiment verteilen konnten. Es zeigte sich, dass die relative Dispersion der Perfusion unabhängig von der Größe der Gewebekonglomerate war, d.h. sie zeigte Skaleninvarianz. Bassingthwaighe et al. erbrachten in diesen und weiteren Experimenten [7] den Nachweis für den fraktalen Charakter der Perfusion.

## 1.2 Perfusionsbildgebung

Um Perfusion nichtinvasiv *in vivo* darstellen zu können, existieren unterschiedliche Ansätze. Neben bestimmten Sequenzen in der Magnetresonanztomographie (MRT), welche auf der Markierung von intravasalen Spins beruhen (arterial spin labelling), verwendet man in der klinischen Bildgebung vor allem Kontrastmittel-gestützte Verfahren. Prinzipiell sind dazu alle klinisch routinemäßig eingesetzten Bildgebungsmodalitäten geeignet, welche neben der Computertomographie (CT) und MRT auch die Sonographie und nuklearmedizinische Bildgebung umfassen [8]. Diesen ist die meist intravenöse Applikation eines Kontrastmittels gemein, welches über das Gefäßsystem transportiert wird und gemeinhin in den Phasen von Gewebsanflutung (inklusive initialer Ankunft [„first-pass“] und Gewebeverteilung [„Parenchymphase“]) und systemischem Equilibrium betrachtet werden kann. Prinzipiell lässt sich Perfusion via Kontrastmittelgabe statisch zu einem Zeitpunkt nach Applikation oder dynamisch zu mehreren Zeitpunkten beobachten. Eine quantitative Auswertung dieser Phasen erfolgt in der klinischen Routinebildgebung nur sehr selten, stattdessen wird das Kontrastmittelverhalten meist deskriptiv z.B. als früh-anreichernd, protrahiert, plateauartig oder auswaschend beschrieben. Die Berechnung von quantitativen Perfusionsparametern wie z.B. der absoluten Blutflussrate (angegeben als geflossenes Blutvolumen pro Gewebeeinheit pro Zeiteinheit, in ml/g/min) oder Kompartiment-Transferkonstanten (z.B.  $K_{trans}$ ) kommt im wissenschaftlichen Kontext gelegentlich zur Anwendung, hat jedoch kaum nennenswerten Stellenwert für die radiologische

Routine. Mögliche Gründe hierfür stellen eine unzureichende zeitliche Auflösung (z.B. des first-pass), eine umständliche Intensitätsstandardisierung (v.a. in der MRT) und eine inhärent hohe interindividuelle Variabilität des Blutflusses dar (z.B. bei der Myokardperfusion [9]).

Generell lassen sich Läsionen hinsichtlich ihres Kontrastmittelverhaltens in hyper-, iso- und hypoperfundierte Pathologien unterteilen. Dem Perfusionsmuster zugrunde liegen Veränderungen im Gefäßsystem, welche sich bildgebend nur fassen lassen, wenn sie sich in den vorgeschalteten, großen Gefäßen befinden, deren Lumina sich in den genannten bildgebenden Verfahren auch auflösen lassen. Dies ist bei Veränderungen der kleineren Leitungsgefäße geschweige denn der Mikrozirkulation nicht möglich, so dass Veränderungen auf diesen kleineren vaskulären Skalen bisher nicht bildgebend greifbar waren. Allerdings bedingt eine Vielzahl von Pathologien Veränderungen auf eben diesen kleinen Gefäßskalen, was alle drei großen Perfusionspathologien umfasst: Neoplasie, Ischämie, Inflammation. Dabei kommt es entweder primär oder sekundär zu Veränderungen der vaskulären Struktur und damit auch des Perfusionsmusters – ein Umstand, der bei o.g. quantitativen Perfusionsparametern ignoriert wird, jedoch potenzielle diagnostische Implikationen besitzen könnte.

Zu den primären Veränderungen des Gefäßsystems lassen sich die neoplastische Angiogenese und die vaskulär bedingte Ischämie zählen. Im Kontext der Neoplasien nimmt Perfusion einen derart zentralen Stellenwert ein, dass die Tumorneoangiogenese als eine der „*hallmarks of cancer*“ bezeichnet wird [10; 11]. Dabei führt die Mikroumgebung des Tumors zur Ausbildung eines Gefäßsystems, welches teils mehr teils weniger effizient die Nährstoffversorgung der wachsenden Tumoranteile sicherstellt. Diese Art der Neoangiogenese verlässt jedoch das bereits 1913 von Hess & Walter bzw. 1926 von Murray beschriebene und im Physiologischen gewahrte Prinzip „des kleinsten Kraftverbrauches“ [12] zur Minimierung der „Kosten des Bluts“ [13].

Im Unterschied zur Tumorneoangiogenese kommen die Blutgefäße bei primär vaskulärer Ischämie ihrer Funktion nicht mehr nach, wobei man aus therapeutischer Sicht zwischen makrovaskulären und mikrovaskulären Pathophysiologien unterscheidet. Makrovaskuläre Ischämie (z.B. die klassische obstruktive koronare Herzkrankheit, KHK; oder eine Darmischämie durch makrovaskulären Gefäßverschluss) lässt sich potenziell durch interventionelle Verfahren therapieren,

wohingegen primär mikrovaskuläre Ischämien (z.B. aus der Gruppe der koronaren mikrovaskulären Dysfunktionen) einer Katheterintervention nicht therapeutisch zugänglich sind.

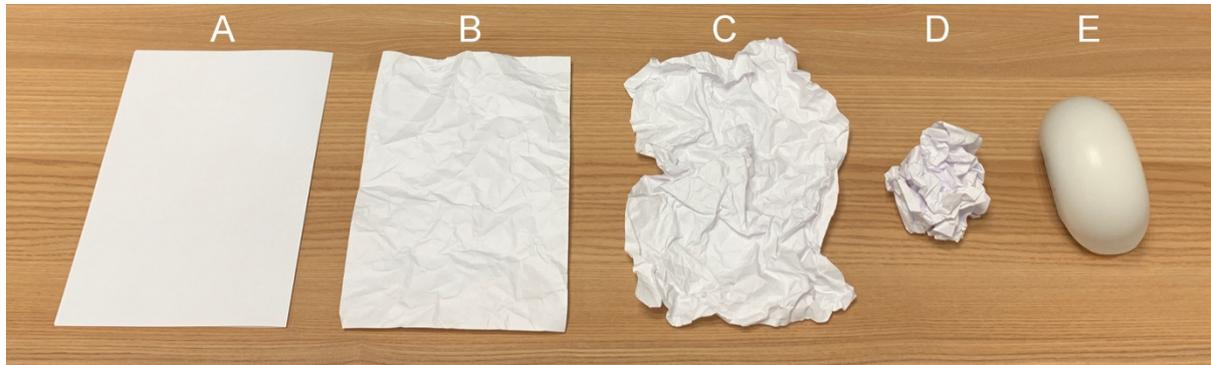
Sekundäre Veränderungen im Gefäßsystem sind meist als Anpassungsreaktionen des Körpers auf einen veränderten Gewebeperforationsbedarf anzutreffen. Beispielsweise lassen sich hier Veränderungen bei primär entzündlichen Veränderungen (z.B. aus dem rheumatoiden Formenkreis wie die Synovialitis) nennen, andererseits kann es auch im Rahmen von Ischämien zu einer sekundären Neoangiogenese mit Ausbildung einer Kollateralzirkulation kommen.

All diese Veränderungen von Gefäßstruktur und funktionellem Perforationsmuster werden durch gängige quantitative Perforationsparameter meist nicht hinreichend beschrieben. Das hat zur Folge, dass auf potenziell relevante Informationen sowohl im klinischen als auch im wissenschaftlichen Kontext bisher verzichtet werden musste. Die fraktale Geometrie von Gefäßbaum und Perforation könnte jedoch Erkenntnisse über diese bislang nicht zugänglichen Veränderungen im Gefäßsystem liefern, um die nichtinvasive Vorhersage beispielsweise von Tumoraggressivität oder -ausdehnung, eines primär Ischämie-verursachenden Gefäßabschnitts oder der Aktivität entzündlicher Veränderungen geben.

### **1.3 Technische Anwendung der Fraktal-Analyse**

Wie die Fraktal-Analyse auf Bildgebung angewendet werden kann, lässt sich leicht anhand eines Blatt Papiers illustrieren (vgl. hierzu auch *Originalpublikation 1* [4], sowie **Abb. 2**): Ein Blatt Papier ist – unter Vernachlässigung seiner Dicke – als ein zweidimensionales Objekt zu begreifen. Wird es zerknüllt, breitet es sich so im Raum aus, dass es scheinbar auch ein Volumen annehmen könnte. Zerknüllt man es weiter und verdichtet es maximal, resultiert im Extremfall ein dreidimensionales Objekt, obwohl es sich immer noch um ein zweidimensionales Blatt Papier handelt. In Abhängigkeit vom Grad des Knüllens erscheint das Blatt Papier unterschiedlich rau (synonym: komplex oder chaotisch) und variiert in der Art, wie es sich im dreidimensionalen Raum verhält. Dieser interdimensionale Zustand (in Bezug auf die diskreten euklidischen Dimensionen) wird durch die fraktale Dimension wiedergegeben, die den Knüllungszustand des Papiers hinsichtlich der geometrischen Komplexität bzw. des strukturellen Chaos in der räumlichen Struktur charakterisiert.

Die ursprüngliche räumliche Dimensionalität des Blattes wird dabei als *topologische Dimension* = 2 bezeichnet, wohingegen sich das Blatt in der *einbettenden Dimension* = 3 ausbreitet. Die fraktale Dimension nimmt in diesem Beispiel Werte zwischen den beiden Dimensionen 2 und 3 an.



**Abb. 2.** Ein Blatt Papier kann unter Vernachlässigung seiner Dicke als zweidimensionales Objekt begriffen werden (A), welches durch Knüllen auch partiell Eigenschaften eines dreidimensionalen Objektes bekommt (B-D) bis zum Extremfall maximaler Kompression (E, hier ein anderes repräsentatives dreidimensional Objekt). Die fraktale Dimension quantifiziert das Knüllungsmaß, welches der geometrischen Komplexität bzw. dem strukturellen Chaos entspricht. *Quelle: eigene Arbeit, adaptiert aus Originalarbeit 2: Michallek et al. 2021 Eur Radiol [14]. Lizenz: CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>*

Diese Überlegung lässt sich einfach auf bildgebende Texturen übertragen: Das Blatt Papier kann als eine singuläre Schicht aus einem bildgebenden Datensatz begriffen werden mit den räumlichen Koordinaten in x- und y-Richtung als *topologische Dimension* = 2. Die Pixelintensität findet ihre analoge Entsprechung im lokalen Knüllungsmaß des Papiers wieder und stellt daher die *einbettende Dimension* = 3 dar. Die fraktale Dimension beschreibt dann das Maß an geometrischer Komplexität bzw. strukturellem Chaos, das in der Bildtextur vorliegt, wobei selbstverständlich auch einzelne interessierende Regionen (*regions of interest*, ROI) separat herausgegriffen und für sich charakterisiert werden können. Ein Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der mathematischen Verallgemeinerung: So lässt sich eine vierdimensionale Bildserie (drei räumliche und eine zeitliche Dimension) als geometrisches Objekt mit der *topologischen Dimension* = 4 und der *einbettenden Dimension* = 5 (in Form der Intensität) auffassen, wobei die fraktale Dimension dann Werte zwischen 4 und 5 annimmt.

Zahlreiche algorithmische Herangehensweisen sind in der Vergangenheit für die Fraktal-Analyse digitaler Objektabbildungen verwendet wurden, erwähnenswert sind insbesondere die „*Box-counting*“-Methode und ihre Derivate. Hauptmerkmal dieser ist die Binärisierung des Bildes anhand eines frei

gewählten Grenzwertes, was zu einem massiven Informationsverlust der Bildtextur führt, da sie schlussendlich lediglich durch die Information ersetzt wird, ob die ehemalige Pixelintensität an jeder Lokalisation oberhalb oder unterhalb des definierten Grenzwertes lag. Zwar sind diese „Box-Counting“-Methoden aufgrund ihrer Einfachheit auch im Kontext medizinischer Bildgebung verwendet worden, ihre physiologische Relevanz ist jedoch insbesondere zur Charakterisierung von Perfusionsmustern recht limitiert [8].

Im Gegensatz dazu existieren auch Methoden, die auf einen von Peleg et al. beschriebenen „blanket algorithm“ zu Deutsch Teppich-Algorithmus zurückgehen [15]. Anstelle das Bild zu binärisieren wird die Bildtextur als Ganze prozessiert, in dem die vorliegende Textur als Abbild mit maximal möglicher Auflösung aufgefasst wird. Da Skaleninvarianz ein zentrales Kennzeichen von Fraktalen ist (s. **Abb.1**), müssen verschiedene Skalen, d.h. Auflösungen, simuliert werden. Dazu werden zwei Teppiche definiert: ein oberer und ein unterer. Im ersten Schritt werden die Teppiche der Ursprungstextur angeschmiegt, d.h., sie sind mit ihr identisch. Nun werden die Teppiche iterativ von der Textur nach oben bzw. nach unten abgehoben, wobei ein Detailverlust simuliert wird. Jeder Pixel wird mit seinen Nachbarpixeln verglichen, wobei die Pixelintensität in jeder Iterationsstufe angepasst wird: Für den oberen Teppich wird die höchste, für den unteren Teppich die niedrigste Pixelintensität der Nachbarschaft übernommen. Ist der aktuell betrachtete Pixel selbst derjenige mit höchster bzw. niedrigster Intensität, wird sein Wert in der nächsten Iteration um 1 erhöht (oberer Teppich, *Formel 1*) bzw. um 1 erniedrigt (unterer Teppich, *Formel 2*):

$$u_{\varepsilon}(i, j) = \max \left\{ u_{\varepsilon-1}(i, j) + 1, \max_{|(m, n) - (i, j)| \leq 1} u_{\varepsilon-1}(m, n) \right\} \quad (1)$$

$$b_{\varepsilon}(i, j) = \min \left\{ b_{\varepsilon-1}(i, j) - 1, \min_{|(m, n) - (i, j)| \leq 1} b_{\varepsilon-1}(m, n) \right\} \quad (2)$$

Dabei repräsentieren  $u_{\varepsilon}$  und  $b_{\varepsilon}$  den oberen bzw. unteren Teppich,  $\varepsilon$  die simulierte Auflösung und  $i, j, m$  und  $n$  die Pixelkoordinaten. Durch das Abheben der Teppiche entsteht zwischen diesen ein Volumen, welches sich einfach durch den Abstand der beiden Teppiche voneinander ergibt ( $V = u - b$ ). Von Interesse ist jedoch die Entwicklung der Textur, also des Flächeninhalts, in Abhängigkeit von der Anzahl der Iterationen. Daher ist pro Iterationsschritt der Flächeninhalt  $A(\varepsilon)$  der Teppiche zu

bestimmen, der sich aus der Differenz der Teppiche dividiert durch die Auflösung  $\varepsilon$  ergibt:

$$A(\varepsilon) = \frac{\sum_{i,j}(u_\varepsilon(i,j) - b_\varepsilon(i,j))}{\varepsilon} \quad (3)$$

Die Auflösung  $\varepsilon$  kann einfach als die Anzahl der Iterationsschritte definiert werden und ist für die korrekte Volumenbestimmung mit zwei zu multiplizieren, da pro Iteration sowohl der obere als auch der untere Teppich abgehoben wird.

Bei Fraktalen liegt ein exponentieller Zusammenhang zwischen untersuchter Eigenschaft und Größe des Messinstruments bzw. der Auflösung vor (vgl. die Küstenlinien), daher gilt:

$$A(\varepsilon) \propto \varepsilon^{2-FD} \quad (4)$$

wobei  $FD$  für die fraktale Dimension steht. Die 2 im Exponenten folgt aus der *topologischen Dimension* 2 für die beiden räumlichen Achsen (x und y). Die fraktale Dimension,  $FD$ , lässt sich daher folgendermaßen isolieren:

$$FD = 2 - \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{\ln A(\varepsilon)}{\ln \varepsilon} \quad (5)$$

Da Fraktale Skaleninvarianz aufweisen, bleibt der bilogarithmische Quotient aus Flächeninhalt der Teppiche  $A(\varepsilon)$  und Auflösung  $\varepsilon$  konstant, es ergibt sich also eine Gerade (s. **Abb.1**). Daher kann die fraktale Dimension über eine einfache lineare Regression bestimmt werden.

## 1.4 Pathophysiologische Motivation

Perfusion ist zwar ein pathophysiologisch wichtiger Parameter: a) Im Kontext der Neoplasie wird die Neoangiogenese als eine der „*hallmarks of cancer*“ [10; 11] bezeichnet und unterliegt starken Veränderungen in Abhängigkeit vom biologischen Verhalten der jeweiligen Neoplasie. b) Die Ischämie liegt in unmittelbarer pathophysiologischer Verantwortlichkeit des Gefäßsystems, wobei eine Vielzahl von Mechanismen auf allen vaskulären Skalen in das System mit eingreift – von den großen Leitungsarterien, über die Arteriolen und Präkapillaren zu den Kapillaren und der venösen Drainage [16-18]. c) Bei der Entzündung dient die inflammatorische Neoangiogenese der Perfusionsrekrutierung, um ein Vehikel für Entzündungszellen bereitzustellen – sowohl im Physiologischen, als auch im Pathologischen, z.B. bei der arthritischen Synovialitis [19]. Diese

vaskulären Veränderungen könnten diagnostische Implikationen haben, wäre man in der Lage sie in der klinischen Routine zu charakterisieren, was mit dem zur Verfügung stehenden Arsenal qualitativer und (semi-)quantitativer Methoden nur eingeschränkt möglich ist. Aufgrund ihres inhärenten pathophysiologischen Fundaments könnte die Fraktal-Analyse dazu geeignet sein solche Veränderungen des Perfusionsmusters – und damit des Gefäßnetzwerks – zu beschreiben. Die Stringenz ihrer Berechnung und die konzeptionelle Anwendbarkeit auf klinische Routinebildgebung sind aussichtsreiche Voraussetzungen dafür, dass die Fraktal-Analyse der Perfusionsbildgebung eine klinisch relevante und durchführbare Methode darstellen kann, um die drei großen Gruppen der Perfusionspathophysiologien, d.h. Neoplasie, Ischämie, und Inflammation, diagnostisch charakterisieren zu können.

## 1.5 Hypothesen

Die Hypothesen der im Rahmen dieser Schrift zusammengefassten Experimente sind wie folgt:

1. Der fraktale Charakter des Gefäßbaums trifft auch auf die Perfusion als sein physiologisches Korrelat zu und lässt sich mittels *in silico* Simulationen verschiedener Pathologien mit variabler Ausprägung reproduzieren.
2. Es ist möglich, die Fraktal-Analyse in bis zu vierdimensionalen Bildgebungsmodalitäten (drei räumliche Dimensionen plus eine zeitliche) zu etablieren. Es ist dem Autor möglich, die entsprechende Software und zugehörige Analyseprotokolle eigenständig zu entwickeln.
3. Die drei großen Perfusionspathophysiologien – Neoplasie, Ischämie, Inflammation – lassen sich pathophysiologisch relevant durch die Fraktal-Analyse charakterisieren und haben das Potenzial die diagnostischen Möglichkeiten klinisch relevant zu erweitern.

Um die Generalisierbarkeit der Ergebnisse auch hinsichtlich der klinischen Machbarkeit der hier zusammengefassten Experimente zu konsolidieren, ist Wert auf internationale Kooperation mit verschiedenen spezialisierten Zentren in den Niederlanden, Frankreich und Japan gelegt worden. Dies ermöglichte es die Fraktal-Analyse auch abseits der lokalen Datenbasis zu validieren.

## 2 EIGENE ARBEITEN

### 2.1 Neoplasie

#### 2.1.1 *Fraktal-Analyse zur Vorhersage des Tumorgradings beim Prostatakarzinom –*

##### *Prinzip und Herleitung (Originalarbeit 1)*

Prediction of prostate cancer grade using fractal analysis of perfusion MRI:  
retrospective proof-of principle study.

**Michallek F**, Huisman H, Hamm B, Elez Kurtaj S, Maxeiner A, Dewey M.

*European Radiology* (2021) DOI: 10.1007/s00330-021-08394-8

Als ersten Schritt für die Etablierung der Fraktal-Analyse sollte die bereits tierexperimentell bestätigte fraktale Geometrie von Gefäßbaum und Perfusion [3; 6] auch mittels nicht-invasiver radiologischer Bildgebung nachvollzogen werden. Die Entwicklung von *in silico* simulierten Phantomen stellt den ersten Teil von *Originalarbeit 1* dar und untersucht, ob die Fraktal-Analyse simulierter Perfusionsmuster die zugrundeliegenden Gefäßveränderungen differenzieren kann [4]. Dazu wurden Gefäßbäume mittels des „*constructive constrained optimization algorithm*“ [20] simuliert (s. **Abb. 1**) und sich daraus ergebende Perfusionsphantome erstellt. Es zeigte sich, dass die Fraktal-Analyse der *in silico* Perfusionsphantome die zugrundeliegenden Gefäßbaumveränderungen mit hoher statistischer Signifikanz differenzieren konnte. Dieses Experiment bestätigt die Hypothese über den Zusammenhang von Perfusionsmustern und zugrundeliegender Gefäßstruktur mit frei kontrollierbarem Referenzstandard und stellt die Basis für die weiteren Untersuchungen dar.

Der zweite Teil von *Originalarbeit 1* wendet die hergeleitete Hypothese auf Perfusionsbildung des Prostatakarzinoms in der MRT an [4]. Ziel der Fraktal-Analyse der Perfusion ist es hierbei, Gefäßveränderungen in der vitalen Tumorperipherie, welche für das Tumorwachstum besonders relevant sind („*angiogenic switch*“ [21]) und potenzielle Rückschlüsse auf die Tumorbilogie erlauben, mit dem Tumorgading in Verbindung zu bringen [22; 23]. Dazu wurde ein Kooperationsprojekt mit dem Institut für Radiologie der *Radboud Universität in Nijmegen* (Prof. Henkjan Huisman) aufgebaut. Der offen verfügbare Datensatz der *PROSTATEx challenge* diente

als Basis für diese Etablierungsstudie [24; 25]. Der erste Teil dieses Datensatzes beinhaltet 112 Prostatakrebs-Läsionen bei 99 Patienten, welche mittels *in bore* MRT-gesteuerter Biopsie gesichert worden sind, sowie die entsprechende multi-parametrische MRT-Bildgebung.

Um die Fraktal-Analyse durchführen zu können, war es nötig die entsprechende Software zu entwickeln. Dies erfolgte bereits vor Durchführung des Projekts in den Programmiersprachen *Java* bzw. *Python*. Die selbst programmierte Software ermöglicht dabei sämtliche Vorverarbeitungsschritte wie Entrauschen, Registrierung, Intensitätsstandardisierung und Segmentierung, sowie die eigentliche Fraktal-Analyse mit automatischem Ergebnisexport. Die Fraktal-Analyse ist erfolgreich bei allen Läsionen anwendbar gewesen und hat auswertbare Ergebnisse geliefert. Diese wurden statistisch mit dem individuellen Tumorgrading nach den Gradgruppen der *International Society of Urological Pathology* (ISUP) korreliert [26]. Aus klinischer Perspektive ist es dabei wichtig das Prostatakarzinom hinsichtlich seiner klinischen Signifikanz einzuteilen. Karzinome der ISUP Gradgruppe 1 werden als nicht-signifikant beschrieben, solche der übrigen ISUP Gradgruppen 2-5 gelten als klinisch signifikant. Während die nicht-signifikanten Karzinome aktiv überwacht werden können mit ggf. gezielten Re-Biopsien („*active surveillance*“), ergibt sich für die signifikanten Karzinome eine entsprechende therapeutische Konsequenz. In der klinischen Routine werden zur Diagnosefindung nach ggf. durchgeführter MRT-Untersuchung mit Identifikation möglicher Zielläsionen zusätzlich systematische Prostatabiopsien durchgeführt, um das Organ so repräsentativ wie möglich bioptisch abzubilden, auch in Arealen, die in der MRT unauffällig gewesen sind.

In *Originalarbeit 1* konnte anhand von Grenzwerten der fraktalen Dimension gezeigt werden, dass die Fraktal-Analyse der MRT-Perfusionssequenz mit hoher diagnostischer Genauigkeit zwischen einzelnen ISUP-Gradgruppen zu differenzieren vermochte mit Ausnahme der beiden höchsten Gruppen 4 und 5. Wichtig ist, dass die Fraktal-Analyse eine sehr hohe diagnostische Genauigkeit für die Differenzierung nicht-signifikanter und signifikanter Karzinome zeigte und den wissenschaftlichen Vergleichsstandard, den apparenten Diffusionskoeffizienten (ADC), signifikant übertraf (*area under the receiver operating curve*, AUC:  $AUC_{FD} = 0.97$  gegenüber  $AUC_{ADC} = 0.77$ ,  $p < 0.001$ ).

**Michallek F**, Huisman H, Hamm B, Elezkurtaj S, Maxeiner A, Dewey M.

*Prediction of prostate cancer grade using fractal analysis of perfusion MRI: retrospective proof-of-principle study.*

European Radiology (2021)

Link zum Dokument: <https://doi.org/10.1007/s00330-021-08394-8>

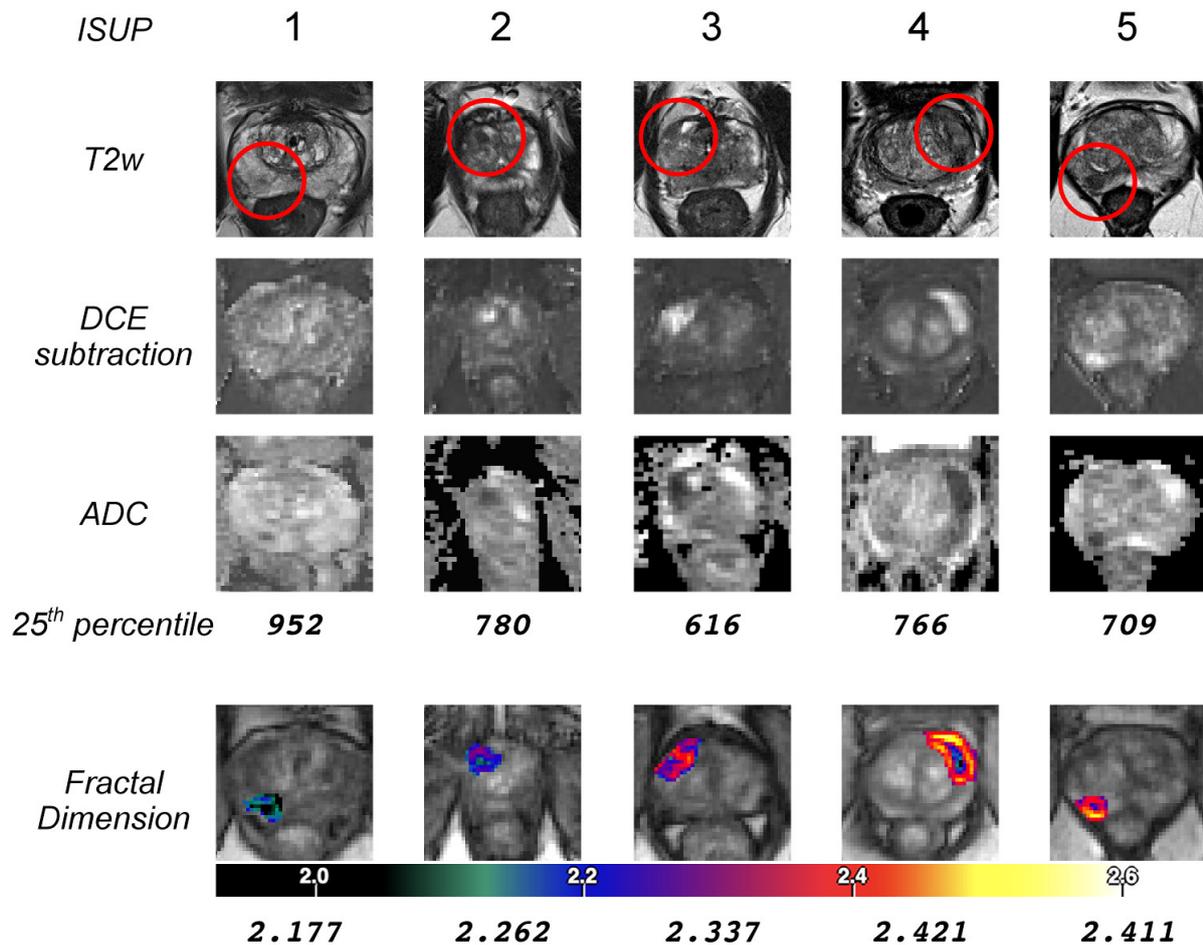
2.1.2 *Fraktal-Analyse zur Vorhersage des Tumorgradings beim Prostatakarzinom –  
klinische Validierung (Originalarbeit 2)*

Accuracy of fractal analysis and PI-RADS assessment of prostate magnetic resonance imaging for prediction of cancer grade groups: a clinical validation study.

**Michallek F**, Huisman H, Hamm B, Elezkurtaj S, Maxeiner A, Dewey M.

*European Radiology* (2021) DOI: 10.1007/s00330-021-08358-y

Auf den Ergebnissen in *Originalarbeit 1* aufbauend wurde eine unabhängige Validierungsstudie durchgeführt mit einer neuen Kohorte aus dem zweiten Teil der *PROSTATEx challenge* [24; 25]. Neben der Validierung der zuvor etablierten Grenzwerte der fraktalen Dimension hat *Originalarbeit 2* vor allem die Einbindung der Fraktal-Analyse in das etablierte *Prostate Imaging Reporting and Data System* (PI-RADS, Version 2.1, [27]) exploriert [14]. Es zeigte sich, dass die Fraktal-Analyse durch pathophysiologisch bedeutsame Beschreibung des Perfusionsmuster unabhängige Informationen zu PI-RADS beitragen konnte, in dem die Perfusionssequenz nur eine marginale Rolle spielt. Für die Abgrenzung klinisch nicht-signifikanter und signifikanter Karzinome erreicht PI-RADS mit 96% zwar eine sehr hohe Sensitivität, jedoch nur eine niedrige Spezifität von 20% und eine AUC von 0,65. Nutzt man die zusätzliche Information der Fraktal-Analyse, konnte die Sensitivität mit 95% erhalten und die Spezifität auf 88% bzw. die AUC auf 0.92 signifikant ( $p < 0.001$ ) verbessert werden. Damit zeigt sich der diagnostische Wert der Fraktal-Analyse in dieser unabhängigen Validierungsstudie vor allem darin, dass sich mittels PI-RADS als suspekt erkannte Läsionen durch die Fraktal-Analyse nun hinsichtlich ihrer klinischen Signifikanz charakterisieren lassen. Ferner ermöglichte die Fraktal-Analyse durch die zuvor etablierten Grenzwerte erneut die Differenzierung individueller ISUP Gradgruppen (außer 4 und 5), was sich anhand von **Abb. 3** nachvollziehen lässt. Als klinische Implikation ergibt sich daher für die Fraktal-Analyse das Potenzial die Biopsiestrategie individuell anpassen und bei verdächtigem nicht-signifikanten Karzinom (ISUP Gradgruppe 1) gezielt biopsieren zu können. Bei Bestätigung des Verdachts könnte der Patient in die aktive Überwachung („*active surveillance*“) aufgenommen werden, anstelle potenziell zu aggressiv zu therapieren.



**Abb. 3.** Differenzierung individueller Tumor-Gradgruppen gemäß International Society of Urological Pathology (ISUP). Die Reihen zeigen von oben nach unten die ISUP Gradgruppe, das T2-gewichtete Bild (T2w), die Kontrastmittel-gestützte Sequenz unter Subtraktion des nativen Bilds (DCE subtraction), den apparenten Diffusionskoeffizienten (ADC) mit der 25. Perzentile als quantitativem Messwert, sowie der farbkodierten Karte der fraktalen Dimension als Overlay über die Perfusionssequenz mit Angabe des quantitativen Messwerts. Quelle: eigene Arbeit aus Originalarbeit 2: Michallek et al. 2021 Eur Radiol [14]

Lizenz: CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

**Michallek F**, Huisman H, Hamm B, Elezkurtaj S, Maxeiner A, Dewey M.

*Accuracy of fractal analysis and PI-RADS assessment of prostate magnetic resonance imaging for prediction of cancer grade groups: a clinical validation study.*

European Radiology (2021)

Link zum Dokument: <https://doi.org/10.1007/s00330-021-08358-y>

2.1.3 *Fraktal-Analyse zur Visualisierung der vitalen Tumorperipherie  
beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas (Originalarbeit 3)*

Fractal analysis improves tumour size measurement on computed tomography in pancreatic ductal adenocarcinoma: comparison with gross pathology and multi-parametric MRI.

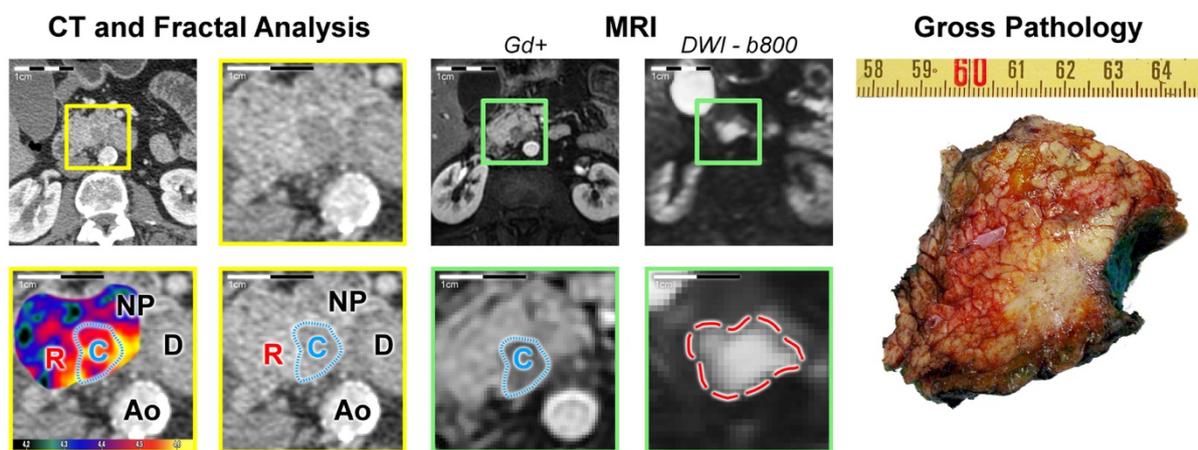
**Michallek F**, Haouari MA, Dana O, Perrot A, Silvera S, Dallongeville A, Dewey M, Zins M.

*European Radiology* (2022) DOI: 10.1007/s00330-022-08631-8

Um die Fraktal-Analyse der Perfusion hinsichtlich ihrer Generalisierbarkeit auf andere Neoplasien zu untersuchen, wurde mit makroskopisch-pathologischer Referenz die Durchblutung des duktalem Adenokarzinoms des Pankreas untersucht. Bei dieser Karzinomart handelt es sich im Allgemeinen um einen zentral hypovaskularisierten Tumor mit chaotischem Neoangiogenesemuster, welches teils vaskuläre Mimikry, also die Ausbildung blutleitender Kanäle ohne eigentliches Gefäßendothel, sowie unreife und ineffiziente Vaskularisierungsmuster zeigt [28-30]. Im Gegensatz dazu scheint der Tumorrand jedoch besser perfundiert zu sein und zeigt eine ähnliche Perfusionsrate wie das umliegende Pankreasgewebe [31; 32]. Dieser Umstand kann den Tumorrand maskieren und das Karzinom in der Bildgebung kleiner aussehen lassen als er in Wahrheit ist. Jedoch determiniert die Tumorgröße gemäß der aktuellen Staging-Richtlinien das T-Stadium ist somit entscheidend für das weitere klinische Management, die Prognose, mögliche Bestrahlungsplanung etc. [33]. Um dieses Dilemma näher zu untersuchen, ist in Kooperation mit dem Pariser *Hôpital Saint Joseph (Prof. Marc Zins)* ein klinischer und bildgebender Datensatz bestehend aus einer Etablierungs- und einer Validierungskohorte erhoben worden. In der Etablierungskohorte (n=10) sind Größenmessungen in CT und MRT durchgeführt und mit dem makroskopisch-pathologischen Resektat verglichen worden. Dabei zeigte sich in *Originalarbeit 3* in der Tat eine systematische mittlere Unterschätzung der Tumorgröße in der CT von 5,7 mm, wohingegen die multi-parametrische MRT, die neben Kontrastmittel-gestützten Sequenzen u.a. auch T2- und diffusionsgewichtete Sequenzen enthielt, eine verlässliche Übereinstimmung mit der Resektatmessung (0,9 mm mittlere Differenz) aufwies [34]. Nach Anwendung der Fraktal-Analyse auf die CT-Bildgebung konnte der Tumorrand sichtbar gemacht und mit der MRT, sowie dem Resektat korreliert werden (**Abb. 4**). Basierend auf einem vom umliegenden Pankreasgewebe unterschiedlichen

Perfusionsmuster im Tumorrand gelang es dann auf den Karten der fraktalen Dimension deutlich realistischere Größenmessungen zu erzielen mit einer mittleren Differenz von -0,6 mm vom Resektat.

Diese Ergebnisse sind anschließend in einer separaten Kohorte (n=36) validiert worden, wobei hier die multiparametrische MRT als Referenzstandard diente, die zuvor exzellent mit den Resektatmessungen übereinstimmte. In dieser separaten Kohorte ließen sich die initialen Ergebnisse reproduzieren, wobei sich erneut eine systematische Größenunterschätzung in der CT (sowohl bezüglich der Länge als auch des Volumens) zeigte. Nach Anwendung der Fraktal-Analyse auf die CT-Perfusionsbildgebung ließen sich jedoch deutlich realistischere Messungen auch mittels CT erzielen.



**Abb. 4.** Die Karte der fraktalen Dimension ermöglicht die Visualisierung des Tumorrands, welche sowohl in der CT als auch in den Kontrastmittel-gestützten MRT-Sequenzen nicht erkennbar war, jedoch in der diffusionsgewichteten MRT-Sequenz. Als Referenz für die Tumorgrößenmessung diente das Resektat. C – Tumorkern, R – Tumorrand, NP – normales Pankreasgewebe, D – Duodenum, Ao – Aorta, Gd+ - Kontrastmittel-gestützte MRT-Sequenz (Gadolinium-haltig), DWI – diffusionsgewichtete Sequenz (b-Wert 800 s/mm<sup>2</sup>). Quelle: eigene Arbeit, adaptiert aus Originalarbeit 3: Michallek et al. 2022 Eur Radiol [34]. Lizenz: CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

**Michallek F**, Haouari MA, Dana O, Perrot A, Silvera S, Dallongeville A, Dewey M, Zins M.

*Fractal analysis improves tumour size measurement on computed tomography in pancreatic ductal adenocarcinoma: comparison with gross pathology and multi-parametric MRI.*

European Radiology (2022)

Link zum Dokument: <https://doi.org/10.1007/s00330-022-08631-8>

## 2.2 Ischämie

### 2.2.1 Fraktal-Analyse zur Verbesserung der Detektion chronischer Myokardischämie

(Originalarbeit 4)

Fractal Analysis of Dynamic Stress CT-Perfusion Imaging for Detection of Hemodynamically Relevant Coronary Artery Disease.

**Michallek F**, Nakamura S, Kurita T, Ota H, Nishimiya K, Ogawa R, Shizuka T, Nakashima H, Wang YN, Ito T, Sakuma H, Dewey M, Kitagawa K.

*JACC: Cardiovascular Imaging* (2022) DOI: 10.1016/j.jcmg.2022.03.015

Bei der chronischen Myokardischämie werden klinisch zwei Entitäten mit inhärent unterschiedlicher Pathophysiologie und Therapiekonsequenz unterschieden: die „klassische“ obstruktive koronare Herzkrankheit (KHK) und die mikrovaskuläre Ischämie. Letztere hat ihren Weg erst in den jüngeren Jahrzehnten in das diagnostische Bewusstsein gefunden – wurde sie doch bis in die 90er Jahre hinein noch als „*syndrome X*“ bezeichnet, damals um eine schier unerklärlich scheinende Ischämie trotz völlig unauffälliger epikardialer Arterien zu beschreiben [35]. Grund jener ist eine unzureichende Vasodilatationsreaktion auf mikrovaskulärer Ebene mit einer Vielzahl an möglichen zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen wie z.B. Gefäßwandumbauten, endothelialer oder glattmuskulärer Dysfunktion, bis hin zu Störungen des umgebenden Myokards mit veränderten Gewebedruckverhältnissen [36]. Für die bildgebende Entität der mikrovaskulären Ischämie hat sich die Bezeichnung „*ischemia and non-obstructed coronary arteries*“ (*INOCA*) durchgesetzt, wobei entsprechende diagnostische Kriterien von der „*coronary vasomotor disorders international study group (COVADIS)*“ verfasst wurden [37]. Gemeinsames Kennzeichen dieser Kriterien ist der nicht-invasive oder invasive Ausschluss einer KHK. Diese Kriterien lassen sich jedoch nicht anwenden, wenn der Ausschluss einer (auch moderaten) KHK nicht eindeutig gelingt, z.B. bei mäßigen epikardialen Stenosegraden und grenzwertigen Befunden der fraktionellen Flussreserve (FFR). In Anbetracht dieser komplexen Pathophysiologie der Myokardischämie ist es wünschenswert jene Patienten zu identifizieren, die von einer invasiven Koronarangiographie auch therapeutisch profitieren. Daher könnte die Perfusionsbildgebung ein hilfreicher diagnostischer Pfeiler bei der nicht-invasiven

Abklärung einer chronischen Myokardischämie sein, die prinzipiell mit allen einschlägigen bildgebenden Verfahren realisierbar ist [38]. Zentrales Charakteristikum dabei ist die meist pharmakologische, alternativ physikalische, Induktion von myokardialer Vasodilatation mit dem Ziel Ischämieareale anhand ihrer reduzierten Vasodilatationsreserve zu demaskieren. Neben der visuellen Auswertung hinsichtlich fokaler Perfusionsdefizite existieren unterschiedliche quantitative Parameter, welche auf Perfusionsmessungen, d.h. der myokardialen Blutflussrate (in geflossenem Blutvolumen pro Gewebeeinheit pro Zeiteinheit), beruhen. Diese und ihre Derivate zeigen jedoch eine ausgeprägte interindividuelle Varianz und eignen sich daher nur bedingt für die quantitative Definition einer Ischämie [9; 39; 40]. Daher sind sie stets in Zusammenschau mit morphologischen Informationen über die epikardialen Arterien im Rahmen einer nicht-invasiven (z.B. mittels CT) oder invasiven Angiographie zu beurteilen. Dennoch können sich diskrepante Befunde ergeben, insbesondere bei moderater Ausprägung von epikardialer Stenosegrad oder im Rahmen einer begleitenden mikrovaskulären Ischämie. Daher wäre es von Relevanz das Muster der Perfusion hinsichtlich seiner funktionellen Integrität beschreiben zu können.

*Originalarbeit 4* beschreibt die Anwendung der Fraktal-Analyse auf vierdimensionale (drei räumliche und eine zeitliche Dimension), Vasodilatationstress-induzierte Myokardperfusions-CT [41]. Die Herausforderung dabei war es, die eigentlich für den zweidimensionalen Fall konzipierte Fraktal-Analyse auf  $n$  Dimensionen mathematisch zu generalisieren, wobei hier konkret der vierdimensionale Fall zur Anwendung kam. Im Rahmen einer für dieses Projekt gewährten Sachbeihilfe der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* (DFG, Projektnummer: 392304398), welche mit dem ersten Mercator-Fellow für das Fach Radiologie einherging, konnte eine exzellente Kooperation mit der *Mie University Graduate School of Medicine in Tsu (Japan)* mit *Prof. Kakuya Kitagawa* etabliert werden. Gegenstand dieser Kooperation war u.a. eine große, multizentrische, prospektive Studie in Ostasien zur dynamischen, vierdimensionalen Stress-Myokardperfusions-CT mittels Dual-Source Scannern (*AMPLIFiED* [42]). Die Fraktal-Analyse der Myokardperfusion wurde hinsichtlich der Detektierbarkeit der hämodynamisch relevanten KHK untersucht und mit dem etablierten Standard der myokardialen Blutflussrate verglichen. Gegenüber letzterer erreichte die Fraktal-Analyse eine signifikante ( $p \leq 0.01$ ) Erhöhung der Sensitivität von 84% auf 95% und der Spezifität von 70% auf 89%.

**Michallek F**, Nakamura S, Kurita T, Ota H, Nishimiya K, Ogawa R, Shizuka T, Nakashima H, Wang YN, Ito T, Sakuma H, Dewey M, Kitagawa K.

*Fractal Analysis of Dynamic Stress CT-Perfusion Imaging for Detection of Hemodynamically Relevant Coronary Artery Disease.*

JACC: Cardiovascular Imaging (2022)

Link zum Dokument: <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2022.03.015>

## 2.3 Inflammation

### 2.3.1 Fraktal-Analyse zum objektiven Grading inflammatorischer Aktivität bei Synovialitis

(Originalarbeit 5)

Fractal analysis of perfusion imaging in synovitis: a novel imaging biomarker  
for grading inflammatory activity based on assessing angiogenesis.

**Michallek F**, Ulas ST, Poddubnyy D, Proft F, Schneider U, Hermann KG, Dewey M, Diekhoff T.

*Rheumatic & Musculoskeletal Diseases (RMD Open)* (2022) DOI: 10.1136/rmdopen-2021-002078

Ähnlich wie bei der neoplastischen Neoangiogenese stellt auch ihr inflammatorisches Pendant eine Anpassungsreaktion auf veränderten Blutflussbedarf des versorgten Gewebes dar. Im Rahmen entzündlicher Veränderungen steht jedoch weniger die Nährstoffversorgung des Gewebes als vielmehr die Rekrutierung eines vaskulären Zugangswegs im Vordergrund [19; 43; 44]: Durch die Entzündungskaskade kommt es zu lokaler Akkumulation proangiogener Substanzen, welche das Aussprossen neuer Gefäßäste induzieren und damit die lokale mikrovaskuläre Dichte erhöhen. Ebenso kommt es zur Dilatation bereits bestehender Gefäße, so dass systemisch zirkulierende Entzündungszellen mit höherer Wahrscheinlichkeit im Entzündungsfokus akkumulieren können. Damit ist eine Erhöhung des Permeabilität-Oberflächen-Produkts verbunden, was die Gestalt der Perfusionsbildgebung ganz entscheidend prägt: Nach intravenöser Applikation eines Kontrastmittels kommt es nach Dispersion in der pulmonalen Zirkulation zu einem initialen, arteriellen Anfluten (*first-pass*) im Gewebe. Je geringer der vaskuläre Widerstand auf dem Weg dorthin und je höher die Gefäßdichte, desto stärker ausgeprägt ist dieser *first-pass*-Effekt, was sich sowohl an der Steigung der Kontrastmittelkurve als auch an ihrem Maximalwert, dem *peak*, zeigt. Da die inflammatorische Neoangiogenese den Gefäßquerschnitt sowohl über die Gefäßdichte als auch durch Dilatation erhöht und damit den hämodynamischen Widerstand mit gleich zwei unabhängigen Mechanismen verringert, kommt es folglich zu einem markant ausgeprägten *first-pass*. Da durch inflammatorische Zytokine das Gefäßendothel permeabler wird, kommt es darüber hinaus zu einer erhöhten Extravasationsfraktion des passierenden Kontrastmittels (sofern man nicht rein intravaskuläres Kontrastmittel appliziert hat). Der Effekt der Extravasation gewinnt vor allem nach Kontrastmittelrezirkulation und Etablierung eines

Equilibriums an Relevanz, da es in dieser Phase durch die erhöhte Permeabilität zu einer langanhaltenden Nettofiltration nach extravasal kommt. Dadurch reichert sich das Kontrastmittel im Gewebe an und die Auswaschphase findet verzögert statt. Erst nachdem die systemische Elimination des Kontrastmittels weiter fortgeschritten und damit dessen Blutkonzentration unter die der lokalen Gewebkonzentration des entzündeten Areals gefallen ist, kann wieder eine Nettofiltration nach intravasal erfolgen.

Beide Aspekte, sowohl der *first-pass* als auch die Rezirkulation, haben daher pathophysiologische Relevanz. Diagnostisch genutzt wird in der Routinebildgebung jedoch meist nur die Rezirkulation, bzw. eine statische Spätphase derselben – wissenschaftlich etablierte Scoring-Systeme nutzen überwiegend die Spätphase für die Aktivitätsgraduierung der Synovialitis, zum Beispiel innerhalb des gut evaluierten *Rheumatoid Arthritis MRI Scoring System (RAMRIS)* der *Outcome Measures in Rheumatology group (OMERACT)* [45]. Dabei erfolgt eine subjektive, semi-quantitative Eingruppierung in diskrete Aktivitätsgrade, welche jedoch nur mittelbar Perfusionseffekte berücksichtigen; zwar ist Kontrastmittelaufnahme eine Voraussetzung für einen pathologischen Score, die Graduierung berücksichtigt aber ausschließlich die synoviale Schwellung und Proliferation. Eine Betrachtung hinsichtlich des Vaskularisierungsmusters kann nicht erfolgen, da in der Spätphase das erweiterte und besser zugängliche Interstitium das Bild dominiert.

*Originalarbeit 5* beschäftigt sich daher mit der Fraktal-Analyse der Perfusion bei Synovialitis unter Nutzung einer dynamischen *first-pass* Bildgebung, um das Chaos in der zugrundeliegenden Gefäßstruktur basierend auf dem Perfusionsmuster zu quantifizieren [46]. Ziel ist es gewesen, einen objektiven, quantitativen Parameter für die Entzündungsaktivität zu etablieren, der anstelle einer subjektiven, diskreten Gradierung herangezogen werden kann. Auch im Rahmen dieser Studie erfolgte in Analogie zu *Originalarbeit 1* zunächst eine Herleitung der Hypothese über Software-Phantome, die ebenfalls mittels *constructive constrained optimization algorithm* generiert wurden [20]. Damit war es möglich unterschiedliche entzündliche Aktivitätsgrade mit ihren Veränderungen in Gefäßstruktur und Perfusionsmuster zu simulieren. Anschließend wurde die Fraktal-Analyse retrospektiv in einer klinischen Kohorte mit verschiedenen Arthritistypen und dynamischer *first-pass* Bildgebung in der MRT evaluiert.

**Michallek F**, Ulas ST, Poddubnyy D, Proft F, Schneider U, Hermann KG, Dewey M, Diekhoff T.

*Fractal analysis of perfusion imaging in synovitis: a novel imaging biomarker*

*for grading inflammatory activity based on assessing angiogenesis.*

Rheumatic & Musculoskeletal Diseases (RMD Open) (2022)

Link zum Dokument: <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2021-002078>

## 3 DISKUSSION

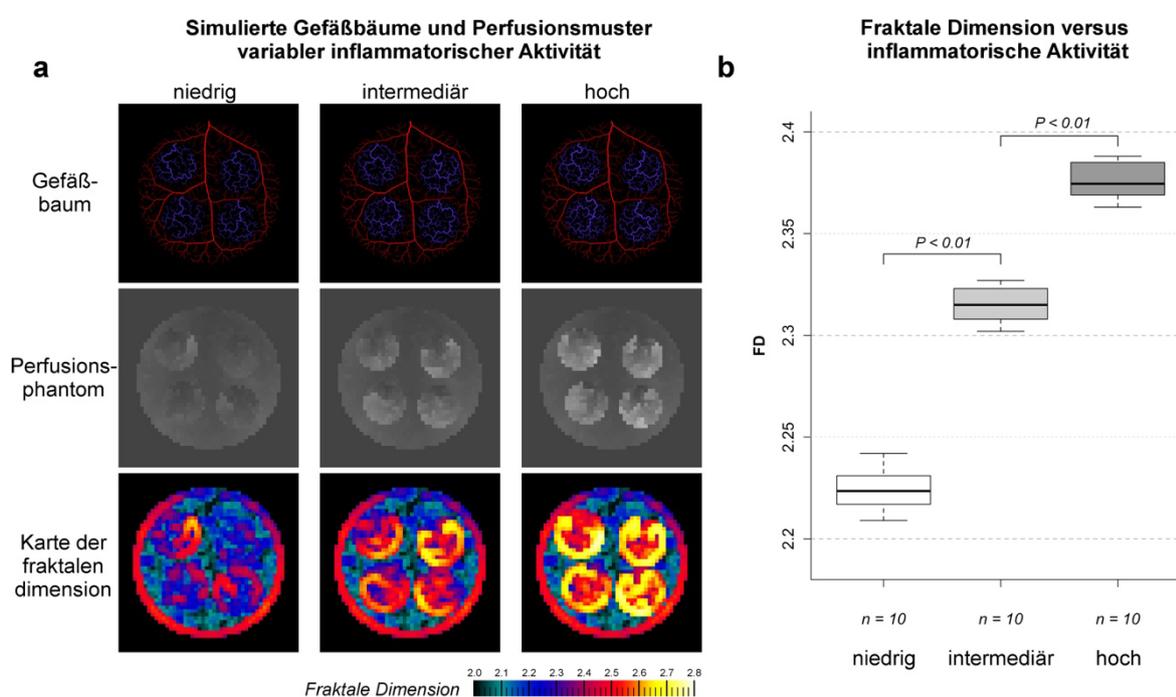
### 3.1 Evaluation der Ausgangshypothesen

Die in dieser Schrift zusammengefassten Arbeiten beschreiben die pathophysiologische und technische Etablierung der Fraktal-Analyse für die radiologische Perfusionsbildgebung bei Neoplasie, Ischämie und Inflammation. Im ersten Schritt ist anhand von *in silico*-Phantomen das Konzept der Fraktal-Analyse untersucht worden. Die nötige Software sowohl für die Phantomuntersuchungen als auch für die weitere *in vivo*-Anwendung ist vom Autor selbst entwickelt worden, was neben der mathematischen Herleitung und u.a. die Etablierung der jeweiligen Analyseprotokolle umfasste. Die klinische Exploration erfolgte anhand der Beispiele des Prostatakarzinom, des duktalem Adenokarzinom des Pankreas, der Myokardischämie und der inflammatorischen Synovialitis.

#### 3.1.1 Hypothese 1: *Fraktale Perfusionseigenschaften sind in silico reproduzierbar*

Die fraktalen Eigenschaften von Gefäßbaum und Perfusion, die unter physiologischen Bedingungen gut untersucht sind [5-7], dienten als biologische Grundlage für die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente. Um diese Erkenntnisse klinisch nutzbar zu machen, ist jedoch der Nachweis zu erbringen gewesen, dass sich die Fraktal-Analyse auch unter pathologischen Perfusionsbedingungen sinnvoll anwenden lässt und einen Unterschied zu normaler Perfusion zeigt. Dazu wurden basierend auf etablierten mathematischen Modellen der Gefäßsimulation [20] Softwarephantome von Gefäßbaum und Perfusion erzeugt. Diese konnten willentlich hinsichtlich ihrer Grundwahrheit, nämlich der Gefäßbaumstruktur, variiert werden und ermöglichten als Teil von *Originalarbeit 1* und *Originalarbeit 4* die fraktale Struktur der Perfusion unter kontrollierten pathologischen Bedingungen zu untersuchen. Dabei gelang es Veränderungen durch unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen in der Gefäßbaumstruktur zu abstrahieren und die Auswirkungen auf das Perfusionsmuster zu beschreiben. Konkret erlaubte es dieser *in silico* Ansatz unterschiedlich entdifferenzierte Tumorgefäßbäume zu simulieren und sie durch Fraktal-Analyse zu unterscheiden (*Originalarbeit 1*). Dies bildete die Grundlage der *Originalarbeiten 1 und 2* für die Aggressivitätsprädiktion beim Prostatakarzinom, dessen

Gefäßstruktur insbesondere im vitalen Tumorrandbereich dynamischen Veränderungen unterlegen ist. Des Weiteren gelang es in *Originalarbeit 4* unterschiedliche entzündliche Aktivitätsgrade durch vaskuläre Nester zu simulieren und somit verschiedene Ausmaße von Entzündungsperfusion zu betrachten (s. **Abb. 5**). Im Ergebnis ließ sich Hypothese 1 bestätigen, dass sich auch unter pathologischen Bedingungen der fraktale Charakter des Gefäßbaums auf die Perfusion als sein funktionelles Korrelat überträgt und sich mittels *in silico* Simulationen reproduzieren lässt. Dies stellte gleichzeitig die Grundlage für die darauffolgenden Experimente dar.



**Abb. 5.** *In silico* Phantome mit willkürlich beeinflussbarer Gefäßstruktur wurden generiert, um Perfusionmuster variabler inflammatorischer Aktivität zu simulieren und mittels Fraktal-Analyse zu charakterisieren. Die Gefäßbäume wurden dabei so aufgebaut, dass vier entzündliche Angiogenese-Nester in einen beherbergenden Gefäßbaum eingesetzt wurden. Die Perfusion wurde simuliert und auf typische klinische räumliche Auflösung skaliert mit einer Pixelkantenlänge von 1 mm (a). Die fraktale Dimension konnte die drei simulierten Aktivitätsgrade sicher unterscheiden (b). Quelle: eigene Arbeit, adaptiert aus Originalarbeit 5: Michallek et al. 2022 RMD Open [46]  
Lizenz: CC BY-NC 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

### 3.1.2 Hypothese 2: Die Fraktal-Analyse ist für Routinebildgebung technisch umsetzbar

Die allgemeinen Voraussetzungen für die Fraktal-Analyse sind zum einen ein Bilddatensatz, welcher in einer perfusionswiederspiegelnden Technik aufgenommen wurde. Zum anderen ist entsprechende Software nötig, um die Fraktal-Analyse auf die Perfusionsbildung anwenden zu können. Bereits zuvor sind Analysemethoden aus der fraktalen Geometrie auf radiologische Bildgebung auch im Kontext der Perfusion angewandt worden [8]. Oftmals kamen Algorithmen zum Einsatz, die auf dem sogenannten „*box counting*“ beruhen und eine Binärisierung der Bilddaten bedingen. Dabei geht ein großer Teil der Texturinformationen verloren. Im Unterschied dazu bezieht die in dieser Arbeit verwendete „*blanket*“-Methode die gesamte Bandbreite der Textur mit ein, wodurch sich genannter Informationsverlust vermeiden lässt [15]. Allerdings handelt es sich bei Perfusionsbildgebung häufig um zeitlich aufgelöste Bildserien in vier Dimensionen (drei räumliche, eine zeitliche), die „*blanket*“-Methode ist jedoch für ein- und zweidimensionale Texturen entwickelt worden [47]. Daher musste der vorbestehende mathematische Ansatz zunächst erweitert werden, was auf  $n$ -Dimensionen gelang, wobei für die Perfusion der vierdimensionale Fall ausreichend ist.

Die Fraktal-Analyse ist vom Autor in den Programmiersprachen *Java* und *Python* umgesetzt worden und erlaubt die Durchführung des vollständigen Arbeitsablaufs der Fraktal-Analyse, sowie entsprechender Vor- und Nachverarbeitung. Die Implementierung erfolgte dabei so, dass gängige Bilddatenformate, u.a. im *Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM)* Format, eingelesen und unabhängig von der Modalität prozessiert werden können. Neben verschiedenen Messmöglichkeiten z.B. zum Ableiten einer arteriellen Inputfunktion, der Möglichkeit zur Bewegungskorrektur mittels an den jeweiligen Kontext angepasster Registrierungsverfahren und verschiedenen Entrauschungsmethoden wurden neben der Fraktal-Analyse noch weitere Analyseverfahren u.a. zur Perfusionsauswertung implementiert. Damit konnten die Ergebnisse der Fraktal-Analyse stets mit traditionellen Perfusionsmessungen, wie z.B. der Blutflussrate oder verschiedener pharmakokinetischer Kompartimentmodellierungen, verglichen werden. Hauptvorteil einer selbst entwickelten Software waren insbesondere die völlig freien Gestaltungsmöglichkeiten in der Umsetzung der jeweiligen Methode, so dass beispielsweise zuvor durchgeführte Segmentierungen

für die Fraktal-Analyse unmittelbar in weiteren Analyseverfahren angewandt werden konnten und keine erneute Segmentierung oder ein Wechsel zu einer anderen Software nötig gewesen wäre. Nicht zuletzt war somit auch stetige Ergebniskonsistenz gewährleistet. In den genannten Arbeiten wurde Bildgebung ausgewertet, die mit Standardprotokollen auch in der klinischen Routine durchgeführt wird bzw. ohne Weiteres durchführbar ist. Die entwickelte Software ermöglichte die Anwendung der Fraktal-Analyse mitsamt der nötigen Vor- und Nachverarbeitungsschritte. Die Hypothese 2 der technischen Umsetzbarkeit für Routinebildgebung in bis zu vier Dimensionen ließ sich damit bestätigen.

### 3.1.3 Hypothese 3: Die Fraktal-Analyse hat diagnostischen Nutzen in vivo

Die drei großen Perfusionspathophysiologien – Neoplasie, Ischämie, Inflammation – lassen sich durch die Fraktal-Analyse charakterisieren, wodurch sich potenzielle diagnostische Implikationen ergeben. In *Originalarbeit 1 und 2* konnte das Grading von Prostatakarzinomen nicht-invasiv vorhergesagt werden, was die Möglichkeiten des bestehenden PI-RADS erweitert. Da PI-RADS primär die Detektion karzinomsuspekter Läsionen leistet [27; 48], bringt die Fraktal-Analyse eine Charakterisierungsmöglichkeit hinsichtlich der Aggressivität mit ein. Sie konnte diesbezüglich den apparenten Diffusionskoeffizienten (ADC) als wissenschaftlichen Vergleichsstandard übertreffen, welcher zuvor zur Aggressivitätseinschätzung vorgeschlagen wurde [49]. Somit kann die Fraktal-Analyse das diagnostische Potenzial der Perfusionssequenz erweitern, welche innerhalb der aktuellen PI-RADS Version 2.1 eher einen untergeordneten Stellenwert hat. Die Information über die klinische Signifikanz eines Karzinoms könnte genutzt werden, um Weichen für den weiteren diagnostischen Algorithmus zu stellen: Detektierte Läsionen mit geringer vorhergesagter Aggressivität könnten zunächst gezielt bioptisch gesichert werden, um den Patienten in eine „*active surveillance*“ einzuschließen. Die beiden höchsten Tumorgradgruppen ISUP 4 und 5 konnten durch die Fraktal-Analyse nicht differenziert werden. Dies deutet darauf hin, dass sich das Perfusionsmuster und damit die zugrundeliegende Gefäßstruktur in diesen hochgradig entdifferenzierten Läsionen nicht mehr wesentlich unterscheidet. In den übrigen Gruppen zeigte sich interessanterweise eine kontinuierliche Verteilung der fraktalen Dimension, was darauf schließen lässt, dass es sich bei den vaskulären

Veränderungen um ein Kontinuum handelt und die definierten Grade bzw. Gradgruppen lediglich durch Diskretisierung klinisch anwendbare Kategorien darstellen.

In *Originalarbeit 3* wurde der Tumorrand beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas untersucht, welcher sich durch seine Perfusion vom in der CT in der Regel gut sichtbaren Tumorkern unterscheidet [50; 51]. Dieser Perfusionsunterschied führt dazu, dass die CT häufig die Gesamtausdehnung des Tumors unterschätzt [52; 53]. In histopathologischen Untersuchungen ist als möglicher Grund die Aktivierung pankreatischer Sternzellen als Promotor vaskulärer Proliferation identifiziert worden, womit eine relativ erhöhte mikrovaskuläre Dichte im Vergleich zum hypoperfundierten Tumorkern einhergeht [54]. Klinisch hat dieser Umstand die Konsequenz, dass ein CT-basiertes Tumorstaging als zu niedrig ausfallen kann, da gemäß aktueller Klassifikation das T-Stadium maßgeblich auf der Tumorgöße basiert [33]. Dieses Beispiel zeigt eindrücklich die klinische Relevanz der Perfusion und ihrer Veränderungen und demonstriert den klinischen Bedarf nach einer pathophysiologisch bedeutsamen Herangehensweise. Die Fraktal-Analyse erfüllt diesen Anspruch insofern, als dass sie in der Lage ist Rückschlüsse auf die zugrundeliegende Gefäßstruktur basierend auf dem beobachtbaren Perfusionsmuster zu ziehen, was durch bisherige Methoden wie Blutflussratenbestimmung (deren Stellenwert stets nach ihrer oft hohen interindividuellen Variabilität beurteilt werden muss) nicht ohne Weiteres möglich gewesen ist. Eine weitere Arbeit, die nicht in diese Schrift aufgenommen wurde, zeigte, dass das Prinzip der Fraktal-Analyse auch die Differenzierung hepatischer Adenomsotypen und dem hepatozellulären Karzinom durch Charakterisierung des Vaskularisationsmusters gegenüber qualitativer Auswertung etablierter MRT-Kriterien verbessert [55].

In *Originalarbeit 4* wurde die Ischämie als weitere Perfusionspathophysiologie untersucht [41]. Bei der chronischen Myokardischämie kommt der Mikrozirkulation eine besondere Bedeutung zu – entweder hinsichtlich ihres Kompensationsvermögens oder als zusätzlich verkomplizierende, mitunter sogar primär verantwortliche, pathophysiologische Variable. Angewendet auf vierdimensionale CT-Perfusionsbildgebung unter pharmakologischem Stress aus einer großen multizentrischen Studie (AMPLIFiED [42]) war die Fraktal-Analyse in der Lage die diagnostische Genauigkeit für das Vorliegen einer hämodynamisch relevanten KHK gegenüber der quantitativen Standardauswertung mittels Blutflussrate signifikant zu verbessern. Insbesondere gewann die Perfusionsbildgebung damit

an Spezifität, wobei ein möglicher Grund in der Bedeutung der Mikrozirkulation angenommen werden kann. Eine mikrovaskulär verursachte oder aggravierte Ischämie könnte unter alleiniger Betrachtung der Durchblutungsrate, insbesondere bei vorgeschaltetem mittlerem Stenosegrad der epikardialen Arterien, zu einem falsch positiven Befund hinsichtlich hämodynamisch relevanter Stenosen in den großen Gefäßen führen. Diese Überlegung unterstützt die Hypothese, dass die Fraktal-Analyse die Funktion der Mikrozirkulation und das daraus resultierende Perfusionsmuster zu beschreiben vermag, woraus sich wenigstens ein Teil der verbesserten diagnostischen Genauigkeit ableiten lässt. Die Differenzierung mikro- und makrovaskulärer Ischämie war Inhalt einer weiteren Pilotstudie, die sich nicht unter obigen Originalarbeiten dieser Habilitationsschrift befindet [56]. In jener wurde die Fraktal-Analyse bei pathophysiologisch genau charakterisierten Kohorten eingesetzt, um diagnostische Referenzwerte der fraktalen Dimension zu etablieren: Es zeigte sich eine exzellente Differenzierbarkeit zwischen normaler Perfusion, mikro- und makrovaskulärer Ischämie, wohingegen die myokardiale Durchblutungsrate einen breiten Überlappungsbereich aufwies. Dies zeigt die pathophysiologische Relevanz des räumlichen Perfusionsmusters im Gegensatz zur skalaren Durchblutungsrate auf, wobei letztere v.a. durch ihre hohe interindividuelle Variabilität diagnostisch eingeschränkt ist [9; 39; 40].

Eine ebenso bedeutsame Rolle spielt die Mikrozirkulation im Rahmen der inflammatorischen Neoangiogenese durch Eröffnung eines vaskulären Zugangswegs zum Entzündungsfokus für zelluläre und humorale Faktoren der Inflammation. Interessanterweise findet sich innerhalb der Entzündungsfoci trotz starker Steigerung von Vaskularisation und Permeabilität-Oberflächen-Produkts ein hypoxisches Milieu [57]. Dies deutet darauf hin, dass das inflammatorische Neogngiogenesemuster nicht dem Metabolismus dient, sondern einen vaskulären Zugangsweg für das Immunsystem rekrutiert mit entsprechenden morphologischen und funktionellen Charakteristika des Gefäßbaums [58]. In *Originalarbeit 5* konnte gezeigt werden, dass die fraktale Dimension einen geeigneten quantitativen und objektiven Parameter zur Einschätzung der entzündlichen Aktivität bei Synovialitis im Rahmen rheumatoider und anderer Arthritistypen darstellt [46]. Die Fraktal-Analyse ermöglichte es auch kleinere Entzündungsfoci mit lokalen Angiogenesenestern zu entdecken, die der subjektiven Einschätzung mittels RAMRIS verborgen blieben. Aus klinischer Perspektive kann damit das Aktivitätsgrading objektiviert werden, um somit zu einer quantitativ-basierten Diagnose beizutragen.

### 3.2 Limitationen und Potenzial für weitere Arbeiten

Im Folgenden sollen die Limitationen der Fraktal-Analyse diskutiert und darauf aufbauend Potenzial für weitere Arbeiten abgeleitet werden: Die Software zur Durchführung der Fraktal-Analyse ist vom Autor selbst entwickelt worden und steht daher noch nicht für einen breiteren klinischen Einsatz zu Verfügung. Wie bei vielen quantitativen Methoden ist auch für die Fraktal-Analyse eine gewisse manuelle Interaktion nötig, beispielsweise bei der Segmentierung der interessierenden Regionen oder aber der Ableitung z.B. der arteriellen Input-Funktion. Diese manuellen Schritte könnten sich durch den Einsatz von Techniken aus dem maschinellen Lernen automatisieren lassen, wobei insbesondere die *deep learning*-basierte Segmentierung nennenswert ist. Zwar ist in obigen Arbeiten konsistent eine Betrachtung der Variabilität zwischen verschiedenen Auswertern erfolgt, jedoch schließt dies eine nutzerbedingte Fehlerquelle nicht gänzlich aus, weshalb die Automatisierung (ggf. mit menschlicher Validierung) wünschenswert wäre.

Die betrachteten Softwarephantome hatten das Ziel, die jeweils untersuchte Pathophysiologie zu approximieren. Dies kann durch *in silico*-Simulationen allenfalls bedingt gelingen. Zwar standen für die Anwendungen *in vivo* klinische bzw. pathologische Referenzstandards zur Verfügung, jedoch sollten die Veränderungen im Neoangiogenesemuster idealerweise durch histologische Aufarbeitung der räumlichen Gefäßstruktur verifiziert werden. Dazu wäre es wichtig, ein dreidimensionales Modell des Gefäßbaums aus histologischen Schritten zu errechnen, was jedoch hinsichtlich Schnittartefaktbildung und Co-Registrierung nicht trivial ist. Auf Basis eines solchen Gefäßbaums könnte sich unter Betrachtung der Gefäßdiameter das räumliche Perfusionsmuster bestimmen lassen und in geeignete, physische Phantome umsetzen, die dann wiederum mittels radiologischer Bildgebung untersucht werden könnten.

Die durchgeführten Untersuchungen fanden an zahlenmäßig beschränkten Kollektiven in retrospektiver Auswertung statt, so dass sich unmittelbare klinische Konsequenzen nicht ableiten lassen. Um eine klinische Translation der Fraktal-Analyse zu ermöglichen, wären prospektive Studien für den jeweiligen Kontext durchzuführen, um einen klinisch bedeutsamen diagnostischen oder prognostischen Nutzen einer quantitativen Betrachtung von Perfusionsmustern zu demonstrieren.

Darüber hinaus konnten keine vergleichenden Untersuchungen mit absoluten Durchblutungsmessungen durch Positronenemissionstomographie als Goldstandard für quantitative Blutflussraten durchgeführt werden. Insgesamt stellt die bisher nicht vorhandene prospektive Evidenz der Fraktal-Analyse eine der wichtigsten Limitation dar und bietet zugleich ein weites Feld für zukünftige Forschung.

Die in dieser Arbeit zusammengefassten Anwendungen stellen eine experimentelle Untersuchung der Fraktal-Analyse anhand der drei großen pathophysiologischen Gruppen der Perfusion dar. Darauf aufbauend scheinen vor allem onkologische Anwendungen vielversprechend, wobei sich bisher nicht erfasste Organsysteme bzw. Entitäten, oder aber die Vertiefung der bereits untersuchten Tumoranwendungen anbieten. Beim Prostatakarzinom beispielsweise wäre es relevant zu zeigen, dass sich durch prospektives Anwenden der Fraktal-Analyse tatsächlich ein Vorteil für Patienten ergibt, insbesondere bei den eingeschränkt einordbaren PI-RADS 3 Läsionen oder auch beim Monitoring innerhalb der „*active surveillance*“. Hier könnte die Fraktal-Analyse zur bildgebenden Verlaufskontrolle herangezogen werden, um eine Entdifferenzierung eines bestehenden, nicht-signifikanten Karzinoms voraussagen zu können. Des Weiteren könnte die Fraktal-Analyse zur Verlaufskontrolle nach Radiotherapie helfen, um z.B. noch vitales Tumorgewebe von avitalen Residuen quantitativ zu unterscheiden. Darüber hinaus könnte es nützlich sein, die Fraktal-Analyse zur Verlaufskontrollen unter Immuntherapie einsetzen, was insbesondere bei anti-angiogenetischen Therapieansätzen vielsprechend sein könnte. Möglicherweise ließe sich damit ein Ansprechen frühzeitiger definieren oder aber von einem Pseudo-Progress abgrenzen. Dieses Prinzip könnte auch auf entzündliche Erkrankungen übertragen werden, bei denen die zugleich Symptom und Promotor vieler Entitäten darstellt. Bei der myokardialen Anwendung kann eine Dysfunktion der Mikrozirkulation maßgeblich zur Ischämie last beitragen, woraus sich möglicherweise die diagnostische Verbesserung durch die Fraktal-Analyse ergibt. Dies könnte man sich für den diagnostischen Zugang zur primären mikrovaskulären Ischämie zunutze machen, welcher in der Regel auf der INOCA-Bedingung beruht [37]. Die quantitative Beschreibung der Myokardischämie hinsichtlich eines mikro- oder makrovaskulären Musters könnte diese Bedingung stark aufweichen, insbesondere bei leichten bis moderaten epikardialen Stenosegraden. Eine hierzu durchgeführte Pilot-Studie bekräftigt diese Hypothese [56].

## 4 ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit etabliert die Fraktal-Analyse der Perfusion als ein Verfahren quantitativer Bildgebung für die Beschreibung des radiologisch zu beobachtenden Perfusionsmusters und damit der zugrundeliegenden Architektur der Mikrozirkulation. Für die Fraktal-Analyse der Perfusion wie hier beschrieben ist ein Patent in den USA erteilt worden (United States Patent and Trademark Office, USPTO 10,991,109) und ein europäisches Patent befindet sich zurzeit im Erteilungsprozess (PCT/EP2016/071551). Die Software für die Durchführung der Fraktal-Analyse ist vom Autor selbst entwickelt worden und ermöglicht neben der eigentlichen Fraktal-Analyse auch die Vorverarbeitung mit Bildregistrierung und -segmentierung, sowie die Visualisierung und Auswertung der Ergebnisse. Das pathophysiologische Ziel der Fraktal-Analyse ist es, die Perfusion als ein diagnostisches Kriterium über die bloße Durchblutungsrate und ihre Derivate hinaus nutzbar zu machen. Die im Physiologischen bereits zuvor nachgewiesene fraktale Struktur von Perfusion und Gefäßarchitektur ließ sich in dieser Arbeit unter pathologischen Bedingungen sowohl *in silico* als auch *in vivo* nachvollziehen. Dabei wurde die Fraktal-Analyse anhand der Beispiele des Prostatakarzinoms, des Pankreaskarzinoms, der chronischen Myokardischämie und der arthritischen Synovialitis untersucht. Bei diesen lieferte die fraktale Dimension quantitative Informationen über das jeweilige Perfusionsmuster, woraus sich Rückschlüsse auf zugrundeliegende biologische Veränderungen ziehen lassen konnten. Als Bildgebungsmodalitäten kamen die MRT und die CT zum Einsatz.

Zur Herleitung der pathophysiologischen Hypothese wurde zunächst ein *in silico* Modell basierend auf der fraktalen Geometrie von Gefäßbaum und Perfusion entwickelt. Die Berechnung simulierter, physiologischer Gefäßbäume erlaubte es die fraktale Struktur sowohl der Bifurkationsanatomie als auch des resultierenden Perfusionsmusters nachzuvollziehen. Anschließend sind Software-Phantome mit pathologischen Zuständen, d.h. mit unterschiedlich entdifferenzierten Tumorgefäßnetzwerken bzw. entzündlicher Neoangiogenese, erzeugt worden. Anhand dieser konnte gezeigt werden, dass das simulierte Perfusionsmuster mit dem pathologisch veränderten Gefäßnetzwerk zusammenhängt und sich mittels Fraktal-Analyse beschreiben lässt (*Originalarbeiten 1 und 5*). Die

fraktale Dimension als quantitativer Parameter konnte das Perfusionsmuster hinsichtlich seiner geometrischen Komplexität charakterisieren und damit sowohl simulierte Tumorgade als auch variable entzündliche Aktivitäten unterscheiden.

Auf diesen Ergebnissen aufbauend ist die Fraktal-Analyse in *Originalarbeit 1* retrospektiv an 99 Patienten mit 112 Prostatakarzinomen angewandt worden, um das Tumorgading vorherzusagen, wobei die MRT-gestützte *in-bore*-Biopsie als Referenz diente. Die Differenzierung von nicht-signifikanten (ISUP-Gradgruppe 1) und klinisch signifikanten Karzinomen (ISUP-Gradgruppen 2-5) gelang zuverlässig, wobei auch individuelle ISUP-Gradgruppen mit Ausnahme der beiden höchsten Grade (4 und 5) voneinander unterschieden werden konnten. Die fraktale Dimension hat dabei den apparenten Diffusionskoeffizienten (ADC) als Vergleichsmethode übertroffen. In *Originalarbeit 2* wurden die ermittelten Grenzwerte der fraktalen Dimension in einer unabhängigen Kohorte von weiteren 64 Patienten mit 72 Prostatakarzinomen validiert. Zusätzlich wurde die Kombination der fraktalen Dimension mit PI-RADS evaluiert, um neben der Karzinomdetektion auch eine Aggressivitätseinschätzung zu ermöglichen. Als Limitation beider Arbeiten ist zu nennen, dass jeweils retrospektive Datensätze untersucht wurden und der Beweis eines prospektiven klinischen Nutzens noch zu erbringen ist.

Als weiteres Beispiel aus der Gruppe der Neoplasien wurde in *Originalarbeit 3* die Perfusion des duktales Adenokarzinoms des Pankreas untersucht, welches bildgebend zumeist als minder-kontrastierte Läsion in Erscheinung tritt. Der eigentliche Tumorrund weist jedoch eine ähnliche Perfusionsrate wie das umgebende Pankreasparenchym auf und lässt sich daher oft schlecht von letzterem abgrenzen. Somit können sich Größenunterschiede zwischen der CT-Messung und der tatsächlichen makroskopischen Tumorausdehnung ergeben. In *Originalarbeit 3* wurden 46 Patienten untersucht, wobei in einer Subkohorte von 10 Patienten eine makroskopisch-pathologische Referenzmessung am Resektat vorgenommen werden konnte. Die Größenunterschätzung der CT-Messung gegenüber der Resektatmessung betrug im Mittel 5,7 mm. Bedenkt man, dass das T-Stadium beim duktales Adenokarzinom des Pankreas allein größenbasiert ist und der Grenzwert beispielsweise zwischen den T-Stadien 1 und 2 bei 2 cm liegt, erscheint diese Differenz durchaus relevant. Die Fraktal-

Analyse ermöglichte es die Perfusionsunterschiede zwischen Tumorkern, -rand und tumorfreiem Pankreasparenchym in Form einer Kartierung sichtbar zu machen und erlaubte damit eine deutlich realistischere Größenmessung, die gut mit der Resektatmessung, aber auch mit der multiparametrischen MRT-Messung in der gesamten Kohorte übereinstimmte. Darüber hinaus zeigte sich das globale Perfusionsmuster im Tumorrand chaotischer als das im Tumorkern, was als pathophysiologisches Korrelat der Unterschiede im Kontrastmittelaufnahmeverhalten und damit in der bildgebenden Morphologie gewertet wurde. Dieses konnte durch die Fraktal-Analyse quantitativ fassbar gemacht werden.

Die Ischämie als weitere Perfusionspathophysiologie wurde in *Originalarbeit 4* anhand der dynamischen Stress-Myokardperfusion in der CT untersucht. Bei einer Kohorte von 127 Patientinnen und Patienten aus einer prospektiven multizentrischen Studie konnte die Fraktal-Analyse die diagnostische Genauigkeit zur Detektion von Myokardischämie durch hämodynamisch relevante Stenosen insbesondere hinsichtlich der Spezifität verbessern. Es dienten die myokardiale Blutflussrate als Vergleichsstandard und die invasive Katheterangiographie als kombinierter anatomischer (Stenosegrad) und funktioneller (FFR) Referenzstandard. Die Ergebnisse zeigten das Potenzial der Fraktal-Analyse makro- und mikrovaskuläre Ischämiepattern, sowie normale Perfusion voneinander zu differenzieren, was Gegenstand einer weiteren Arbeit war, die in dieser Schrift nicht näher besprochen wurde. Insbesondere die mikrovaskuläre Ischämie erscheint dabei als ein Aspekt, der in zukünftigen Studien adressiert werden sollte, da ihre Diagnose bei gleichzeitig vorliegenden moderaten Stenosen der großen Koronararterien oft schwierig ist.

Neben der Tumorperfusion und der Ischämie stellt die Inflammation die dritte große pathophysiologische Gruppe der Perfusionsabnormalitäten dar. Zu dieser Gruppe gehört die Synovialitis, die in *Originalarbeit 5* anhand von 36 Patientinnen und Patienten mit verschiedenen Arthritistypen untersucht wurde. Die Fraktal-Analyse ermöglichte hier eine objektive und quantitative Graduierung der Entzündungsaktivität basierend auf dem Perfusionsmuster. Die Fraktal-Analyse zeigte sich überlegen gegenüber der modellbasierten Perfusionsauswertung mittels erweitertem Tofts-Modell, was die Bedeutung des morphologischen Perfusionsmusters und damit der Vaskularisationsstruktur

gegenüber der skalaren Durchblutungsauswertung unterstreicht. Außerdem konnte die Sensitivität zur Erkennung von Entzündungsaktivität gegenüber visueller Auswertung gesteigert werden.

Insgesamt beinhalten die durchgeführten Experimente die Entwicklung einer konsistenten Hypothese zur pathophysiologischen Relevanz der Fraktal-Analyse in der Perfusionsbildgebung, die technische Umsetzung und den *in silico* Machbarkeitsnachweis der Fraktal-Analyse mittels vom Autor selbst entwickelter Software sowie die Anwendung *in vivo* an unterschiedlichen pathophysiologischen Beispielen. Die größten Limitationen sind eine bisher nicht untersuchte prospektive Evidenz und die geringe Verbreitung der Fraktal-Analyse. Die gewonnen Erkenntnisse besitzen jedoch großes Potenzial nicht nur für die Verbesserung des Verständnisses der perfusionsbezogenen Pathophysiologie einer weiten Bandbreite von Erkrankungen, sondern auch für eine Translation in die klinische Anwendung im Bereich der nicht-invasiven Gewebecharakterisierung.

## 5 IN DIESER HABILITATIONSSCHRIFT

### ZUSAMMENGEFASSTE VERÖFFENTLICHUNGEN

**Michallek F**, Huisman H, Hamm B, Elez Kurtaj S, Maxeiner A, Dewey M. Prediction of prostate cancer grade using fractal analysis of perfusion MRI: retrospective proof-of principle study.

*European Radiology*. 2021. DOI: 10.1007/s00330-021-08394-8. **(Originalarbeit 1)**

**Michallek F**, Huisman H, Hamm B, Elez Kurtaj S, Maxeiner A, Dewey M. Accuracy of fractal analysis and PI-RADS assessment of prostate magnetic resonance imaging for prediction of cancer grade groups: a clinical validation study.

*European Radiology*. 2021. DOI: 10.1007/s00330-021-08358-y. **(Originalarbeit 2)**

**Michallek F**, Haouari MA, Dana O, Perrot A, Silvera S, Dallongeville A, Dewey M, Zins M. Fractal analysis improves tumour size measurement on computed tomography in pancreatic ductal adenocarcinoma: comparison with gross pathology and multi-parametric MRI.

*European Radiology*. 2022. DOI: 10.1007/s00330-022-08631-8. **(Originalarbeit 3)**

**Michallek F**, Nakamura S, Kurita T, Ota H, Nishimiya K, Ogawa R, Shizuka T, Nakashima H, Wang YN, Ito T, Sakuma H, Dewey M, Kitagawa K. Fractal Analysis of Dynamic Stress CT-Perfusion Imaging for Detection of Hemodynamically Relevant Coronary Artery Disease.

*JACC: Cardiovascular Imaging*. 2022. DOI: 10.1016/j.jcmg.2022.03.015. **(Originalarbeit 4)**

**Michallek F**, Ulas ST, Poddubnyy D, Proft F, Schneider U, Hermann KG, Dewey M, Diekhoff T. Fractal analysis of perfusion imaging in synovitis: a novel imaging biomarker for grading inflammatory activity based on assessing angiogenesis.

*Rheumatic & Musculoskeletal Diseases (RMD Open)*. 2022. DOI: 10.1136/rmdopen-2021-002078.

**(Originalarbeit 5)**

## 6 LITERATURANGABEN

- 1 Mandelbrot BB (1982) *The Fractal Geometry of Nature*. Henry Holt and Company,
- 2 Mandelbrot BB (1967) How long is the coast of Britain? Statistical self-similarity and fractional dimension. *Science* 156:636-638
- 3 Bassingthwaite JB (1992) Fractal Vascular Growth Patterns. *Acta Stereol* 11:305-319
- 4 Michallek F, Huisman H, Hamm B, Elezkurtaj S, Maxeiner A, Dewey M (2021) Prediction of prostate cancer grade using fractal analysis of perfusion MRI: retrospective proof-of-principle study. *Eur Radiol*. Doi: 10.1007/s00330-021-08394-8
- 5 Bassingthwaite JB, King RB, Rogers SA (1989) Fractal nature of regional myocardial blood flow heterogeneity. *Circ Res* 65:578-590
- 6 Bassingthwaite JB, Beard DA, Li Z (2001) The mechanical and metabolic basis of myocardial blood flow heterogeneity. *Basic Res Cardiol* 96:582-594
- 7 Beard DA, Bassingthwaite JB (2000) The fractal nature of myocardial blood flow emerges from a whole-organ model of arterial network. *J Vasc Res* 37:282-296
- 8 Michallek F, Dewey M (2014) Fractal analysis in radiological and nuclear medicine perfusion imaging: a systematic review. *Eur Radiol* 24:60-69
- 9 Bateman TM, Case JA (2015) Variability in normal myocardial blood flow measurements: physiologic, methodologic, or protocol related? *J Nucl Cardiol* 22:85-88
- 10 Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100:57-70
- 11 Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144:646-674
- 12 Hess W (1913) *Das Prinzip des kleinsten Kraftverbrauches im Dienste hämodynamischer Forschung*. Veit & Comp.,
- 13 Murray CD (1926) The Physiological Principle of Minimum Work: I. The Vascular System and the Cost of Blood Volume. *Proc Natl Acad Sci U S A* 12:207-214
- 14 Michallek F, Huisman H, Hamm B, Elezkurtaj S, Maxeiner A, Dewey M (2021) Accuracy of fractal analysis and PI-RADS assessment of prostate magnetic resonance imaging for

- prediction of cancer grade groups: a clinical validation study. *Eur Radiol*. Doi: 10.1007/s00330-021-08358-y
- 15 Peleg S, Naor J, Hartley R, Avnir D (1984) Multiple resolution texture analysis and classification. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell* 6:518-523
- 16 Herrmann J, Kaski JC, Lerman A (2012) Coronary microvascular dysfunction in the clinical setting: from mystery to reality. *Eur Heart J* 33:2771-2782b
- 17 Pries AR, Reglin B (2017) Coronary microcirculatory pathophysiology: can we afford it to remain a black box? *Eur Heart J* 38:478-488
- 18 Michallek F, Dewey M (2017) Fractal analysis of the ischemic transition region in chronic ischemic heart disease using magnetic resonance imaging. *Eur Radiol* 27:1537-1546
- 19 Paleolog EM (2009) The vasculature in rheumatoid arthritis: cause or consequence? *Int J Exp Pathol* 90:249-261
- 20 Schreiner W (2001) Concepts and features of arterial tree models generated by constrained constructive optimization. *Comments Theor Biol* 6:103-136
- 21 Weis SM, Cheresh DA (2011) Tumor angiogenesis: molecular pathways and therapeutic targets. *Nat Med* 17:1359-1370
- 22 Tilki D, Seitz M, Singer BB et al (2009) Molecular imaging of tumor blood vessels in prostate cancer. *Anticancer Res* 29:1823-1829
- 23 Melegh Z, Oltean S (2019) Targeting Angiogenesis in Prostate Cancer. *Int J Mol Sci* 20
- 24 Litjens G, Debats O, Barentsz J, Karssemeijer N, Huisman H (2017) ProstateX Challenge data. The Cancer Imaging Archive. Doi: 10.7937/K9TCIA.2017.MURS5CL
- 25 Armato SG, 3rd, Huisman H, Drukker K et al (2018) PROSTATEx Challenges for computerized classification of prostate lesions from multiparametric magnetic resonance images. *J Med Imaging (Bellingham)* 5:044501
- 26 Epstein JI, Egevad L, Amin MB et al (2016) The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am J Surg Pathol* 40:244-252

- 27 Turkbey B, Rosenkrantz AB, Haider MA et al (2019) Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2.1: 2019 Update of Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2. *Eur Urol* 76:340-351
- 28 Annese T, Tamma R, Ruggieri S, Ribatti D (2019) Angiogenesis in Pancreatic Cancer: Pre-Clinical and Clinical Studies. *Cancers (Basel)* 11
- 29 van der Zee JA, van Eijck CH, Hop WC et al (2011) Angiogenesis: a prognostic determinant in pancreatic cancer? *Eur J Cancer* 47:2576-2584
- 30 Zhang Z, Ji S, Zhang B et al (2018) Role of angiogenesis in pancreatic cancer biology and therapy. *Biomed Pharmacother* 108:1135-1140
- 31 Delrue L, Blanckaert P, Mertens D, Cesmeli E, Ceelen WP, Duyck P (2011) Assessment of tumor vascularization in pancreatic adenocarcinoma using 128-slice perfusion computed tomography imaging. *J Comput Assist Tomogr* 35:434-438
- 32 O'Malley RB, Soloff EV, Coveler AL et al (2021) Feasibility of wide detector CT perfusion imaging performed during routine staging and restaging of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Abdom Radiol (NY)* 46:1992-2002
- 33 Amin MB, American Joint Committee on Cancer., American Cancer Society. (2017) AJCC cancer staging manual. Eight edition / editor-in-chief, Mahul B. Amin, MD, FCAP ; editors, Stephen B. Edge, MD, FACS and 16 others ; Donna M. Gress, RHIT, CTR - Technical editor ; Laura R. Meyer, CAPM - Managing editor. edn American Joint Committee on Cancer, Springer, Chicago IL
- 34 Michallek F, Haouari MA, Dana O et al (2022) Fractal analysis improves tumour size measurement on computed tomography in pancreatic ductal adenocarcinoma: comparison with gross pathology and multi-parametric MRI. *Eur Radiol*. Doi: 10.1007/s00330-022-08631-8
- 35 Maseri A, Crea F, Kaski JC, Crake T (1991) Mechanisms of angina pectoris in syndrome X. *J Am Coll Cardiol* 17:499-506
- 36 Camici PG, d'Amati G, Rimoldi O (2015) Coronary microvascular dysfunction: mechanisms and functional assessment. *Nat Rev Cardiol* 12:48-62

- 37 Ong P, Camici PG, Beltrame JF et al (2018) International standardization of diagnostic criteria for microvascular angina. *Int J Cardiol* 250:16-20
- 38 Dewey M, Siebes M, Kachelriess M et al (2020) Clinical quantitative cardiac imaging for the assessment of myocardial ischaemia. *Nat Rev Cardiol* 17:427-450
- 39 Uren NG, Melin JA, De Bruyne B, Wijns W, Baudhuin T, Camici PG (1994) Relation between myocardial blood flow and the severity of coronary-artery stenosis. *N Engl J Med* 330:1782-1788
- 40 Alessio AM, Bindschadler M, Busey JM, Shuman WP, Caldwell JH, Branch KR (2019) Accuracy of Myocardial Blood Flow Estimation From Dynamic Contrast-Enhanced Cardiac CT Compared With PET. *Circ Cardiovasc Imaging* 12:e008323
- 41 Michallek F, Nakamura S, Kurita T et al (2022) Fractal Analysis of Dynamic Stress CT-Perfusion Imaging for Detection of Hemodynamically Relevant Coronary Artery Disease. *JACC Cardiovasc Imaging*. Doi: 10.1016/j.jcmg.2022.03.015
- 42 Kitagawa K, Nakamura S, Ota H et al (2021) Diagnostic Performance of Dynamic Myocardial Perfusion Imaging Using Dual-Source Computed Tomography. *J Am Coll Cardiol* 78:1937-1949
- 43 Leblond A, Allanore Y, Avouac J (2017) Targeting synovial neoangiogenesis in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 16:594-601
- 44 Elshabrawy HA, Chen Z, Volin MV, Ravella S, Virupannavar S, Shahrara S (2015) The pathogenic role of angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Angiogenesis* 18:433-448
- 45 Østergaard M, Peterfy C, Conaghan P et al (2003) OMERACT Rheumatoid Arthritis Magnetic Resonance Imaging Studies. Core set of MRI acquisitions, joint pathology definitions, and the OMERACT RA-MRI scoring system. *J Rheumatol* 30:1385-1386
- 46 Michallek F, Ulas ST, Poddubnyy D et al (2022) Fractal analysis of perfusion imaging in synovitis: a novel imaging biomarker for grading inflammatory activity based on assessing angiogenesis. *RMD Open* 8(1):e002078. doi: 10.1136/rmdopen-2021-002078
- 47 Novianto S, Suzuki Y, Maeda J (2003) Near optimum estimation of local fractal dimension for image segmentation. *Pattern Recognition Letters* 24:365-374

- 48 Weinreb JC, Barentsz JO, Choyke PL et al (2016) PI-RADS Prostate Imaging - Reporting and Data System: 2015, Version 2. *Eur Urol* 69:16-40
- 49 Hambrock T, Hoeks C, Hulsbergen-van de Kaa C et al (2012) Prospective assessment of prostate cancer aggressiveness using 3-T diffusion-weighted magnetic resonance imaging-guided biopsies versus a systematic 10-core transrectal ultrasound prostate biopsy cohort. *Eur Urol* 61:177-184
- 50 Xu J, Liang Z, Hao S et al (2009) Pancreatic adenocarcinoma: dynamic 64-slice helical CT with perfusion imaging. *Abdom Imaging* 34:759-766
- 51 Nishikawa Y, Tsuji Y, Isoda H, Kodama Y, Chiba T (2014) Perfusion in the tissue surrounding pancreatic cancer and the patient's prognosis. *Biomed Res Int* 2014:648021
- 52 Arvold ND, Niemierko A, Mamon HJ, Fernandez-del Castillo C, Hong TS (2011) Pancreatic cancer tumor size on CT scan versus pathologic specimen: implications for radiation treatment planning. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 80:1383-1390
- 53 Kassardjian A, Stanzione N, Wang HL (2019) Comparative Accuracy of Tumor Size Assessment and Stage Analysis by Imaging Modalities Versus Gross Examination for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pancreas* 48:223-227
- 54 Di Maggio F, Arumugam P, Delvecchio FR et al (2016) Pancreatic stellate cells regulate blood vessel density in the stroma of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreatol* 16:995-1004
- 55 Michallek F, Sartoris R, Beaufrère A et al (2022) Differentiation of hepatocellular adenoma by subtype and hepatocellular carcinoma in non-cirrhotic liver by fractal analysis of perfusion MRI. *Insights into Imaging*. Doi: 10.1186/s13244-022-01223-6
- 56 Michallek F, Nakamura S, Ota H et al (2022) Fractal analysis of 4D dynamic myocardial stress-CT perfusion imaging differentiates micro- and macrovascular ischemia in a multi-center proof-of-concept study. *Sci Rep* 12:5085
- 57 Konisti S, Kiriakidis S, Paleolog EM (2012) Hypoxia--a key regulator of angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 8:153-162
- 58 Ferrari M, Onuoha SC, Pitzalis C (2016) Going with the flow: harnessing the power of the vasculature for targeted therapy in rheumatoid arthritis. *Drug Discov Today* 21:172-179

## DANKSAGUNG

Meinen hochachtungsvollen Dank, wissenschaftlich wie persönlich, möchte ich

*Herrn Professor Dr. med. Bernd Hamm*

aussprechen für das ausgezeichnete wissenschaftliche und klinische Umfeld, in dem ich meine Weiterbildungs- und Forschungszeit verbringen durfte.

Für seine exzellente Mentorenschaft und sein Gespür für Innovation möchte ich

*Herrn Professor Dr. med. Marc Dewey*

danken, dessen Rat und Unterstützung mich seit dem Beginn meiner Forschungsaktivität begleitet haben. Seine Fähigkeit zu Inspiration und Motivation, sowie die ausgezeichnete, langjährige Zusammenarbeit waren für meine wissenschaftliche und klinische Entwicklung maßgeblich.

Einen persönlichen Dank richte ich an die

*Kolleginnen und Kollegen unserer Klinik für Radiologie*

für die schöne Zusammenarbeit  
und das angenehme Umfeld.

Einen ganz lieben Dank richte ich an

*meine Eltern*

für die stets liebevolle Unterstützung, Motivation  
und den familiären Rückhalt.

## ERKLÄRUNG

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

*Berlin, 20.05.2022*

*Dr. med. Florian Michallek*