

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

DISSERTATION

Kontrastmittelgestützte diffuse optische Tomographie (DOT) zur
Bildgebung benigner und maligner Läsionen der weiblichen
Brustdrüse

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Paul Schneider

aus Rüdersdorf bei Berlin

Datum der Promotion: 30. Mai 2015

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
Zusammenfassung	1
Abstract	3
1 Einleitung	5
1.1 Epidemiologie des Mammakarzinoms	5
1.2 Ätiopathogenese und histologische Einteilung des Mammakarzinoms	7
1.3 Bildgebung des Mammakarzinoms	11
1.3.1 Der Goldstandard in der Bildgebung: die Röntgenmammographie.....	11
1.3.2 Mammographie-Screening	14
1.3.3 Additive Verfahren: Sonographie, Magnetresonanz-Mammographie und Positronenemissionstomographie	17
1.3.4 Optische Brustbildgebung: ein komplementäres Verfahren mit langer Geschichte.....	19
2 Aufgabenstellung	27
3 Material und Methodik.....	29
3.1 Institution und mitwirkende Personen	29
3.2 Patientenkollektiv, Ein- und Ausschlusskriterien	29
3.3 Konventionelle Bildgebung und Pathologie.....	30
3.4 Studiendesign und NIR-Untersuchungsprotokoll	32
3.5 NIR-Imager ‚DYNOT 232‘	32
3.6 Kontrastmittel Indocyaningrün.....	37
3.7 Datenauswertung	38
4 Ergebnisse	46
4.1 Ergebnisse der Histopathologie	46
4.2 Ergebnisse der Analyse der Brustdichte	48
4.3 Ergebnisse der NIR-Bildgebung.....	48
4.3.1 Zeitintensitätskurven (TICs) der An- und Abflutungsphase von ICG.....	48
4.3.2 Peaktime-Amplituden-Analyse (PTA-Analyse)	51
4.3.3 Separate Analyse der Brüste mit hoher Gewebsdichte (BI-RADS 3 und 4).....	54
4.3.4 Sieben klinische Fallbeispiele.....	55

5 Diskussion.....	70
5.1 ICG-Anflutungsverhalten maligner und benigner Läsionen und pathophysiologische Deutung	71
5.2 Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien zur optischen Brustbildgebung	74
5.3 Vergleich der Ergebnisse mit etablierten Verfahren der Brustbildgebung.....	79
5.4 Einfluss der Brustdrüsendichte auf die Sensitivität und Spezifität der optischen Brustbildgebung	81
5.5 Limitierungen	82
5.6 Zusammenfassende Betrachtung der Ergebnisse und Einschätzung des klinischen Stellenwertes	85
6 Literaturverzeichnis.....	86
7 Abbildungsverzeichnis	99
8 Tabellenverzeichnis.....	101
A Eidesstattliche Versicherung	102
B Lebenslauf.....	104
C Publikationsliste	105
D Danksagung	106

Abkürzungsverzeichnis

ACR	American College of Radiology
BET	brusterhaltende Therapie
BI-RADS	Breast Imaging Reporting and Data System
BMI	Body-Mass-Index
BRCA1/2	Breast-Cancer-Gen 1/2
CAD	computer-assisted detection, <i>auch</i> : computer-aided diagnosis
CE-MRM	contrast-enhanced magnetic resonance mammography
CEUS	contrast-enhanced ultrasound
CHEK2-Gen	checkpoint kinase 2 - Gen
CIS	carcinoma in situ, Karzinom in situ
CW	continuous-wave
DOT	diffuse optical tomography, diffuse optische Tomographie
DCE-MRM	dynamic-contrast-enhanced magnetic resonance mammography
DCIS	ductal carcinoma in situ, duktales Karzinom in situ
ESR	Standardbevölkerung nach Europastandard
FA	fibroadenoma, Fibroadenom
FD	frequency-domain
FDG-PET	Fluoro-Desoxy-Glukose Positronenemissionstomographie
FFDM	full-field digital mammography
FHBC	family history of breast cancer
Gd	Gadolinium
HIF	hypoxia-inducible factor
HER2/neu	humaner epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor Nr. 2
ICG	Indocyaningrün
IDC	invasive ductal carcinoma, invasives duktales Karzinom
ILC	invasive lobular carcinoma, invasives lobuläres Karzinom
ILDC	invasive lobular-ductal carcinoma, invasives lobulo-duktales Karzinom
JÜR	Jahresüberlebensrate
KM	Kontrastmittel
LCIS	lobular carcinoma in situ, lobuläres Karzinom in situ
LJ	Lebensjahr

MP	mastopathia, Mastopathie
MRM	Magnetresonanz-Mammographie
MRI	magnetic resonance imaging
MRT	Magnetresonanz-Tomographie
NHL	Non-Hogdkin-Lymphom
NIR	Nahinfrarot
npV	negativer prädiktiver Wert
NIRS	Nahinfrarot-Spektroskopie
OT	optische Tomographie
p53-Gen	Protein p53-Gen
p	Wahrscheinlichkeit des Fehlers 1. Art
PA	peakamplitude, Peakamplitude
PASH	pseudoangiomatöse Stromahyperplasie
PET	Positronenemissionstomographie
ppV	positiver prädiktiver Wert
PTA	Peakttime-Amplitude
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog
RF	Raumforderung
ROC	Receiver Operating Characteristics
RR	relatives Risiko
SFM	screen-film mammography
SMD	standardisierte Mittelwertsdifferenz
TCSPC	time correlated single photon counting
TD	time-domain
TIC	time intensitiy curve, Zeitintensitätskurve
TNBC	triple-negative breast cancer
TP53 Gen	Tumor Suppressor Protein p53-Gen
TGF- β	transforming growth factor beta
TTP	Time to Peak, Peakzeit
VEGF	vascular endothelial growth factor
vs.	versus
WHO	world health organisation, Weltgesundheitsorganisation
WSR	Standardbevölkerung nach Weltstandard
Z.n.	Zustand nach

Zusammenfassung

Einleitung: Ziel der durchgeführten Studie war die Evaluation einer schnellen dreidimensionalen optischen Brustbildgebung unter Benutzung des optischen Kontrastmittels Indocyaningrün (ICG). Dieses nicht-invasive Untersuchungsverfahren gestattet die funktionelle Gewebsuntersuchung unter Verwendung von Licht im Nahinfrarotbereich. Die Anwendung von ICG diene einer möglichen Verbesserung der Detektion und Charakterisierung maligner Läsionen, da optische Studien auf Basis intrinsischer Gewebekontraste durch Hämoglobin, Lipide oder Wasser zum gegenwärtigen Zeitpunkt bislang nicht in der Lage sind, maligne von benignen Läsionen hinreichend gut zu differenzieren.

Methoden: In der Studie wurden 30 Patientinnen mit suspekten Herdbefunden mittels schneller (2 Hz) optischer 3D-Mammographie vor, während und nach der Applikation eines ICG-Bolus (25 mg) untersucht. Im weiteren Verlauf erfolgte eine histologische Sicherung mittels Vakuumstanzbiopsie (Goldstandard). Mithilfe der Perfusionsparameter ‚Peakamplitude‘ (PA) und ‚Time to Peak‘ (TTP) erfolgte eine Analyse der Boluskinetik für jedes Volumensegment der Brust. Mit dem Ziel eines objektiven, untersucherunabhängigen Perfusionsparameters zur Differenzierung tumorbefallener Brüste von gesunden Brüsten, wurde in dieser Arbeit auf Basis der genannten Parameter PA und TTP ein dritter Parameter, die ‚Peakttime-Amplitude‘ (PTA) eingeführt. Mittels einer ROC-Analyse erfolgte die Festlegung eines optimalen PTA-Cut-off-Wertes zur Trennung der malignen und benignen Gruppe.

Ergebnisse: Die Betrachtung der Peakamplituden (PA) und Peakzeiten (TTP) zeigte im Falle der malignen Gruppe *höhere* Amplituden zu *frühen* Zeitpunkten. Für 22 analysierte Brüste (22 Patientinnen) erlaubte die Cut-off-basierte PTA-Analyse eine korrekte Identifizierung bei 12 von 14 malignen Läsionen (Tumorgröße: 8 – 80 mm; Sensitivität = 85,7 %). Eine falsch-negative Detektion wurde für den Fall eines 15 mm invasiven duktales Karzinoms (IDC) und eines 16 mm invasiven lobulo-duktales Karzinoms (ILDC) beobachtet. Von 8 benignen Läsionen wurde ein 10 mm Fibroadenom fälschlicherweise als maligne detektiert (Spezifität = 87,5 %). Die getrennte Betrachtung der Brüste mit hoher Drüsendichte (13 Brüste entsprechend Dichte BI-RADS 3 oder 4) ergab einen leichten Abfall der Sensitivität auf 75,0 % bei nahezu konstanter

Spezifität (83,3 %). Eine statistische Analyse der PTA-Werte beider untersuchten Gruppen ergab einen signifikanten Unterschied (Mann-Whitney U-Test, $p < 0,05$). Insgesamt 8 Patientinnen mussten aufgrund von insuffizienter optischer Ankopplung bei der Messung, einer zu großen Brust oder seltenen histologischen Befunden (T-Zell Lymphom, Melanommetastase) aus der Studienanalyse ausgeschlossen werden.

Schlussfolgerung: Die frühe Perfusionsanalyse mithilfe einer schnellen optischen Tomographie brachte eine spezifische ICG-Anflutungscharakteristik in Brüsten mit malignen Befunden hervor. Basierend auf einem untersucherunabhängigen Ansatz konnten eine hohe Sensitivität (85,7 %) und Spezifität (87,5 %) erreicht werden. Eine klinische Anwendung als nicht-invasives adjuvantes Untersuchungsverfahren bleibt zukünftig zu evaluieren.

Abstract

Background: This study focussed on evaluating fast 3D near-infrared breast imaging using the optical contrast agent indocyanine green (ICG) as a non-invasive technique for functional tissue examination. Currently optical breast imaging is not able to differentiate between malignant and benign breast lesions merely using intrinsic tissue contrast of hemoglobin, lipids and water. The use of ICG aimed on improvement of the detection and characterization of breast masses.

Methods: 30 patients with suspicious breast lesions underwent fast 2 Hz 3D optical mammography before, during, and after administration of a 25 mg ICG bolus prior to needle biopsy (gold standard). The bolus kinetics of each volume segment of the breast was analysed using the two common perfusion parameters 'Peak Amplitude' (PA) and 'Time to Peak' (TTP). Aiming on an objective reader-independent differentiation of benign and malignant lesions a third perfusion parameter based on combination of PA and TTP was introduced: the 'Peaktime-Amplitude' (PTA). With help of a receiver operating characteristic curve (ROC) analysis a PTA cut-off was calculated which allowed separation of both groups.

Results: Functional NIR-Images basing on PA and TTP for ICG perfusion revealed *higher peaks at early time* points for breasts with malignant lesions. For 22 breasts (22 patients) the cut-off-based PTA analysis allowed correct detection for 12 of 14 malignant lesions (tumor size: 8 – 80 mm; sensitivity 85,7 %). Two malignant lesions were missed (IDC, 15 mm; ILDC, 16 mm). In the benign study group only 1 fibroadenoma (10 mm) was detected falsely positive (specificity = 87,5 %). Separate analysis of breasts with high glandular density (13 breasts with BI-RADS 3 or 4) showed a decreased sensitivity (75 %) at similar specificity (83,3 %). Statistical analysis of PTA-values for both groups yielded a significant difference between the benign and malignant group (Mann-Whitney U-test, $p < 0,05$). A total of 8 patients were excluded from data analysis due to insufficient coupling of the breast to the interface, large breast size (exceeding the breast interface) or because of rare histological findings (T-cell lymphoma, melanoma metastasis).

Conclusions: Early perfusion of ICG enhanced 3D fast optical mammography presented different enhancement patterns for breasts with malignant compared to breasts with benign lesions. A reader-*independent* analysis offered a high sensitivity (85,7 %) and specificity (87,5 %). After further investigation this technique might be applicable as an add-on tool in clinical diagnostics.

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie des Mammakarzinoms

Weltweit sterben derzeit 8,2 Millionen Menschen jährlich an Krebs, 2035 werden es laut Hochrechnungen der WHO 15 Millionen sein [1]. Damit sind maligne Erkrankungen aktuell für 13 % aller Todesfälle verantwortlich. Während das Bronchialkarzinom beim Mann die häufigste Krebstodesursache darstellt, ist es bei der Frau das Mammakarzinom. Nach aktuellen Schätzungen der WHO für das Jahr 2012 erkrankten jährlich 1,68 Millionen Menschen am Mammakarzinom, 522.000 verstarben daran. In Entwicklungsländern ist das Mammakarzinom die häufigste, in der entwickelten Welt nach dem Bronchialkarzinom die zweithäufigste krebsbedingte Todesursache der Frau [1]. Die Manifestation beim Mann macht nur etwa 1 % der Fälle aus [2], hier handelt es sich allerdings meistens um hochmaligne genetisch bedingte Fälle [3], welche spät diagnostiziert werden.

Laut aktuellen Zahlen der WHO [1] können global auch für das Jahr 2012 die höchsten Brustkrebsinzidenzen in der industriellen Welt beobachtet werden: Die meisten neu aufgetretenen Brustkrebsfälle bei der Frau werden in Westeuropa (96/100.000) und Nordamerika (92/100.000) beobachtet (Inzidenzen jeweils normiert auf Weltstandardbevölkerung, WSR). Die geringsten Inzidenzen finden sich im afrikanischen und asiatischen Raum: Mittelafrika (27/100.000), Ost-Asien 27/100.000 (hierbei China 22/100.000). Indien als Schwellenland zeigt eine Inzidenz von 26/100.000, das nah gelegene Bhutan zeigt im weltweiten Vergleich eine der geringsten Inzidenzen (5/100.000), ebenso die Mongolei (9/100.000). Höher entwickelte Regionen wie das weiter südöstlich gelegene Singapur (66/100.000) oder Japan (52/100.000) hingegen bilden auch im asiatischen Raum Ausnahmen mit deutlicher Tendenz zu westlichen Industrienationen. Deutschland liegt mit 92/100.000 über der durchschnittlichen EU (28)-Inzidenz von 82/100.000 (WSR). In Europa zeigt sich ein Ost-West Gradient der Inzidenzen.

Zwischen den 1970er und 1990er Jahren stieg die Brustkrebsinzidenz weltweit um etwa 30 - 40 % an [4], am meisten betroffen waren Frauen ab einem Alter von 50 Jahren [4]. Dieser statistische Anstieg beruht neben ätiologischen Faktoren wie einer längeren

Östrogenexposition und veränderten Umwelteinflüssen auch auf einem Anstieg der Screeninguntersuchungen in den Industrieländern seit den 1980er Jahren [4].

Beim internationalen Vergleich der Mortalitätsraten fällt im Gegensatz zu den Inzidenzen eine geringere Spannbreite zwischen Hochinzidenz-Industrieländern mit verbesserter Therapie und Frühdiagnostik gegenüber Entwicklungsländern auf. Die Zahlen bewegen sich zwischen 6/100.000 in Ostasien und 20/100.000 in Westafrika, in Europa starben im Jahr 2012 16/100.000 Frauen am Mammakarzinom (WSR) [1].

Zwischen 1950 und 1990 gab es einen Anstieg der Mortalität in den meisten europäischen Ländern, seitdem sind die Zahlen fallend [5]. Gründe hierfür sind hauptsächlich in der Früherkennung und verbesserter adjuvanter Therapiemethoden zu finden.

Bezüglich der 5-JÜR zeigt die aktuelle Studienlage ein höheres Überleben zugunsten der Länder mit hohem Einkommen wie Nordamerika, Australien, Japan, Nord-, West- und Südeuropa im Vergleich zu Osteuropa oder Ländern wie Brasilien und Algerien [6].

Nach neuesten Zahlen des Robert Koch Institutes erkrankten 2010 in Deutschland etwa 70.000 Frauen an Brustkrebs, hinzu kommen etwa 6500 in-situ Tumoren. Im selben Jahr gingen etwa 17.000 Todesfälle auf die Krankheit zurück [7]. Gemäß dieser Datenbasis erkrankte durchschnittlich 1 von 8 Frauen im Laufe ihres Lebens an einem Mammakarzinom (Lebenszeitrisiko 13,3 %). Durch die Einführung des Mammographie-Screenings kam es ab 2005 zu einem deutlichen Anstieg der erfassten Neuerkrankungen, seit 2009 sind die Zahlen leicht rückläufig [7].

Im Jahr 2010 lebten in Deutschland 308.000 Frauen mit einer bis zu 5 Jahren zurückliegenden Diagnose eines Mammakarzinoms, die relative 5-Jahres-Überlebensrate lag bei durchschnittlich 87 % (Vergleich: Frauen Krebs gesamt 67 %) [7]. Anfang der 1980er Jahre lag sie noch bei 69 % [8]. Somit ist trotz des deutlichen Anstiegs der Inzidenz die absolute Zahl der jährlichen Todesfälle seit 1990 nahezu konstant geblieben (Abbildung 1, [8]).

Das mittlere Erkrankungsalter für ein Mammakarzinom liegt mit 64 Jahren 5 Jahre vor dem durchschnittlichen Erkrankungsalter für Frauen an Krebs [7]. Betrachtet man die altersspezifischen Erkrankungsraten, so erkrankten Frauen der Altersgruppe 65 bis 69 Jahre etwa 7 Mal häufiger als die jüngeren Frauen zwischen 35 bis 39 Jahren [7].

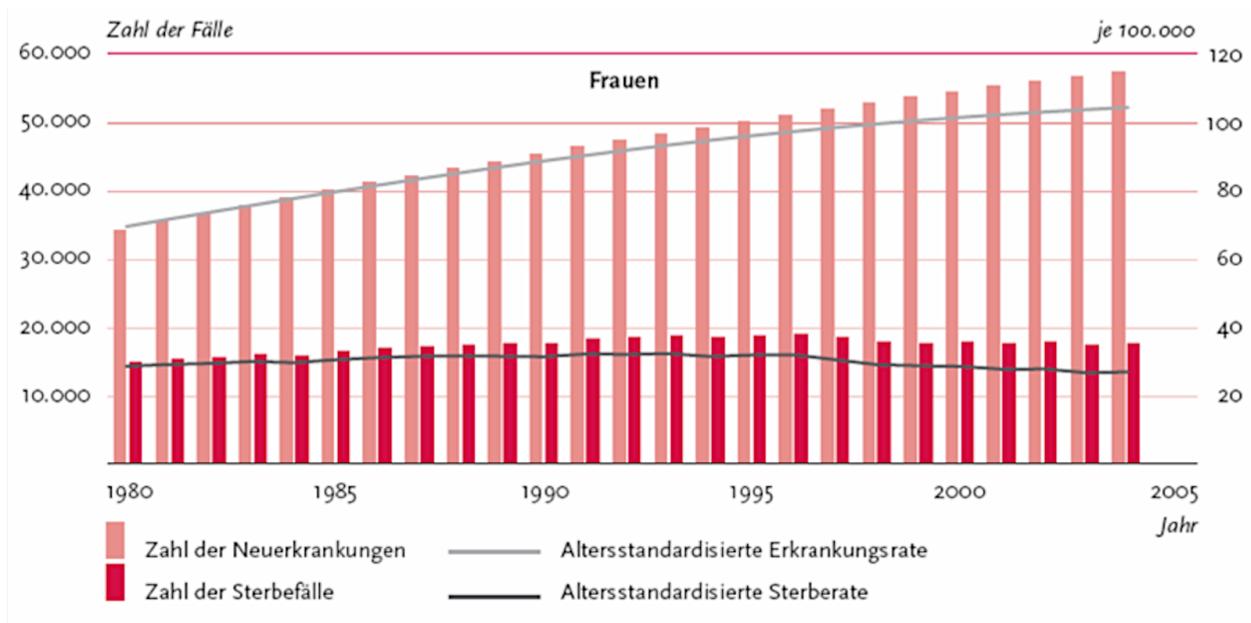


Abbildung 1: Jährliche Neuerkrankungen und Sterbefälle sowie altersstandardisierte Inzidenz- und Mortalitätsrate für das Mammakarzinom in Deutschland (Europastandard). Darstellung nach Robert-Koch-Institut Deutschland [8].

1.2 Ätiopathogenese und histologische Einteilung des Mammakarzinoms

Im Gegensatz zu den benignen Raumforderungen wie Zysten, Fibroadenomen, Lipomen oder Mastopathien werden Karzinome in der Mamma anteilmäßig seltener beobachtet. Wie bei den meisten bösartigen Tumoren ist die Ursache für das Mammakarzinom unbekannt, es ist aber davon auszugehen, dass es sich um ein multifaktorielles Geschehen handelt.

Folgende Risikofaktoren für eine Karzinomentwicklung gelten als allgemein anerkannt: genetische Mutationen, eine positive Familienanamnese (FHBC = family history of breast cancer), ein hohes Alter, eine frühe Menarche (vor dem 12. Lebensjahr) und späte Menopause, Nullipara („Nonnen-Karzinom“), das Vorliegen von Fettleibigkeit (insbesondere in der Postmenopause bzw. dem Senium), eine geringe körperliche Betätigung und Alkoholkonsum [9].

Während der negative Einfluss moderner oraler Kontrazeptiva in der Literatur widersprüchlich diskutiert wird [10], konnte eine geringe Risikoerhöhung für die Hormonsubstitution (HRT = hormone replacement therapy) in den Wechseljahren nachgewiesen werden [10]. Hierbei zeigten sich vor allem Kombinationspräparate aus Östrogen und

Gestagen bei kontinuierlicher Verabreichung problematisch (RR = 1,103). Eine FHBC liegt in etwa 25 % der Krebsfälle vor [11]. Für eine Patientin mit einer Verwandten ersten Grades mit positiver Anamnese steigt das Erkrankungsrisiko im Falle einer betroffenen Schwester auf das achtfache und im Falle einer vor dem Klimakterium betroffenen Mutter auf das vierfache an [9].

Des Weiteren lässt sich bei 5 bis 10 % der Brustkrebsfälle eine autosomal dominant vererbte Mutation im BRCA1/2-, CHEK2-, TP53- und PTEN-Gen nachweisen, wobei BRCA1 am häufigsten betroffen ist [11]. Die Prävalenz der BRCA-Träger liegt weltweit bei etwa 1/800 bis 1/1000 [11], dabei gibt es Populationen mit besonders hoher Prävalenz, wie beispielsweise die Ashkenazi-Juden [12]. Das Lebenszeitrisiko für eine BRCA1/2-Trägerin am Brustkrebs zu erkranken liegt bei 65 bis 80 % (BRCA1) bzw. 45 bis 85 % (BRCA2) [11].

Betrachtet man die Histologie des Mammakarzinoms, so ist Prädilektionsstelle in nahezu allen Fällen das periphere duktulo-lobuläre Brustparenchym. Dabei gehen etwa 70 % der Läsionen von den Milchgängen aus (duktale Adenokarzinome), weitere 10 % von den Drüsenläppchen (lobuläre Adenokarzinome).

Beim häufigsten histologischen Typ, dem invasiven duktalem Karzinom (IDC), beobachtet man eine sehr variable Morphologie: Je nach Gehalt an kollagenen Fasern kommt es entweder zu einem sternförmigen faserreichen Zentrum mit radiären Ausläufern (teils mit begleitenden Hautretraktionen) oder aber zu einer glatten Konturierung im Falle eines geringen Faseranteils. Gelegentlich beobachtet man eine Tubulusbildung, Schleimbildung und intraduktale Anteile. Auch schwanken die drüsige Differenzierung, die Polymorphie der Zellkerne und die Mitoseraten, welche zusammen das histologische Grading bestimmen (Grad 1 bis 3 mit abnehmender Differenzierung, nach Elston und Ellis) [13]. Im Falle des invasiven duktalem Karzinoms kommt dem Grading eine signifikante prognostische Bedeutung zu, bei allen anderen histologischen Typen ist dies nur in geringem Maße der Fall [14].

Das invasive lobuläre Karzinom (ILC), der zweithäufigste histologische Typ, ist normalerweise hoch differenziert und zeigt ein langsames Wachstum. Durch einen Expressionsverlust des Zelladhäsionsmoleküls E-Cadherin besitzt der Tumor charakteristischerweise eine disseminierte Ausbreitung, was ihn radiologisch oft erst spät erkennbar macht. Dabei kommt es bemerkenswerterweise zu keiner nennenswerten Destruktion des Brustparenchyms. Eine Besonderheit des ILC ist sein spezielles

Metastasierungsmuster: Neben den typischen ossären Metastasen finden sich hier auch abdominelle Töchtergeschwülste in Ovarien und Uterus [15].

Neben der histologischen Einteilung der Karzinome nach ihrer Lokalisation (duktal, lobulär) unterteilt man sie auch nach der Dignität: Bei den schon genannten invasiven Karzinomen liegt bereits eine Überschreitung der Basalmembran durch die Tumormassen vor. Dies ermöglicht die prognostisch sehr ungünstige hämatogene oder lymphogene Metastasierung. Als Vorstufe hierzu präsentieren sich die präinvasiven Carcinoma in-situ (CIS). Die CIS machen etwa 15 % aller Mammakarzinome aus und liegen entweder als duktales Carcinoma in-situ (DCIS, ca. 95 %) oder als lobuläres Carcinoma in-situ (LCIS, ca. 5 %) vor. Während es beim LCIS zu einer Ausbreitung eines monomorphen, weitgehend atypiefreien Epithels in die Drüsenläppchen kommt, beobachtet man beim DCIS die Wucherung eines polymorphen Epithels in ektatische Milchgänge, im Gegensatz zum LCIS kommt es hierbei zu Mikrokalzifizierungen. Allerdings kann sich sowohl das DCIS auch retrograd in die Läppchen ausbreiten (Läppchenkanzerisierung) als auch das LCIS über die Läppchen hinaus in die angrenzenden Milchgänge hineinwachsen. Beide CIS besitzen die Tendenz, die Basalmembran zu durchbrechen und in verschiedene invasive Tumorformen (z.B. duktal, lobulär, tubulär, medullär) überzugehen: Im Falle der LCIS beträgt diese Wahrscheinlichkeit für ein Intervall von 15 Jahren etwa 10 %, beim DCIS in einem kürzeren Intervall etwa 25 - 75 % [16].

Neben den beiden häufigsten Karzinomen, dem IDC und dem ILC werden nach den WHO-Kriterien von 2003 noch etwa 20 weitere Karzinome auf Basis ihres unterschiedlichen morphologischen Phänotypus unterschieden. Insgesamt machen sie aber nur einen Anteil von < 5 % aus. Bekannte Vertreter wie das tubuläre Karzinom, das papilläre Karzinom, das medulläre Karzinom, das adenoid-zystische Karzinom oder das muzinöse Karzinom haben in der Regel eine bessere Prognose.

Eine prognostisch besonders schlechte Sonderform ist das inflammatorische Mammakarzinom, welches aufgrund eines ausgeprägten Hauterythems differenzialdiagnostisch mit einer Mastitis verwechselt werden kann. Hier liegt in 80 % der Fälle bei der Diagnosestellung bereits eine Lymphangiomatosis carcinomatosa im Bereich des Coriums vor.

Ein weiterer Sonderfall ist der Morbus Paget, in welchem es zu einer Ausbreitung duktaler Tumorzellen in die Epidermis der Mamille kommt. In ca. 65 % der Fälle stammen diese von einem DCIS, ansonsten oft von einem vorliegenden IDC.

In seltenen Fällen können Malignome der Brust auch dem Fettgewebe, Bindegewebe

oder der Haut entspringen (Sarkome, Histiozytome, malignes Melanom), lymphatischen Ursprungs sein (M. Hodgkin, NHL, leukämische Infiltrate) oder als Metastasen vorliegen (malignes Melanom, Bronchial-Ca, Ovarial-Ca).

Die wichtigsten Prognosefaktoren für das Mammakarzinom sind die Primärtumorgröße und der axilläre Lymphknotenstatus. So findet sich in der Literatur für Patientinnen mit einer Tumorgröße unter 20 mm ohne eine Lymphknotenbeteiligung eine relative 5-JÜR von 96,3 %, bei einem zusätzlichen axillären Lymphknotenbefall von 1 - 3 Lymphknoten sinkt diese auf 87,4 %. Für Patientinnen mit einer Primärtumorgröße von größer-gleich 50 mm ohne eine Lymphknotenbeteiligung wurde eine deutlich geringere relative 5-JÜR von 82,2 % gefunden, bei einem axillären Lymphknotenbefall von 1 - 3 Lymphknoten beträgt diese nur dann noch 73,0 %. Im für dieses fortgeschrittene Größenstadium häufigen Falle einer Beteiligung von über 4 axillären Lymphknoten sinkt die 5-JÜR nochmals auf 45,5 % [17]. Mit zunehmender Tumorgröße steigt auch die Wahrscheinlichkeit für einen positiven Lymphknotenbefall: So zeigen lediglich 21 % der Patientinnen mit einem kleinen Tumor unter 10 mm einen Lymphknotenbefall, bei Tumoren größer-gleich 50 mm sind es bereits 70 % [17]. Dies verdeutlicht die Bedeutung einer frühen Diagnose für die Zukunft der Patientinnen.

Betrachtet man die postoperativen Karzinomrezidive, so tritt der Großteil in einem Intervall von ca. 2 Jahren auf. Allerdings können lokoregionäre Tumorrezidive oder Fernmetastasen selbst noch nach 20 Jahren mit einem Risiko von etwa 5 - 15 % beobachtet werden [18]. In diesem Zusammenhang weist das Mammakarzinom in vielen Fällen die Besonderheit eines langsamen Tumorwachstums auf. So kann es in einigen Fällen bis zu 20 Jahren dauern, bis ein Primärtumor die Größe von 1 cm erreicht hat [19]. Andererseits können in etwa 15 - 20 % der Fälle besonders aggressive Tumoren mit schnellem Wachstum beobachtet werden [20]. Darunter finden sich sogenannte ‚triple-negative breast cancers‘ (TNBC), bei denen sich histologisch keine Rezeptoren für Östrogen oder Progesteron nachweisen lassen. Auch der Nachweis der prognostisch negativen Überexpression des Onkoproteins HER2/neu (humaner epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor Nr. 2), welche normalerweise mit einem negativen Hormonrezeptorstatus einhergeht, gelingt bei diesen Sonderformen nicht. In ihrer Tumorbiologie zeigen diese Tumoren Einschränkungen im Bereich des Tumorsuppressorgens p53, Mutationen im BRCA1-Gen und die Aktivierung verschiedener Tyrosinkinasen [20].

1.3 Bildgebung des Mammakarzinoms

1.3.1 Der Goldstandard in der Bildgebung: die Röntgenmammographie

Die Röntgenmammographie (Mammographie) spielt eine zentrale Rolle in der sekundären Prävention des Mammakarzinoms. Sie stellt die am häufigsten erprobte und evaluierte diagnostische Bildgebungsmethode der Brust dar und repräsentiert derzeit den Goldstandard in der Diagnostik. Ihren Einsatz findet die Mammographie in der Abklärung und Charakterisierung von unklaren Tastbefunden, beim lokalen Staging, beim Brustkrebscreening und in der Tumornachsorge. Alle anderen Verfahren gelten momentan als additiv. Durch die relativ geringen Kosten des Verfahrens besitzt es eine weite Verbreitung.

Bei der Mammographie wird die komprimierte Brust mithilfe von Röntgenstrahlung durchleuchtet. Dabei kommen vergleichsweise geringe Strahlungsenergien von ca. 25 – 30 kV zum Einsatz, als Anodenmaterial verwendet man in der Regel Molybdän, Rhodium oder Wolfram. Gegenüber ‚härteren‘ Strahlungen, wie sie beispielsweise beim Thoraxröntgen (100 – 150 kV) verwendet werden, bietet die weiche Strahlung den Vorteil eines exzellenten Weichteilkontrastes. Als Nachteil sind hier allerdings längere Belichtungszeiten und folglich eine relative hohe Dosisbelastung zu nennen. Eine weitere Besonderheit des Verfahrens ist die Verwendung eines besonders kleinen Röhrenfokus (0,3 mm Kantenlänge), welcher in Kombination mit einem Film-Fokus-Abstand von etwa 60 cm eine Verbesserung der Auflösung gestattet [21]. Auch der Einsatz von Streustrahlenrastern, bestimmten Anoden-Filterkombinationen sowie speziellen Film-Folien-Systemen trägt maßgeblich zur Verbesserung von Kontrast, Schärfe und Bildrauschen bei.

Standard für die Bildakquisition ist die Aufnahme beider Mammae in 2 Ebenen: im kraniokaudalen und im obliquen Strahlengang. Dabei wird besonders darauf geachtet, dass der M. pectoralis abgebildet wird, um thoraxwandnahe Malignome mitzuerfassen. Die obligate Kompression der Brust, welche von vielen Patientinnen als sehr unangenehm empfunden wird, führt durch eine Abnahme der Gewebsdicke zur Dosisreduktion der Strahlung und verhindert eine Objektunschärfe.

Während erstdiagnostizierte Tumoren im Rahmen der Selbstuntersuchung meist einen Durchmesser über 2 cm aufweisen [22], können mithilfe der Mammographie auch kleine Läsionen unter 10 mm mit niedrigem Tumorstatus und einer deutlich besseren Prognose erfasst werden [23].

Aufgrund ihrer exzellenten räumlichen Auflösung liegt die Stärke der Mammographie besonders in der Erkennung von malignen Mikrokalzifizierungen, welche von keinem anderen Verfahren so sensitiv nachgewiesen werden können. Diese haben eine Größe bis etwa 100 -180 μm und treten in unregelmäßigen Gruppierungen auf. Vor allem das Auftreten polymorpher, gruppierter Mikrokalzifizierungen mit 5 oder mehr Partikeln innerhalb eines Kubikzentimeters hat sich in der Routine als malignomverdächtig erwiesen [24]. Neben der Detektion von invasiven Karzinomen, unter denen insbesondere die IDC mit Mikrokalk assoziiert sind und in 70 - 85 % der Fälle auf dessen Basis entdeckt werden, erleichtert ein Mikrokalknachweis auch die Erfassung von den präinvasiven duktalem in-situ Karzinomen (DCIS), einer Vorstufe der invasiven Karzinome [25]. Weitere Malignitätskriterien des klassischen Mammakarzinoms in der Mammographie sind asymmetrische Verdichtungen im Vergleich zur Gegenseite, unscharfe Berandung mit Auftreten sogenannter ‚Krebsfüßchen‘ mit sternförmiger Einstrahlung in das Fettgewebe, eine durch faserige Tumoranteile bedingte Retraktion des umgebenden Fett- und Drüsengewebes (sog. ‚Zeltphänomen‘) sowie eine inhomogene Brustgewebsdichte [24]. Besonders im Falle von medullären und muzinösen Karzinomen kann aber auch eine glatte Berandung vorliegen.

Die Sensitivität der konventionellen Mammographie (‚screen film mammography‘, SFM) wird mit etwa 66 % angegeben [26], ist jedoch stark abhängig von der Brustparenchymdichte der Patientinnen. Bei Brustdrüsen hoher Dichte fällt diese auf 55 % (Pisano et al., [26]). In einer kleineren Studie von Kuhl et al. aus Bonn mit 529 BRCA-Hochrisikopatientinnen wurde für die Mammographie als Stand-alone-Verfahren sogar nur eine Sensitivität von 33 % ermittelt [27], auch eine Metaanalyse von Warner et al. zeigte bei Hochrisikopatientinnen eine limitierte Sensitivität der Mammographie von 30 - 40 %. Bedingt durch die Studiendesigns bleibt es in der klinischen Praxis allerdings generell schwierig, die Rate der falsch-negativen Fälle zu bestimmen, welche in die Berechnung der Sensitivität einfließt.

Bei der Spezifität der Mammographie zeigen sich Werte im Bereich von 90 % [26], bei Zunahme der Brustdrüsendichte zeigen sich moderate Senkungen der Werte [26].

Neben den bereits vorgestellten konventionellen SFM-Geräten gibt es auch die digitale Mammographie (‚full-field digital mammography‘, FFDM). Anstelle eines Film-Foliensystemes kommt bei dieser neueren Technik ein digitaler Detektor zum Einsatz,

welcher eine wesentlich höhere Kontrastauflösung ermöglicht. Bei den Detektoren gibt es Varianten aus amorphem Silizium, Selen oder CCD-Chips. Hierbei besitzen neuere Modelle auf Basis von Selen die höchste Ortsauflösung (70 μm Pixelgröße) und haben gegenüber den weitverbreiteten Siliziumdetektoren den Vorteil, ohne Zwischenschritt über die Umwandlung von Röntgenstrahlen in Licht zu arbeiten [28]. Aufgrund des hohen Wirkungsgrades (‘Detektive Quantum Efficiency’, DQE) digitaler Detektoren erlaubt die FFDM eine Dosisreduktion von etwa 20 % (Stand 2005, [29]). Zusätzlich kommt es zu einer Reduktion von Wiederholungsaufnahmen bei Fehlbelichtungen, sodass insgesamt von einer deutlichen Verbesserung bezüglich der Strahlenexposition auszugehen ist [29].

Bezüglich der diagnostischen Aussagekraft wird die Sensitivität der FFDM gegenüber der SFM insbesondere bei Patientinnen mit dichterem Brustdrüsengewebe sowie Patientinnen mit einem Alter unter 50 Jahren als überlegen eingestuft (70 % vs. 55 % bzw. 78 % vs. 51 %) [26]. Bezüglich der Spezifität sind beide Verfahren annähernd gleichwertig [26]. Insgesamt lässt sich durch den Einsatz der FFDM eine Verbesserung der Detektion kleiner Läsionen erhoffen.

Ein weiteres Feld in der Mammographie ist der Einsatz von Computerprogrammen bei der Befundung (computer-assisted detection, CAD). CAD Systeme können entweder als Hilfsmittel bei der Erkennung von Pathologien im Bild fungieren (computerassistierte Detektion mittels Markierung) oder auch eine eigenständige Aussage bezüglich der Dignität des Tumors liefern (computer-aided diagnosis). Neben dem hochsensitiven Nachweis von Mikrokalk nutzt man in der CAD inzwischen auch Algorithmen, welche suspekte Läsionen auf Basis von Vergleichsbefunden aus Datenbanken bewerten [30]. Auch wenn einzelne nicht randomisierte Studien einen vielversprechenden Anstieg der Tumordetektionsraten von bis zu 19 % für den zusätzlichen Einsatz der CAD bei der Einzelbefundung (‘single-reader’) aufzeigten [31], konnte diese Kombination dem Vergleich mit der bewährten Doppelbefundung (‘double-reader’) in einer Metaanalyse aus dem Jahr 2008 nicht standhalten und lieferte keine signifikante Verbesserung der Detektionsraten [32]. Auch lässt sich der negative Einfluss einer hohen Brustparenchymdichte auf die Mammographiesensitivität für Tumorherde durch den Einsatz der CAD nicht reduzieren. Damit bleibt insbesondere in dichten Brüsten die frühe Tumordiagnose unter Abwesenheit von Mikrokalzifikationen sowohl für den Radiologen als auch die CAD nach wie vor eine Herausforderung [33]. Ein Nachteil der CAD liegt in einem

Anstieg der Wiedereinbestellungsrate („recall rate“) um etwa 10 %, was auch zu einer Verschlechterung der Spezifität führt [32]. Neben dem Einsatz der CAD existieren momentan mehrere andere vielversprechende Ansätze auf Basis der Mammographie, von denen an dieser Stelle insbesondere die Tomosynthese, die Kontrastmittel-Mammographie und das monochromatische Röntgen genannt werden sollten [34].

1.3.2 Mammographie-Screening

Zwischen 2005 und 2008 wurde in Deutschland für Frauen zwischen dem 50. und 69. Lebensjahr ein flächendeckendes Mammographie-Screening mit einem 2-jährigen Untersuchungsintervall eingeführt [35], welches nach strengen Qualitätsstandards der europäischen Leitlinien durchgeführt wird. Diese umfassen u.a. eine unabhängige Doppelbefundung aller Aufnahmen, eine tägliche Qualitätskontrolle der Technik und eine Mindestbefundungszahl von 5000 Mammographien pro Jahr pro Befunder [36].

Informationen bezüglich einer Beeinflussung der Mortalität liefern Studien aus Ländern mit bereits länger etablierten Screeningprogrammen. Die Auswertung mehrerer Langzeit-Follow-up Studien aus dem skandinavischen Raum, darunter die wohl bekannteste, schwedische ‚Two-county-trial‘, deutet auf eine Brustkrebsmortalitätsreduktion von etwa 30 % hin [37]. Nach einem 29-Jahres-Follow-up lag die Anzahl der Patientinnen, die gescreent werden mussten, um ein Patientenleben vor dem Brustkrebstod zu retten auf dieser Datenbasis bei etwa 500 [37]. Bei der Mortalitätsreduktion scheint besonders die Altersgruppe zwischen 50 und 69 Jahren von einem Screening zu profitieren [38,39]. So wird für Frauen in der 4. Lebensdekade in der Literatur bereits nur noch eine Mortalitätsreduktion von 15 % angegeben [40]. Dennoch wird ein niedrigeres Eintrittsalter in die Mammographie-Screeningsprogramme in der Literatur kontrovers diskutiert [41-43], insbesondere für BRCA1/2-Hochrisikopatientinnen.

Bedingt durch eine 10-Jahres-Prävalenz des Mammakarzinoms mit einem Auftreten der Erkrankung bei etwa 0,9 % der weiblichen Bevölkerung (Stand 2004, [35]) führt ein Mammographie-Screening zwangsläufig auch zu vielen falsch-positiven Befunden. So liegt die Nachtest-Wahrscheinlichkeit (positiver prädiktiver Wert, ppV) bei einer positiven Mammographie auch wirklich ein Mammakarzinom zu haben bei etwa 5 %, das heißt, auf ein korrekt identifiziertes Karzinom kommen 19 falsch-positive Befunde.

Dabei ist davon auszugehen, dass während einer 10-jährigen Screeningperiode etwa ein Drittel der Frauen ein falsch-positives Mammographieergebnis erlebt [44]. Jene Patientinnen unterlaufen eine unnötige und oft invasive Abklärung (Biopsie), was zu psychischen Belastungen führt und darüber hinaus ein sozioökonomisches Problem darstellt.

Bedingt durch die hohe Sensitivität der Mammographie für das DCIS über den Nachweis von Mikrokalk kam es seit der Einführung des Mammographie-Screenings zu einem enormen Anstieg von dessen Inzidenz: So handelt es sich inzwischen bei bis zu 25 % der mammographisch detektierten Läsionen um ein DCIS [45].

Da der Übergang von einem DCIS in eine invasive Krebsform abhängig vom histologischen Typ und der Nachbeobachtungszeit allerdings mit sehr unterschiedlicher Progression von 25 - 75 % stattfindet [46,47], gibt es eine kontroverse Diskussion bezüglich der sogenannten Überdiagnose, also der Diagnose einer Erkrankung, an der die Patientin innerhalb ihrer Lebenszeit weder stirbt noch Symptome entwickelt. Schätzungen bezüglich des Ausmaßes der Überdiagnose sind schwierig und besitzen keine Reliabilität, einige Autoren gehen aber von einem Verhältnis von 3 Fällen der Überdiagnose auf 1 gerettetes Patientenleben aus [48].

Kommt es zur Diagnose eines DCIS, sind sowohl die Therapieempfehlung als auch die Prognose dieser Läsion aufgrund ihrer Heterogenität keinesfalls eindeutig: Gab es vor Jahren noch die strikte Empfehlung einer radikalen Mastektomie, welche in 95 % der Fälle kurativ ist [49], stehen heute in vielen Fällen nach vorheriger Abwägung lokale chirurgische Behandlungsmethoden im Vordergrund. Auch diese können eine Entwicklung zu einem invasiven Karzinom mit hoher Wahrscheinlichkeit verhindern [16]. Allerdings können im Falle einer unvollständigen Exzision lokale Rezidive auftreten, welche dann in 50 % der Fälle invasiv wachsen [16]. Hierbei ist eine sorgfältige pathologische Aufbereitung der Resektionsränder für ein weiteres therapeutisches Vorgehen, wie etwa die Indikationsstellung zur Radiatio, ausschlaggebend.

Auch sei an dieser Stelle erwähnt, dass circa 80 % aller Mikrokalzifikationen benignen Natur sind [24], sodass bei jeder Mammographie, egal ob kurativ oder im Rahmen eines streng qualitätsüberwachten Screening-Programmes, hohe Ansprüche an die Interpretationsfähigkeit und Erfahrungen des Befunders bestehen.

Einige Autoren stellen den Nutzen eines flächendeckenden Brustkrebscreenings generell in Frage und verweisen in ihren Metaanalysen auf methodische Fehler bisheriger Studien, insbesondere bei der Randomisierung und Klassifikation der Todesursache [50]. Auch die unerwünschte, schwer quantifizierbare Überdiagnose wird als deutliche Limitierung angeführt [40,48,50,51], sodass weitere Studien hierzu abzuwarten sind. Bei der derzeitigen Datenlage ist jedoch davon auszugehen, dass die Brustkrebsmortalitätsreduktion beim Röntgenmammographie-Screening die unbestreitbaren Nachteile der Überdiagnose und der falsch-positiven Diagnosen überwiegen dürfte [52].

Das Risiko einer strahleninduzierten Karzinogenese an der Mamma ist nach de Gelder et al. die bei einem 2-jährlichen Screening zwischen 50 und 74 Jahren als gering einzustufen. Das Verhältnis von induzierter Mortalität zur Mortalitätssenkung beträgt 1 : 445 bei einer gängigen Strahlendosis von 2 mSv pro Aufnahme („per view“), bei 5 mSv pro Aufnahme beträgt es 1 : 178, ebenso führt ein niedrigeres Eintrittsalter von 40 Jahren zu einer Erhöhung auf 1 : 227 [53]. Das Auftreten strahleninduzierter Karzinome erfolgt in der Regel erst nach frühestens 10 bis 20 Jahren nach der Strahlenbelastung. Inzidenz und Mortalität können hier nur geschätzt werden, oft geschieht dies auf Basis von Beobachtungsstudien an Menschen mit unvermeidlicher Exposition (Überlebende der Hiroshima-Katastrophe, Tbc-Patienten mit hochfrequenten Röntgen-Thoraxuntersuchungen).

Das Brustdrüsengewebe junger Frauen ist wesentlich strahlenempfindlicher als das bei älteren Frauen. Das Risiko für ein strahleninduziertes Mammakarzinom ist in der Altersgruppe zwischen 20 - 29 Jahren doppelt so hoch wie das zwischen 40 - 49 Jahren und sogar zehnmal höher als das bei einer Patientin über 50 Jahren [54]. Dementsprechend lehnen einige Autoren ein Röntgenmammographie-Screening bei Patientinnen unter 50 Jahren ab [55].

1.3.3 Additive Verfahren: Sonographie, Magnetresonanz-Mammographie und Positronenemissionstomographie

Die Sonographie ist ein nicht-invasives Verfahren, dessen klinischer Einsatz in der Mammadiagnostik bis in die 1950er Jahre zurückreicht [56], wobei die Mamma eines der ersten mit Schallwellen untersuchten Organe war. Die Stärken des Verfahrens liegen vor allem in der Darstellung von Pathologien im dichten Drüsengewebe, bei vermehrter Fettgewebsdichte nimmt der Tumorkontrast hingegen ab. In einer Reihe von Beobachtungsstudien konnte gezeigt werden, dass die Sonographie in der Lage ist, mammographisch-negative Läsionen zu detektieren und damit als additive Methode die Sensitivität der Mammographie verbessern kann [31]. Ein alleiniger Einsatz der Methode ist durch die beschränkte Sensitivität von etwa 75 % nicht indiziert [57,58]. Eine Hauptlimitierung beim Einsatz im Screening stellt die falsch-positive Rate des Ultraschalls dar [57], da sie zu unnötiger Diagnostik und Biopsien führt. Ein weiterer entscheidender Nachteil ist, dass es sich bei der Sonographie um eine zeitaufwändige Untersuchung mit stark untersucherabhängigen Ergebnissen handelt. So liegt der klinische Einsatz hauptsächlich in der Abklärungsdiagnostik unklarer Befunde, wie z.B. asymmetrischen Verdichtungen in der Mammographie. Der routinemäßige Einsatz beschränkt sich als additive Methode zur obligaten Basismammographie und bietet sich vor allem bei Patientinnen mit hoher Brustdichte sowie bei Risikopatientinnen unter 35 Jahren mit MRT-Kontraindikationen an. Weitere Anwendung findet das Verfahren in der Tumornachsorge und als stereotaktische Bildgebung bei Interventionen am Brustgewebe (Biopsien, präoperative Drahtmarkierungen der Tumorherde) [57]. Auf Basis der Sonographie haben sich neuere Verfahren wie die Kontrastmittelsonographie, die Farbdopplersonographie oder die Elastographie entwickelt, deren Einzug in die klinische Routine jedoch noch aussteht.

Ein wesentlich jüngeres additives Verfahren in der Mammadiagnostik ist die Magnetresonanz-Mammographie (MRM). Das Verfahren besitzt eine hohe Sensitivität, die Angaben in der Literatur schwanken zwischen 89 % und 100 % und liegen damit über denen anderer etablierter Bildgebungsverfahren [59]. Für die Spezifität des Verfahrens werden von Heywang-Kobrunner et al. gegenüber der Mammographie verminderte Werte von 72 - 75 % angegeben [60].

Bei der Erkennung von DCIS ist die MRM bezüglich der Sensitivität der Mammographie laut einigen Studien überlegen. Hierbei werden insbesondere die aggressiven High-grade-Karzinome mit histologisch hohem Kernmalignitätsgrad gut detektiert [61].

Bei der Differenzierung zwischen malignen und benignen Tumoren ist neben morphologischen Kriterien hauptsächlich deren Kontrastmittelaufnahme entscheidend. Bei den eingesetzten niedermolekularen Gadoliniumverbindungen zur Kontrastverbesserung kommt es zu einer raschen Extravasation ins extrazelluläre Kompartiment. Dieser Effekt kann durch die erhöhte Gefäßpermeabilität von Tumorgewebe dort entsprechend verstärkt beobachtet werden.

Das Einsatzgebiet der MRM ist kostenbedingt auf spezielle klinische Indikationen limitiert. Hierzu zählen im Wesentlichen die Abklärung brustwandnaher Tumoren, die präoperative Abklärung einer Multizentrität oder Multifokalität, die Rezidivdiagnostik nach brusterhaltender Therapie (BET) mit der Fragestellung Narbe vs. Tumorgewebe, die Diagnostik beim Nachweis von Lymphknotenmetastasen bei unauffälliger Mammographie/Sonographie-Bildgebung (okkulte Mammakarzinome), Vorsorgeuntersuchungen bei Hochrisikopatientinnen, die Diagnostik nach autologen Brustrekonstruktionen oder Brustaugmentationsplastiken (Silikon) oder das Therapiemonitoring unter neoadjuvanter Chemotherapie [62]. Die Abklärung von Mikrokalk und die Klärung der Tumordignität stellen in der Praxis keine Indikationen für eine MRM dar [62].

Für den zukünftigen Einsatz steht neben der Entwicklung neuer Sequenzen auch die Evaluation neuer Kontrastmittel zur Verbesserung der Spezifität im Fokus der Forschung [62,63].

Die Positronenemissionstomographie (PET) ist ein Verfahren der funktionellen Bildgebung, wobei der Glukosestoffwechsel von Tumoren mittels Fluoro-Desoxy-Glukose (FDG) untersucht wird. Die Stärke des Verfahrens liegt darin, neben den primären Tumoren auch Metastasen an fernen Körperstellen auffinden zu können. Schwächen liegen vor allem beim Nachweis kleiner Herde unter 1 cm, von Herden mit einem eingeschränkten Glukosestoffwechsel durch langsames Tumorwachstum oder eine bereits durchgeführte Chemotherapie aber auch im Nachweis besonders ausgedehnter Metastasen [64]. Der Einsatz der PET erfolgt hauptsächlich im Rahmen klinischer Studien.

1.3.4 Optische Brustbildgebung: ein komplementäres Verfahren mit langer Geschichte

Die optische Bildgebung macht sich zunutze, dass Licht bestimmter Wellenlängen Körpergewebe einige Zentimeter durchdringen kann. Aufgrund ihrer Gewebsbeschaffenheit und dem Fehlen von knöchernen Strukturen eignet sich die weibliche Brust hierzu in besonderem Maße.

Durchleuchtet man Gewebe mit Licht, so treten prinzipiell drei Phänomene auf: Reflexion, Absorption und Transmission. An der Grenzfläche des Gewebes zur Luft beschreibt ein Teil des Lichtes eine Totalreflexion, also eine vollständige Reflexion des Lichtes ohne ein Eindringen ins Gewebe. Dieses Phänomen tritt v.a. bei schlechtem Kontakt der Lichtquelle zum Gewebe auf. Ein weiterer Teil dringt in das Gewebe ein, wird aber bedingt durch Lichtstreuung ebenfalls zurückreflektiert (diffuse Reflexion) oder im Gewebe vollständig absorbiert (Absorption). Nur ein vernachlässigbarer Anteil der ausgesandten Photonen beschreibt eine geradlinige direkte Transmission. Diese aufgrund der geringeren Wegstrecke zuerst am Detektor registrierten Photonen bezeichnet man als ‚ballistische‘ Photonen oder ‚snake photons‘ [65]. Auf ihrer Grundlage ließe sich theoretisch die höchste örtliche Auflösung bei einer Durchleuchtung erzielen. Allerdings unterliegen sie einem niedrigen Signal-Rausch-Verhältnis, was ihre Erfassung kompliziert gestaltet. In der Brust besteht das transmittierte Licht bei Gewebsdicken im Zentimeterbereich vielmehr aus diffus gestreuten Photonen oder im Falle einer stärkeren Streuung aus diffus gestreuten Photonen. Zwischen einer Lichtquelle und einem Detektor liegt der Bereich mit der höchsten Photonendichte innerhalb eines gekrümmten, spindelförmigen Bereichs (Abbildung 2). Aufgrund des bananenförmigen Aussehens wird bei diesem Modell der Photonenflugbahnen auch vom sogenannten ‚banana shape‘ gesprochen [66]. Während die Flugbahnen der Photonen nahe des Gewebseintritts- und Austrittspunkts dicht beieinanderliegen, kommt es in tieferen Gewebsschichten zu einer verstärkten räumlichen Ausweitung.

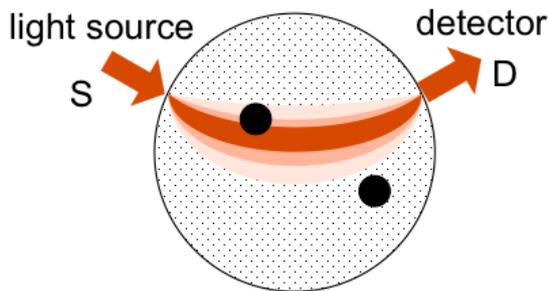


Abbildung 2: Schematische Darstellung zur diffusen Lichtpropagation im Gewebe. In der Abbildung wird die ‚bananenförmige‘ Ausbreitung der Photonen zwischen einer Quell-Detektor-Kombination visualisiert (‚S‘: Lichtquelle/Source, ‚D‘: Detektor). Die Graduierung der Rotfärbung beschreibt Zonen verschiedener Photonendichten (dunkelrot = hohe Photonendichte, hellrot = niedrige Photonendichte). Die beiden schwarzen Kreisflächen symbolisieren jeweils eine Raumforderung (RF), wobei die nur obere RF innerhalb des sensitiven Bereiches der Quell-Detektor-Kombination liegt. Darstellung nach Schmitz [67].

Will man größere Volumen durchleuchten, so ist in Kauf zu nehmen, dass hier die diffuse Streuung gegenüber der Absorption dominiert (der sogenannte *effektive Streuungskoeffizient* μ'_s (Anzahl Streuprozesse pro mm Weglänge im Gewebe) ist etwa 100-mal größer als der *Absorptionskoeffizient* μ_a (Anzahl Absorptionsprozesse pro mm Weglänge im Gewebe), [68]). Man spricht deshalb auch von ‚diffuser optischer Bildgebung‘ (diffuse optical imaging, DOI).

Bereits im Jahr 1929, als diese modernen Grundlagen noch weitestgehend unbekannt waren, gab es erste Versuche zur Anwendung von Licht zur klinischen Brustbildgebung. Ähnlich der heute in der Urologie gebräuchlichen Diaphanoskopie durchleuchteten Cutler et al. damals Brustdrüsen mittels einer einfachen, kontinuierlichen Lichtquelle in einem abgedunkelten Raum [69]. Trotz der zum Teil beeindruckenden dokumentierten Aufnahmen von Tumoren und Blutgefäßen blieben die Erfolge der einfachen Transillumination allerdings aus. Zudem kam es bedingt durch die hohe Lichtintensität der eingesetzten Lichtquelle zu Hautverbrennungen bei den Patientinnen.

Auch spätere Versuche blieben erfolglos, sodass die Forschungen auf diesem Gebiet in den 1940er Jahren vorerst eingestellt wurden.

Erst 1972 kam es in Frankreich zu erneuten Versuchen zur ‚Diaphanographie‘ durch Gros et al. [70], hierbei erstmals unter Einsatz von Infrarotlicht. Dieses weist besonders im Nahinfrarotbereich zwischen etwa 690 und 900 nm die beste Transmission im

Gewebe auf [71]. In der Literatur wird hierfür eine Eindringtiefe von etwa 10 cm beschrieben [72].

Neue Entwicklungen im Halbleiterbereich, die Verfügbarkeit von Laserlichtquellen und empfindlichen Detektoren sowie die Etablierung moderner Videokameras eröffneten in den 1980er Jahren dann neue Dimensionen. So veröffentlichte Carlsen et al. 1982 eine Studie unter Einsatz von Videokameras, welche ein ‚real-time viewing‘ und spektrale Analysen ermöglichten [73].

Bei einem später entwickelten spektroskopischen Untersuchungsansatz nutzt man die drei hauptsächlichen Absorber im Nahinfrarotspektrum, welche natürlicherweise im Gewebe vorkommen: Wasser, oxygeniertes Hämoglobin und deoxygeniertes Hämoglobin. Dieser spektroskopische Ansatz wurde maßgeblich von Jobsis et al. in den 1970er Jahren geprägt [74] und erhielt später dann die Bezeichnung ‚Nahinfrarot-Spektroskopie‘ (NIRS) [75]. Noch heute ist die NIRS die Basis für native optische Bildgebung.

Betrachtet man die Absorptionseigenschaften der 3 Hauptabsorber, so gibt es im Nahinfrarotbereich ein spektrales ‚Fenster‘ bei 700 - 1000 nm, welches eine gute Messbarkeit des Hämoglobins bietet. Bei höheren Wellenlängen steigt die Absorption von Wasser stark an und führt zu einer Verschattung des Hämoglobins [71].

Des Weiteren unterscheiden sich die Absorptionskoeffizienten von Oxy- und Deoxyhämoglobin im nahinfraroten Spektralbereich ausreichend, um beide Stoffe in der Bildgebung gut voneinander differenzieren zu können. Hierbei nimmt man idealerweise eine Wellenlänge um 760 nm zur Erfassung des Deoxyhämoglobins und einen zweiten Messkanal mit etwa 830 nm für das Oxyhämoglobin [76]. Ähnlich der Technik der klinisch weitverbreiteten Pulsoxymetrie kann durch Messung auf diesen zwei verschiedenen Wellenlängen eine Quantifizierung der Stoffe erfolgen. Neuere Techniken erlauben dabei durch Benutzung frequenzmodulierter Laser eine Kalkulation der Photonenwegstrecken durch das Gewebe [77], was die Berechnung der absoluten Hämoglobinkonzentrationen im Gewebe ermöglicht [71].

Dieser funktionelle Einblick ins Gewebe lässt Rückschlüsse über Blutvolumen und Oxygenierung zu, was die NIRS für die Tumorbildgebung prädestiniert, da hier oft eine erhöhte Vaskularisierung vorliegt [78]. Neben dem Gebiet der Mammographie findet die NIRS auch breite Anwendung in anderen Bereichen der Medizin, wie beispielsweise der funktionellen Bildgebung am cerebralen Cortex [79].

Trotz einiger vielversprechender NIRS Studien aus den 1980er Jahren [80,81] kam

1990 eine schwedische Multicenter-Studie von Alveryd et al. nach der Untersuchung von über 2500 Patientinnen zu dem Schluss, dass die Diaphanographie der traditionellen Brustbildgebung noch deutlich unterlegen war. So hatte sie vor allem Schwächen bei der Detektion kleiner Herde und lieferte etwa dreimal so viele falsch-positive Ergebnisse im Vergleich zu konventionellen Methoden [82]. In der folgenden Zeit wurden Computermodelle zur Simulation der Photonenausbreitung in lichtstreuenden Medien entwickelt. Zusammen mit der Nutzung verschiedener Quell-Detektor-Kombinationen ermöglichten diese nun eine Bildrekonstruktion der optischen Messdaten. So gelang es erstmalig Hebden et al. im Jahr 1991 [83] und drei Jahre später auch Nioka et al. [84] eine 2-dimensionale Bildrekonstruktion durchzuführen. Dieser Fortschritt ermöglichte eine bessere Darstellung von suspektem Gewebe im Vergleich zur vorher praktizierten einfachen Transillumination und war ein erster Schritt in Richtung der diffusen optischen Tomographie (DOT).

Bei der heute praktizierten DOT erlaubt das gleichzeitige Durchführen der Messungen unter verschiedenen Einstrahl- und Detektionswinkeln die dreidimensionale tomographische Darstellung von Brustgewebe. Beim Geräte-Setup unterscheidet man dabei verschiedene Quell-Detektor-Geometrien: 1) einer transmissiven Geometrie (Quellen und Detektoren gegenüberliegend auf jeweils einer Seite des Gewebes), 2) einer reflektiven Geometrie (Quellen und Detektoren nebeneinander) und 3) einer zirkulären / annulären Geometrie, bei der Quellen und Detektoren das Gewebe ringförmig umschließen [71]. Unter Anwendung der optischen Tomographie sind Messtiefen von 12 cm beschrieben geworden [85]. Die Erhöhung der Anzahl an Quell- und Detektorkombinationen hat die Ortsauflösung auf bis zu 6 - 10 mm deutlich verbessert, wobei eine zunehmende Messtiefe zu schlechteren Ergebnissen führt [86].

Ein weiterer entscheidender Beitrag zu dieser Verbesserung ist eine Modulation des Laserlichtes: Neben der bereits 1929 von Cutler et al. eingesetzten klassischen Messung mit kontinuierlichem Licht (,Continuous-wave-Technik', CW) und der bereits angesprochenen moderneren Technik mit frequenzmoduliertem Licht (,Frequency-domain'-Technik, FD) gibt es noch eine dritte Methode, in der gepulstes Licht eingesetzt wird (,Time-domain'-Technik, TD). Bei dieser Technik werden kurze rechteckige Laserimpulse im Picosekundenbereich mit einer Rate von bis zu 50 Hz in das Gewebe ausgesendet. Durch die Streuung sind die Lichtpulse bei Gewebsaustritt zeitlich verbreitert und in ihrer Amplitude abgeschwächt registriert werden. Über eine diskrete Auswertung der zeitlichen Impulsprofile lassen sich dann die Flugzeit der Photonen (,time of flight') und

Länge ihrer Flugbahn rekonstruieren. Dabei deutet ein späteres Intensitätsmaximum des Impulses auf eine längere Wegstrecke und eine höhere Streuung hin. Weiterhin spricht ein steiler Abfall der Pulsamplitude für einen hohen Absorptionskoeffizienten im Gewebe [87]. Durch die Einführung der zeitaufgelösten Einzelphotonenmessung („time-correlated single photon counting“, TCSPC) konnten die Kosten für dieses physikalisch anspruchsvolle Verfahren gesenkt werden [88]. Imager dieser Art kommen beispielsweise in den Arbeitsgruppen um Grosenick [89-91] und Ntziachristos [92,93] zur Anwendung.

Zum Vergleich: Bei der FD-Methode (Pogue et al. [94]) wird das Laserlicht sinusförmig mit Frequenzen von 100 - 1000 MHz amplitudenmoduliert [95]. Durch den Vergleich der durch die Brust gelaufenen phasenverschobenen und amplitudenabgeschwächten Lichtsignale mit einem Referenzsignal können orts aufgelöste Gewebsparameter berechnet werden.

Beide letztgenannten Methoden ermöglichen eine Verbesserung der Ortsauflösung gegenüber der CW-Technik [96]. Dabei besitzt die FD-Technik im Vergleich zur sensitiveren TD-Methode eine etwas schlechtere Ortsauflösung, ist aber kostengünstiger und gestattet ein schnelleres Sampling von bis zu 50 Hz. Bei Gewebsdicken über 6 cm eignet sich wiederum die TD-Methode bedingt durch ihren Einsatz starker, gepulster Laser und die Einzelphotonenmesstechnik besser [97].

Bei der klassischen CW-Methode sind einige Nachteile zu nennen: Zum einen nimmt die örtliche Präzision der Messung für tiefere Gewebsschichten stark ab. Dies liegt daran, dass sämtliche Photonen nur unselektiv registriert werden können und der eingangs beschriebene Flugbereich („banana shape“) in tieferen Gewebsschichten breit ist und nur im oberflächennahen Bereich gebündelt verläuft.

Zum anderen besteht eine hohe Anfälligkeit im Bereich der Lichtankopplung an das Gewebe, da die Methode allein auf der Messung der abfallenden Lichtintensität nach Durchdringung des Gewebes basiert. Trotz der Einführung einer differenzierten Amplitudenanpassung für jede Quell-Detektor-Kombination („gain setting“) hat sich der Fokus bei der CW-Messung deshalb auf die Erfassung von relativen Lichtintensitätsänderungen gelegt, da keine Absolutwerte erhoben werden können [97].

Dennoch hat die CW-Methode seit den 1990er Jahren ihren Wiedereinzug in die klinische Forschung erhalten und stellt das am häufigsten eingesetzte System dar [72].

Die Vorteile dieses Verfahrens liegen vor allem in seiner Schnelligkeit und den vergleichsweise geringeren Kosten.

Als Beispiel sei hier der von Schmitz et al. entwickelte ‚DYNOT‘-Imager (**DY**namic **N**ear-Infrared **O**ptical **T**omography) genannt [98,99], der in abgewandelter Form auch in dieser Studie verwendet wurde.

Betrachtet man die Entwicklungen der letzten Dekade, so gelang es in vielen Studien, maligne Läsionen mithilfe der DOT sichtbar zu machen [89,93,94,100-105]. Dabei konnte man einen erhöhten Hämoglobingehalt, ein erhöhtes Blutvolumen und eine Ent-sättigung des Hämoglobins im Tumorgewebe beobachten, was mit einer erhöhten Vas-kularisation und einem gesteigerten Sauerstoffbedarf von Tumoren zu erklären ist [78]. Eine Metaanalyse von Leff et al. aus dem Jahr 2007 wertete dazu insgesamt 34 klini-sche Studien mit über 2.000 Patientinnen zur DOT aus [88]. In durchschnittlich 85 % der Fälle war eine Identifikation einer gesteigerten Vaskularisation möglich gewesen. Allerdings ist hier einschränkend zu erwähnen, dass die Detektion in der Mehrzahl der Studien retrospektiv auf der Basis von Mammographien erfolgte. So untersuchte eine Studie von Taroni et. al 2004 beispielsweise 169 maligne und 56 benigne Läsionen an 194 Patientinnen. Dabei wurden 79 % der Zysten, 34 % der Fibroadenome und 83 % der malignen Tumore erkannt. Bei den Tumoren unterlag die Sensitivität jedoch einer starken Abhängigkeit vom Läsionsdurchmesser [106]. Dies stellt einen generellen Prob-lem-punkt bislang durchgeführter Studien dar, sodass Leff et al. zu der Erkenntnis kom-men, dass die native DOT bislang an der Erkennung kleiner Läsionen unter 10 mm scheitert. Diese Limitierung lässt die Technik für den Bereich des Brustkrebs-Screenings nach wie vor unbrauchbar erscheinen, da die Mortalität bei Tumoren über 10 mm rapide ansteigt [107]. Eine zuverlässige Differenzierung benignen von malignen Läsionen auf Basis intrinsischer Parameter bleibt abzuwarten [88].

Einige Autoren kommen zu dem Schluss, dass die klinische Zukunft der nativen DOT weniger in der Ablösung anatomisch hochauflösender Techniken wie Röntgenmam-mo-graphie, Sonographie oder MRT liegt, sondern ihre Stärken vielmehr in der funktionel-len Bildgebung zu suchen sind [97].

Erste klinische Ansätze gibt es hierzu bereits im Bereich des Monitorings neoadjuvanter Chemotherapien an bereits diagnostizierten Brustläsionen [108].

Ein weiterer Ansatz ist das multimodale Imaging, d.h. die Implementierung der DOT in konventionelle hochauflösende Bildgebungstechniken wie MRT [109], Röntgenmam-mo-graphie [110] oder Ultraschallgeräte [105]. Die Ergebnisse klinischer Studien bezüg-lich eines Gewinnes an diagnostischen Informationen sind hierzu jedoch noch

widersprüchlich [105,111], sodass für eine Evaluierung noch weitere Studien abzuwarten sind.

Ein neuer Ansatz ist die Verwendung von extrinsischen Stoffen zur Verbesserung des Kontrastes. Hierbei gab es in den letzten Jahren einige Versuche unter Einsatz der Substanz Indocyaningrün (ICG). ICG gehört der Stoffgruppe der Cyanine an und ist ein hydrophiler Stoff, welcher nach intravenöser Applikation proteingebunden im Blut vorliegt. Die Bindung an die Plasmaproteine erfolgt zu 95 % an β -Apolipoprotein B, welches man in die Apolipoproteine ApoB-100 und ApoB-48 unterteilt. Apolipoproteine stellen den hydrophilen Proteinanteil von Lipoproteinen dar und fungieren zusammen mit Phospholipiden als Transportstoffe für wasserunlösliche Fette im Blut. Mit einer Molekülmasse 550 kDa bzw. 250 kDa zählen ApoB100 und ApoB-48 zu den größten Vertretern ihrer Gruppe und sind nicht in der Lage, normales Gefäßendothel zu passieren. An Apolipoproteine gebundenes ICG kann als makromolekulares Kontrastmittel angesehen werden und unterliegt im nicht erkrankten Gewebe keiner Extravasation, das Verteilungsvolumen entspricht dem Blutvolumen [112]. In Tumoren hingegen kann es aufgrund einer erhöhten Gefäßpermeabilität jedoch zur Extravasation kommen [91,92,113,114].

Durch sein Absorptionsmaximum, welches mit etwa 800 nm innerhalb vom Nahinfrarotbereich liegt [112], kann ICG ohne größere Hardwaremodifikationen mit konventionellen DOT-Imagern im Gewebe erfasst werden.

Erste experimentelle Anwendungen zur Brustbildgebung mit ICG wurden im Jahr 2000 von Ntziachristos et al. beschrieben: Mittels einer Co-Registrierung von DOT und hochauflösenden MRT war eine Differenzierung von Läsionen nach ICG-Gabe in einer kleinen Fallstudie möglich [92].

Mithilfe pharmakokinetischer Modelle, welche die Brust in ein intravasales Plasmakompartiment und einen Extrazellulärraum einteilen (2-Kompartimentmodell), legten Alacam et al. und Intes et al. den Fokus ihrer Messungen auf die Extravasation von ICG im Tumorbereich. Bezüglich der Ein- und Ausflussraten von Tumoren kamen sie in ihren kleinen Fallstudien jedoch zu widersprüchlichen Ergebnissen [61,115].

Neben seiner spezifischen Absorption besitzt ICG auch die Eigenschaft der Fluoreszenz. Dabei liegen der Exzitationsbereich des Stoffes bei etwa 800 nm und der Emissionsbereich bei etwa 830 nm [114]. Für die menschliche Brust in vivo wurde dieses Phänomen erstmalig von Corlu et al im Jahr 2007 zum Tumornachweis genutzt. Hierbei

konnte er für Tumore einen 2 - 4fachen Kontrast gegenüber der parallel getesteten hämoglobinbasierten nativen Technik erzielen [114].

Inzwischen weiß man, dass sich vor allem die Spätphase der Messung eignet, um Läsionen mittels ICG-Fluoreszenz nachweisen zu können [91]. So ist nach hepatischer Clearance von ICG aus dem intravasalen Kompartiment die Fluoreszenz für den Kontrast der Läsion dominierend, während bei hohen intravasalen ICG-Konzentrationen die Messung der Absorption einen empfindlicheren Nachweis ermöglicht [116]. Mittels Messung der späten ICG-Fluoreszenz gelang Hagen et al. die erfolgreiche Differenzierung benigner und maligner Läsionen [91]. Dies konnte später von Pöllinger et al. in einer klinischen Studie an 20 Patientinnen bestätigt werden [113].

Im Jahr 2009 wurde in einer niederländischen Studie erstmalig eine Fluoreszenzmessung mit Omocyanin, einem jüngst zugelassenen weiteren Vertreter aus der Gruppe der Cyanine an der Brust durchgeführt [117]. Allerdings konnten hier nur 5 von 10 malignen Läsionen detektiert werden. Der beste Kontrast lag hier ca. 8 h nach KM-Applikation vor. Dies weist auf ein ähnliches Verhalten hin, wie es von Pöllinger und Hagen et al. für ICG beschrieben wurde. Leider umfasste die benigne Gruppe lediglich eine Läsion, sodass diese Studie keine Aussagekraft bezüglich einer Differenzierung liefert.

Auch eine andere placebokontrollierte Multicenterstudie von Pöllinger et al. untersuchte Omocyanin an einem etwas größeren Kollektiv von 52 Patientinnen [118]. Bedingt durch die verschiedenen Dosisgruppen schwankte die Sensitivität bei der Auswertung der Fluoreszenzbilder stark (20 % - 100 %). Es bleibt abzuwarten, welche Ergebnisse sich mit Omocyanin nach entsprechender Dosisfindung in der optischen Bildgebung erreichen lassen.

2 Aufgabenstellung

Die nahinfrarotgestützte diffuse optische Tomographie (NIR-DOT) ist eine neue Technik, welche gegenwärtig zur Erkennung und Charakterisierung von Brustläsionen erforscht wird. In den letzten Jahren basierten die meisten Ansätze in diesem Bereich auf der Nutzung intrinsischer Gewebekontraste durch Hämoglobin, Wasser und Lipide [89,119].

Dennoch detektieren intrinsische NIR-Scans oft auch benigne Läsionen mit erhöhter Vaskularisation, wie Fibroadenome, fibrozystische Mastopathien oder auch gesundes dichtes Drüsengewebe [100,101]. Eine Differenzierung zu Karzinomen ist ohne zusätzliche Informationen oft schwierig. Eine Möglichkeit diese Schwierigkeiten zu überwinden, ist der Einsatz eines optischen Kontrastmittels.

In den letzten Jahren gab es hierzu einige Studien mit Verwendung der Substanz Indocyaningrün (ICG), einem Farbstoff mit lichtabsorbierenden und schwach fluoreszierenden Eigenschaften. Abgesehen von 2 Publikationen, welche die späte Extravasation von ICG untersuchten [91,113], fokussierten sich die anderen Studien in diesem Feld auf eine Messung *während* der Bolusapplikation oder wenige Minuten *danach* [61,92,114,115].

Da in dieser Phase der intravasale ICG-Anteil quantitativ stark gegenüber dem extravasierten Anteil in der Bildgebung dominiert [91], lassen sich auf Basis dieser Messungen Informationen zur Tumorperfusion erhoffen. Anderen Bildgebungstechniken wie die MRM, die KM-Sonographie oder KM-Röntgenmammographie liefern vielversprechende Ergebnisse bezüglich eines diagnostischen Benefits einer Perfusionsanalyse von Tumoren [120-122].

Bislang konnte in keiner der genannten ICG-Studien durch die Analyse der frühen Kontrastmittelanflutung eine erfolgreiche Differenzierung benignen und malignen Läsionen an ausreichenden Fallzahlen demonstriert werden.

Da in diesen Studien bei der Untersuchungsmethode die zeitliche Auflösung ein limitierender Faktor war (schnellste Auflösung etwa 9 s [115]), stellt die Verwendung eines schnelleren Imagers einen vielversprechenden Ansatz zur weiteren Evaluierung der DOT in der ICG-basierten Brustbildgebung dar.

Dies verspricht unter anderem eine zeitlich differenzierte Beurteilung der frühen KM-Dynamik im Tumorbereich.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Überprüfung der Anwendbarkeit einer schnellen (2 Hz Akquisitionsrate) dreidimensionalen NIR-Brustbildgebung zur Untersuchung der frühen Anflutungsphase von ICG. Hierbei wurden im Besonderen folgende Fragestellungen bearbeitet:

- 1 Die Untersuchung des Anflutungsverhaltens von ICG in Brüsten mit malignen Läsionen. Hierbei liegt der Fokus der zeitlich hochaufgelösten Perfusionsauswertung im frühen Bereich der KM-Anflutung.
- 2 Die Detektierbarkeit maligner Läsionen sowie eine Differenzierung gegenüber benignen Läsionen und gesundem Drüsengewebe auf Grundlage der frühen KM-Dynamik.
- 3 Die Definition eines malignitätsspezifischen Parameters auf Basis der untersuchten Perfusionsparameter, welcher dem Untersucher die klinische Evaluation der Bilder erleichtert.
- 4 Die gesonderte Evaluation der Sensitivität bei Brüsten mit dichtem Drüsengewebe, da dieses eine besondere Herausforderung an den Untersucher und das bildgebende Gerät darstellt.
- 5 Eine grobe Abschätzung des klinischen Stellenwertes und der weiteren technischen Herausforderungen der präliminären Ergebnisse.

3 Material und Methodik

3.1 Institution und mitwirkende Personen

Die Studie wurde am Institut für Strahlenheilkunde der Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow (CVK), unter der Leitung von Herrn PD Dr. med. Alexander Pöllinger durchgeführt.

Die Arbeit entstand in Kooperation mit dem Institut für Radiologie der Charité (Campus Mitte) vertreten durch Frau Dr. med. Eva Maria Fallenberg, der Firma NIRx Medizintechnik GmbH Berlin vertreten durch Herrn Dr. rer. nat. Christoph Schmitz sowie dem Berlin Neuroimaging Center (BNIC) vom Institut für Neurologie der Charité (Campus Mitte) vertreten durch Herrn Dr. rer. nat. Jens Steinbrink und Frau Dr. rer. nat. Sophie Piper. Die statistische Betreuung der Arbeit erfolgte durch Herrn Dr. rer. nat. Uwe Malzahn vom BNIC.

3.2 Patientenkollektiv, Ein- und Ausschlusskriterien

Die Durchführung der Studie wurde von der Ethikkommission der Charité Berlin genehmigt. Im Zeitraum von Dezember 2008 bis Februar 2010 erfolgte die Rekrutierung von insgesamt 30 Patientinnen (Alter 29 bis 77 Jahre, Median: 51 Jahre) mit insgesamt 30 suspekten Brustläsionen, die alle einer Abklärung mittels Biopsie zugeführt wurden. Die Rekrutierung erfolgte über das Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin des interdisziplinären Brustzentrums der Charité an den Standorten Campus Virchow (CVK) und Campus Mitte (CCM).

Die Einschlusskriterien für die Patientinnen in die Studie waren: eine diagnostizierte suspekta Brustläsion in Mammographie oder Ultraschall mit BI-RADS-Klassifikation 4 oder 5 (**B**reast **I**maging **R**eporting and **D**ata **S**ystem), ein Alter über 18 Jahren und eine vorliegende Einverständniserklärung der Patientin.

Ausschlusskriterien waren eine Körbchengröße über 75B, eine Biopsie oder Operation der ipsilateralen Brust innerhalb der letzten 6 Monate, Ulzera oder Wunden der ipsilateralen Brust oder eine stattgehabte anaphylaktische Reaktion in der Vergangenheit.

Im Hinblick auf die hepatische Elimination von ICG wurden alle Patientinnen vor der Messung einer Laborkontrolle unterzogen und wiesen Normwerte von

Aspartataminotransferase (AST) und Gamma-Glutamyl-Transferase (γ -GT) auf. Des Weiteren setzten wir neben einem normwertigen Thyreoidea-stimulierenden Hormon (TSH) auch ein normwertiges Kreatinin voraus, da das verwendete ICG den Stoff Natriumiodid als Lösungsmittel enthielt und dieses renal ausgeschieden wird.

Bei der Datenanalyse wurden 8 von 30 Patientinnen ausgeschlossen. Bei 5 Patientinnen erfolgte der Ausschluss aufgrund eines starken Rauschverhaltens der NIR-Rohdaten. Dies war vermutlich auf eine insuffiziente Hautankopplung der Optoden des Brustinterfaces während der Messung zurückzuführen (dieses Problem bestand am Beginn der Studie und wurde im weiteren Verlauf durch sorgfältige Anpassung der Optoden optimiert). Eine weitere Patientin wurde aufgrund ihrer zu großen Brustgröße ausgeschlossen, welche die Abmessungen des Brustinterfaces überschritt. Zwei weitere Patientinnen wurden aufgrund seltener histologischer Befunde (Melanommetastase, T-Zell Lymphom) aus der Auswertung genommen.

Die finale Datenanalyse umfasste ein Patientenkollektiv von 22 Patientinnen (25 untersuchte Brustdrüsen): 14 Patientinnen mit je einer malignen Läsion (31 bis 77 Jahre, Median: 60 Jahre) und 8 Patientinnen mit je einer benignen Läsion (27 bis 50 Jahre, Median: 32 Jahre). Zusätzlich gab es eine Kontrollgruppe mit 3 Brustdrüsen ohne nachgewiesene Läsion (verifiziert mittels MRM und 1,5-Jahres-Follow-up): zwei kontralaterale Brüste von 2 Patientinnen aus der benignen Gruppe und 1 kontralaterale Brust von einer Patientin aus der malignen Gruppe.

3.3 Konventionelle Bildgebung und Pathologie

Im Zuge der routinemäßigen klinischen Abklärung erhielten alle Patientinnen vor der Biopsieentnahme eine Ultraschalluntersuchung, 29 Patientinnen erhielten eine konventionelle Mammographie. Diese wurde entweder am interdisziplinären Brustzentrum am Standort Campus Charité Virchow und Mitte oder extern durchgeführt. Hierbei kamen im Rahmen der universitären Untersuchung folgende Geräte zum Einsatz:

Ultraschall (CVK): GE Healthcare Logiq 9 Ultrasound System, M12L Matrix Array Linear Vascular/Small Parts Transducer; Ultraschall (CCM): Toshiba Xario, 8 und 12 MHz Linearschallkopf); Röntgenmammographie (CVK): GE Healthcare Senographe Essential Acquisition System; Röntgenmammographie CCM: Siemens Mammomat Inspiration mit

Tomosyntheseoption und Siemens Mammomat Novation DR. Für alle Patientinnen wurde die Dichte des Brustdrüsengewebes anhand von vier BI-RADS-Kategorien klassifiziert: 1 = vollständig verfettetes Gewebe, 2 = verstreutes fibroglanduläres Gewebe, 3 = heterogen dichtes Drüsengewebe und 4 = extrem dichtes Drüsengewebe. Die Ergebnisse wurden für diese Studie in die Kategorien ‚dicht‘ (BI-RADS 3 und 4) und ‚nicht-dicht‘ (BI-RADS 1 und 2) dichotomisiert.

Des Weiteren erhielten 25 der 30 Patientinnen im Rahmen der Studie eine MRM als zusätzliche Bildgebung vor der Brustbiopsie. Die gadoliniumgestützte MRM wurde am Standort Campus Charité Virchow mit einem 1,5 T (Signa Twin-Speed, General Electric Medical Systems, Milwaukee) durchgeführt. Hierbei wurde eine T1-gewichtete Sequenz mit Fettunterdrückung gewählt (TR = 6,4 ms, TE = 2,1 ms, Neigungswinkel = 10°, Matrix = 256 x 160, effektive Schichtdicke = 1,5 mm).

Die histopathologische Auswertung erfolgte am Institut für Pathologie an der Charité auf Basis von Vakuumstanzbiopsien (n = 14) oder chirurgischen Resektaten (n = 16). Die zeitlich nach der NIR-Untersuchung durchgeführte Biopsieentnahme erfolgte im regulären Rahmen der diagnostischen Abklärung am interdisziplinären Brustzentrum. Hierzu wurden maximal 5 Stanzzyylinder entnommen. Neben der pathologischen Differenzierung der Zielläsionen in ‚benigne‘ und ‚maligne‘ erfolgte eine Typisierung sowie Bestimmung des Tumor-Gradings nach Elston und Ellis [13].

Die Größenangabe der Läsionen basierte in absteigender Priorität auf 1) der Größemessung des Tumorsektats in der Pathologie (im Falle einer Tumoroperation), 2) Größemessungen in der MRM oder 3) Größenangaben aus der digital archivierten Sonographie. In der Patientengruppe der finalen Datenauswertung (22 Patientinnen) orientierte sich die Bestimmung der Tumorgöße bei 10 der 14 malignen Läsionen am operativen Tumorsektat. Abweichend dazu erfolgte in 4 Fällen die Ausmessung auf Basis der MRM-Daten aufgrund einer bereits stattgehabten präoperativen Radiochemotherapie bzw. alleinigen palliativen Chemotherapie.

In der benignen Gruppe erfolgte die Vermessung von 5 Läsionen auf Basis der MRM und im Falle von 3 Läsionen auf der Basis der Ultraschallaufnahmen.

3.4 Studiendesign und NIR-Untersuchungsprotokoll

Die Akquisition der NIR-Scans erfolgte bei allen Patientinnen vor der Biopsieentnahme. Der gesamte Scanvorgang dauerte dabei 25 min und bestand aus zwei Messphasen: Eine initiale 10-minütige Messphase ohne Kontrastmittel diente der Erfassung der nativen Absorptions- und Streuungseigenschaften des Brustgewebes (die Auswertung dieser Messphase erfolgte separat in einem anderen Projekt [123]). Daran schloss sich ein insgesamt 20-minütiger Scan *während* und *nach* der Kontrastmittel-Applikation an.

Hierzu wurde ein Bolus von 25 mg Indocyaningrün (ICG, PULSION Medical Systems AG, München) verdünnt mit 15 ml aqua ad iniectabilia über einen peripheren Venenkatheter verabreicht (Injektionszeit: 5 s). Zur besseren Kontrastmittelverteilung und restloser Applikation des im Perfusionsschlauch verbliebenen Kontrastmittels schloss sich eine Spülung mit 15 ml steriler Kochsalzlösung als Bolus an.

Alle Scans wurden parallel auf den Wellenlängen 760 nm und 830 nm gemessen.

Bei der vorliegenden Studie erfolgte eine retrospektive Auswertung der Daten (siehe 3.7 Datenauswertung). Hierbei dienten die MRM-Aufnahmen und Röntgenmammographien als orientierende Bildgebung bei der räumlichen und qualitativen Evaluation der dreidimensional rekonstruierten NIR-Bilder.

Bezüglich der Läsionsklassifikation und Einteilung in die Gruppe ‚maligne‘ oder ‚benigne‘ diente die Histopathologie als Goldstandard.

3.5 NIR-Imager ‚DYNOT 232‘

Die optischen Brustmessungen wurden mit einem dynamischen Nahinfrarot-Tomographie-System der Firma NIRx durchgeführt, dem *DYNOT 232* (**DY**namische **Near-Infrared Optical Tomography**, NIRx Medical Technologies LLC, NY, USA). Das Gerät besitzt eine gültige CE-Kennzeichnung.

Der Imager bestand aus einem beweglichen Tower und einer im Rahmen dieser Arbeit selbst konstruierten Untersuchungsliège für die Aufnahme des bestehenden Brustinterfases (Abbildung 4, Abbildung 5). Der Tower beinhaltete die Laserlichtquellen, die Laserdetektoren, eine optische Weiche sowie einen Personal Computer zur Steuerung und Datenakquisition. Der Tower und die Untersuchungsliège waren über optische

Lichtleiterkabel beweglich miteinander verbunden. Eine schematische Darstellung des Systems ist der Abbildung 3 zu entnehmen.

Die optische Untersuchung der Brust fand unter abgedunkelten Lichtverhältnissen statt. Dabei lag die Patientin in Bauchlage auf der Untersuchungsliege. Die Messung der Brust erfolgte über das Brustinterface des Imagers. Das Brustinterface war eine halbkugelförmige Kunststoffglocke, welche mittels einer lateral verschieblichen und höhenverstellbaren Einheit unter einer gepolsterten Lochplatte in der Untersuchungsliege installiert war. Hiermit konnte eine Anpassung an die entsprechende Körperseite und Größe der zu untersuchenden Brust vorgenommen werden. Die Fixierung des Brustinterface in der Einheit erfolgte durch ein Kugelgelenk, welches eine weitere Möglichkeit der Anpassung durch Kippbewegungen bot.

Zur optischen Ankopplung des Messsystems an die Brust der Patientin besaß das Brustinterface insgesamt 31 Optoden, welche zirkulär in 4 übereinanderliegenden Reihen angeordnet waren. Die zylindrisch aufgebauten Optoden beherbergen den flexiblen Lichtleiter und gestatteten über eine axiale Gleitbewegung die Hautankopplung mit unterschiedlichem Anpressdruck. Bedingt durch die Größe des Brustinterfaces erlaubt das System die individuelle Anpassung an die Brust der Patientinnen bis zur Körbchengröße 75B (europäisches Größensystem).

Die optische Messung der Brust erfolgte mit Nahinfrarotlicht. Das Gerät war für die Erfassung von Oxy- und Deoxyhämoglobin konzipiert und arbeitete daher parallel mit 2 spektral unterschiedlichen Messkanälen auf den Wellenlängen 760 nm bzw. 830 nm. Da sich dieser Messbereich mit dem Absorptionsspektrum von Indocyaningrün ausreichend überschneidet und zudem die Absorptionsstärke von ICG etwa 100fach höher ist als bei Hämoglobin, war der Einsatz dieser Substanz als Kontrastmittel problemlos möglich.

Der Laser emittiert kontinuierliches Nahinfrarotlicht (,Continuous-wave-Technik, CW) mit einer Leistung von ca. 30 mW (Laser Klasse 1). Dieses wurde über eine elektromechanische optische Weiche (Drehspiegel) mittels der Lichtleiterkabel nacheinander auf alle 31 Optoden im Brustinterface geleitet. Die Umschaltfrequenz der optischen Weiche lag bei 75 Hz. Die Verbindung zwischen optischer Weiche und Brustinterface erfolgte dabei über Lichtleiterkabel. Durch den y-förmigen Aufbau der Lichtleiterkabel wurden die Optoden sowohl an den Laser als auch an die Photodioden in der Detektoreinheit des Towers angekoppelt. Somit fungierte jede Optode je nach Schaltzustand der optischen Weiche als Quell- oder Detektorfaser. Die Sensitivität der Messung lag bei

etwa 3 pW. Während eines Messzyklus von etwa 0,5 s Dauer erfolgte die Registrierung von insgesamt 961 Quell-Detektor-Kombinationen im Brustinterface.

Auf Basis dieser akquirierten Daten war nach Abschluss der Messung eine räumliche Rekonstruktion der Messdaten mittels einer Nachverarbeitungssoftware (NAVI 2008, Near Infrared Analysis, Visualization and Imaging, Rev. 8.11 by NIRx) möglich.

Durch den Einsatz der CW-Technik ist die hohe Umschaltfrequenz von 75 Hz bei einer Lichteinstrahlung von 10 ms pro Kanal möglich. Damit war der Imager in der Lage, 2 komplette Volumenscans innerhalb von 1 s durchzuführen. Eine wichtige Voraussetzung war hierbei allerdings die Compliance der Patientin zur Vermeidung von Bewegungsartefakten und Artefakten, die durch eine veränderte Ankopplung entstehen.

Die räumliche Auflösung ist durch die Lichtstreuung im Gewebe limitiert und liegt bei dem DYNOT 232 bei ca. 10 mm. Für eine genauere Beschreibung des DYNOT Instrumentes sowie die Herleitung der Theorie der OT-Methode sei an dieser Stelle auf Übersichtsarbeiten verwiesen [79,99,124].

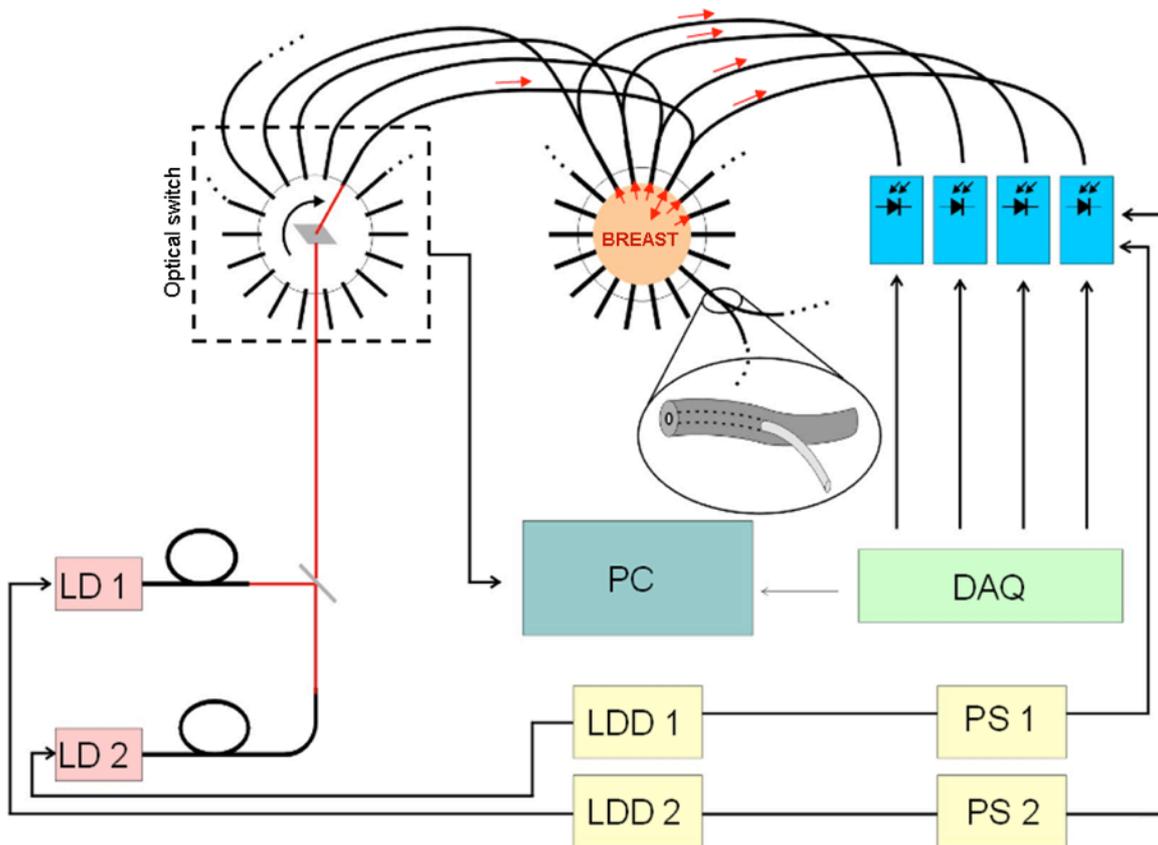


Abbildung 3: Schematische Darstellung des NIR-Imagers: Mittels zweier Laserdioden ‚LD 1/2‘ wird Infrarotlicht der Wellenlängen 760 nm und 830 nm erzeugt. Dieses wird alternierend über einen optischen Schalter („optical switch“) auf 31 zirkulär im Brustinterface angeordnete Optoden verschaltet. Die Umschaltfrequenz auf die verschiedenen Fasern beträgt dabei 75 Hz, sodass 2 komplette Volumenscans innerhalb einer Sekunde erfolgen können. Durch den y-förmigen Aufbau der optischen Fasern ist jede Optode gleichzeitig mit einem Detektormodul im Tower verbunden. Die Datenakquisition („DAQ“) erfolgt über einen Personal Computer. Über eine Testmessung kann eine Anpassung der Laseramplituden an die jeweilige Optodenankopplung vorgenommen werden (Modulation der Laserdiodentreiber ‚LDD 1/2‘). Die Phaseshifter ‚PS 1/2‘ liefern ein Referenzsignal an die Detektoreinheit um einen Shift der Lasermodulationsfrequenz zu korrigieren (sogenannte ‚Lock-in Detektion‘). Darstellung modifiziert nach Schmitz [67].



Abbildung 4: Ansicht Patientenliege Kopfende: Auf Brusthöhe der Liege befindet sich die verschiebbare Einheit mit gepolsterter Lochplatte, welche das Brustinterface (schwarze Glocke) enthält.

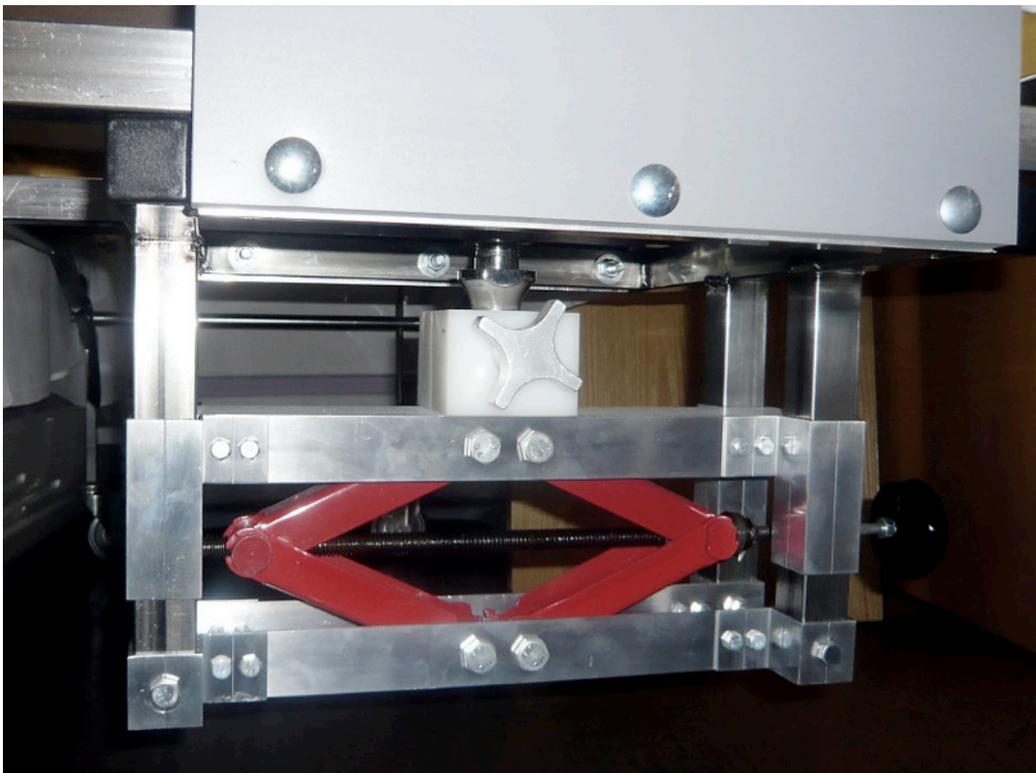


Abbildung 5: Unteransicht Patientenliege : Hier abgebildet ist die lateral verschiebbare Einheit mit Höhenverstellung (Kunststoffrad Bildrand rechts) für das Brustinterface. Nach Lockerung des Drehknopfes im weißen Kunststoffblock (Bildmitte) kann das Brustinterface anguliert werden.

3.6 Kontrastmittel Indocyaningrün

Indocyaningrün (ICG) ist ein biologisch inerte Farbstoff, der im nahen Infrarotlicht sowohl absorbiert als auch fluoresziert. Der Farbstoff wird seit über 45 Jahren für diagnostische klinische Anwendungen benutzt [125], insbesondere für Untersuchungen der Herzfunktion sowie der hepatischen Eliminationsleistung. In den letzten 10 Jahren war durch die Einführung digitaler Verfahren auch eine Renaissance der ophthalmologischen Angiographie mittels ICG zu beobachten [126].

Das Kontrastmittel Indocyaningrün (ICG) liegt nach venöser Applikation proteingebunden im Blut vor (zu 95 % an β -Apolipoprotein B, [127]) und zeigt ein Absorptionsmaximum, welches konzentrationsabhängig im Bereich um 800 nm liegt (Abbildung 6) [128]. Somit ergibt sich eine sehr gute Überlappung mit den im DYNOT-Gerät vorhandenen Wellenlängen von 760 nm und 830 nm und es ist ein empfindlicher ICG-Nachweis zu erwarten.

ICG unterliegt im Organismus keinem Stoffwechsel und entspricht mit seinem Verteilungsvolumen dem Blutvolumen. ICG wird biphasisch ausgeschieden: Die initiale Halbwertszeit liegt bei 3 – 4 min und eine zweite dosisabhängige Halbwertszeit bei 60 - 80 min [112].

Die Ausscheidung von ICG erfolgt hauptsächlich über die Galle [128], hierbei erfolgt keine Konjugation. Dabei wird das Konzentrationsmaximum in der Galle je nach injizierter Menge nach 0,5 bis 2 h erreicht. Die renale Elimination von ICG spielt quantitativ keine Rolle [128].

Die Eignung von ICG als Fluoreszenzfarbstoff für die optische Mammographie konnte in mehreren klinischen Studien gezeigt werden [91,113,114], ein verstärktes Anfluten des Farbstoffes in malignen Tumoren wird auf die erhöhte Permeabilität des Gefäßendothels zurückgeführt.

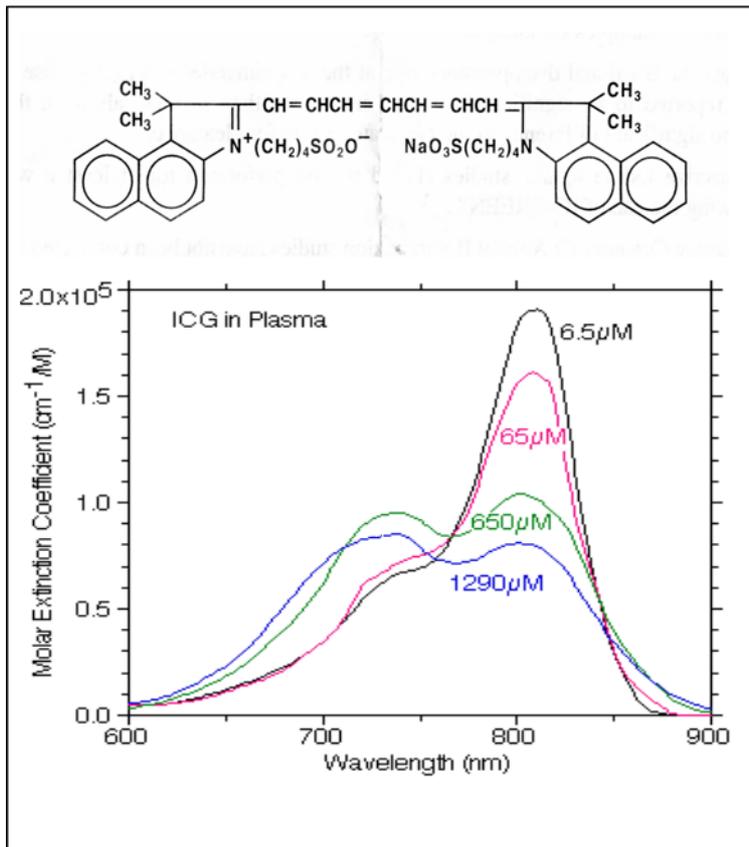


Abbildung 6: Indocyaningrün: Molekulare Struktur und Absorptionsspektren in Plasma in Abhängigkeit von der Konzentration. Darstellung modifiziert nach Prahl [76].

3.7 Datenauswertung

Filterung und räumliche Rekonstruktion der Daten

Nach der Akquisition der optischen Rohdaten erfolgte eine Datenvorverarbeitung (Pre-processing) mithilfe der Gerätehersteller-Software (NAVI 2008, Near Infrared Analysis, Visualization and Imaging, Rev. 8.11 by NIRx). Diese basierte auf dem Programm Matlab 6.5 (The Mathworks, Inc., Natick, MA). Im Rahmen des Preprocessings erfolgte eine Frequenzfilterung (Filter-Grenzfrequenz: $f_{\text{cut}} = 0.075$ Hz) zur Unterdrückung von Herzfrequenz, niederfrequentem Signalrauschen sowie leichten Bewegungsartefakten. Messkanäle mit exzessivem Rauschen (Variationskoeffizient (VarK) > 25 %) wurden aus der Analyse ausgeschlossen. Am Ende des Preprocessings erfolgte die Normalisierung sämtlicher Messkanäle in Bezug auf eine manuell gewählte Baseline im Zeitfenster vor der Kontrastmittelgabe.

Auf Basis der vorgefilterten Daten erfolgte die 3-dimensionale Rekonstruktion der Zeitverläufe der relativen ICG-Konzentrationsänderungen im Bezug zur Baseline für 2243 definierte Volumensegmente (Voxel) im gemessenen Brustvolumen (siehe Abbildung 12). Diese waren durch das implementierte digitale Brustmodell im Rekonstruktionsalgorithmus festgelegt. Hierbei sei angemerkt, dass in diesem Modell die Daten interpoliert werden und die räumliche Auflösung verfahrensbedingt bei etwa 1 cm liegt. Die räumliche Rekonstruktion erfolgte mithilfe eines linearen perturbationsbasierten Algorithmus. Dabei wurde die Lichtausbreitung in der Brust numerisch durch eine Finite-Elemente-Methode (FEM) simuliert und den aufgenommenen Messwerten angepasst. Diese Methodik ermöglicht eine zuverlässige räumliche Rekonstruktion und findet breite Anwendung in der optischen Bildgebung. Für eine ausführliche physikalische Beschreibung des Verfahrens sei an dieser Stelle auf Übersichtsarbeiten verwiesen [129]. Die gesamte Datenrekonstruktion basierte auf den Messwerten des 760 nm Kanals, da bei dieser Wellenlänge die Absorptionseigenschaften von ICG für verschiedene ICG-Plasmakonzentrationen konstanter sind als auf dem 830 nm Kanal (Abbildung 6) [128].

Definition perfusionsbasierter Parameter

Die nachfolgende Datenanalyse erfolgte mit individuellen Programmskripten auf Basis der Software Matlab 6.5 (The Mathworks, Inc., Natick, MA), welche im Rahmen dieser Arbeit entwickelt wurden.

Zur Analyse der rekonstruierten Zeitkurven wurden zwei gängige Perfusionsparameter, die ‚Peakamplitude‘ (PA) und die ‚Time to Peak‘ (TTP) zugrunde gelegt, welche für jedes Voxel des Brustvolumens bestimmt wurden.

Der Parameter *PA* wurde hierbei definiert als die maximale Amplitude jeder Zeit-Intensitäts-Kurve, welche zur besseren Vergleichbarkeit zwischen den Patientinnen auf die jeweilige mittlere Amplitude des gesamten Brustvolumens normalisiert wurde (Abbildung 7).

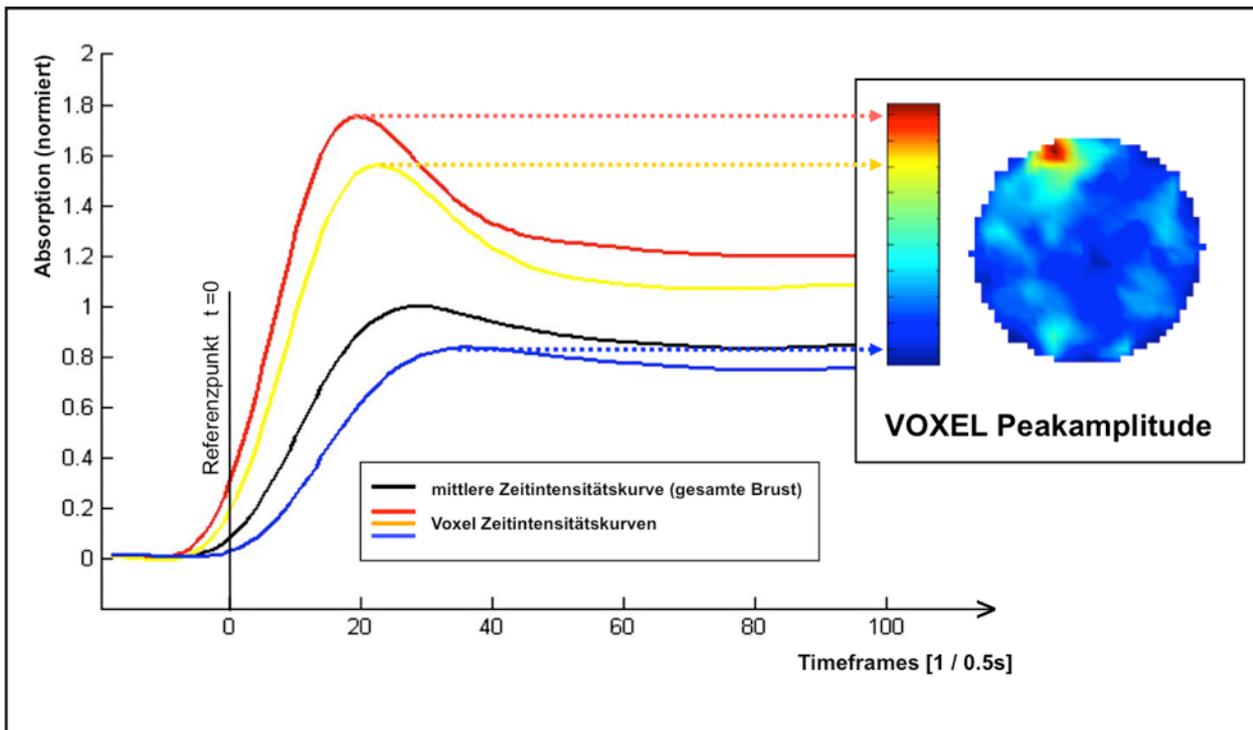


Abbildung 7: Graphische Erläuterung des Parameters ‚Peakamplitude‘ (PA): Die maximalen Amplitudenwerte der einzelnen Zeitintensitätskurven pro Voxel entsprechen den Peakamplituden. Zur besseren Vergleichbarkeit werden die Werte auf den Peak der gemittelten Zeitintensitätskurve des gesamten Brustgewebes normalisiert. In den Schnittbildern werden die Werte für jeden Voxel unter Verwendung einer Skala farbig visualisiert (rot: hohe Peakamplitude, blau: niedrige Peakamplitude). Eigene Darstellung.

Der zweite Parameter, die *TTP*, wurde definiert als das Zeitintervall zwischen einem definierten Referenzpunkt $t = 0$ und dem Zeitpunkt der maximalen PA jedes Voxels (Abbildung 8).

Die Festlegung des Referenzpunktes $t = 0$ erfolgte für jeden Brustdatensatz mittels eines programmierten Matlab-Algorithmus und orientierte sich an dem frühesten beobachteten Zeitpunkt, zu welchem mindestens 0,25 % der 2243 Volumenelemente einen Peak ihrer Zeitintensitätskurve (‚time intensity curve‘, TIC) aufzeigten. Die vorherige globale Festlegung des 0,25%-Wertes für alle Patientinnen erfolgte unter der Maßgabe, den Referenzpunkt möglichst dicht an die Peaks der ICG-Anflutung für die einzelnen Voxel zu platzieren. Dies steht im Gegensatz zu vielen anderen wissenschaftlichen Arbeiten, welche die TTP auf den Zeitpunkt der Applikation des Kontrastmittels beziehen. In der vorliegenden Studie war es jedoch eine wichtige Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Patientinnen untereinander. Hierbei sei die außergewöhnlich hohe zeitliche Auflösung von 2 Hz zu bedenken, mit der in dieser Studie sowohl gemessen

als auch analysiert wurde. Durch den zeitlich nach hinten verlagerten Referenzpunkt konnten die interindividuell variierenden Kreislaufparameter vernachlässigt werden. Diese würden in der Anflutungsphase zeitliche Unterschiede im zweistelligen Sekundenbereich erwarten lassen. Der Fokus dieser Arbeit lag hingegen auf den ersten Sekunden der Anflutungsphase von ICG.

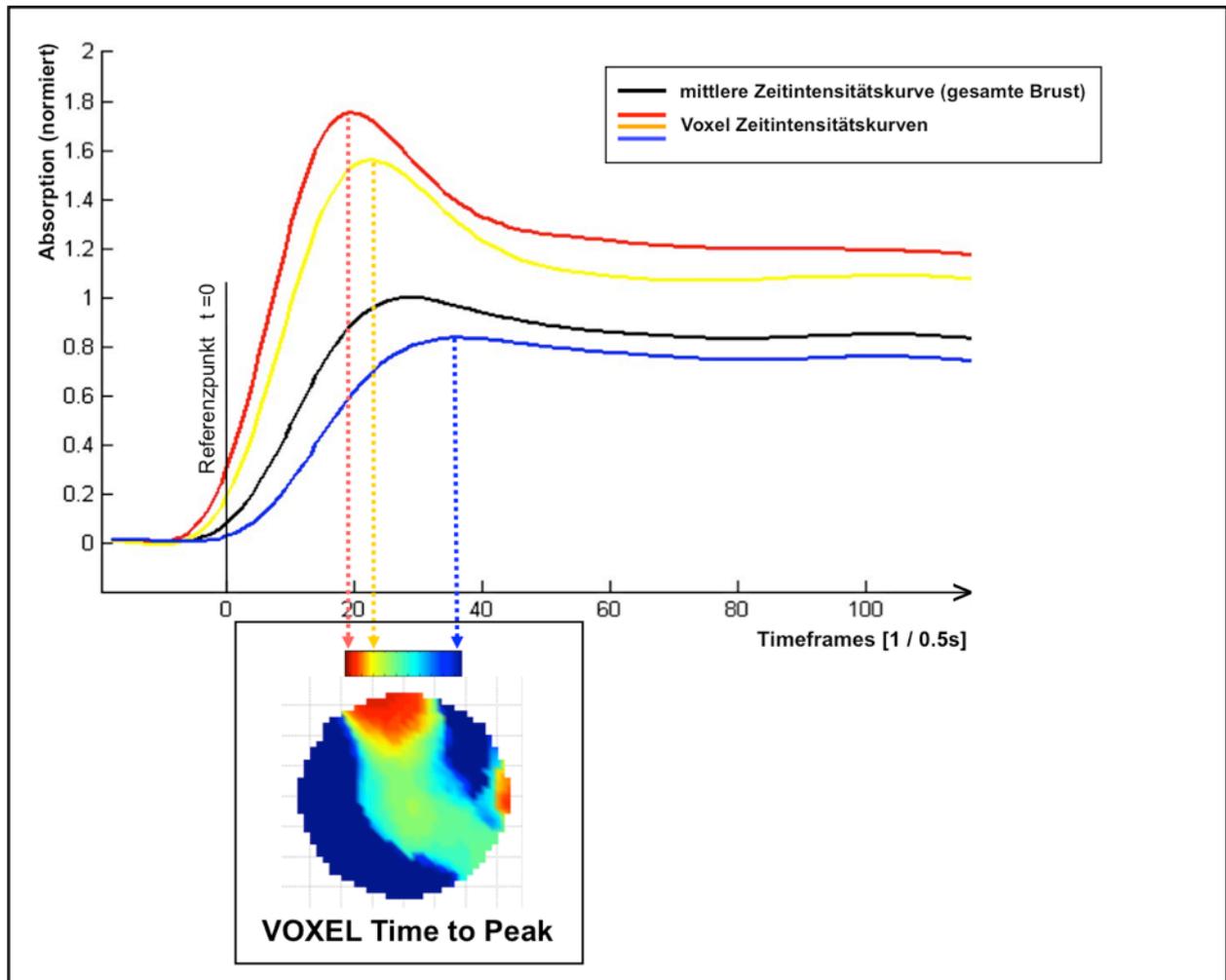


Abbildung 8: Graphische Erläuterung des Parameters ‚Time to Peak‘ (TTP): Der Parameter quantifiziert für jedes Voxel das Zeitintervall zwischen dem Peak (maximale PA) der Zeitintensitätskurve und einem für die gesamte Brust festgelegten zeitlichen Referenzpunkt ($t = 0$). Anhand der Farbskala können die Peakzeiten abgelesen werden (rot: zeitiger Peak, blau: später Peak). Eigene Darstellung.

Zur Veranschaulichung der gewonnenen Daten wurden die aus den Brustdatensätzen berechneten PA-Werte und TTP-Werte anschließend 3-dimensional visualisiert. Dabei konnten die Ergebnisse mithilfe eines von der Arbeitsgruppe programmierten Matlab-Viewers (‚Volumeslider‘) in beliebigen Projektionen und Schnitten dargestellt werden,

um einen adäquaten Vergleich mit den radiologischen Befunden zu ermöglichen (Abbildung 9).

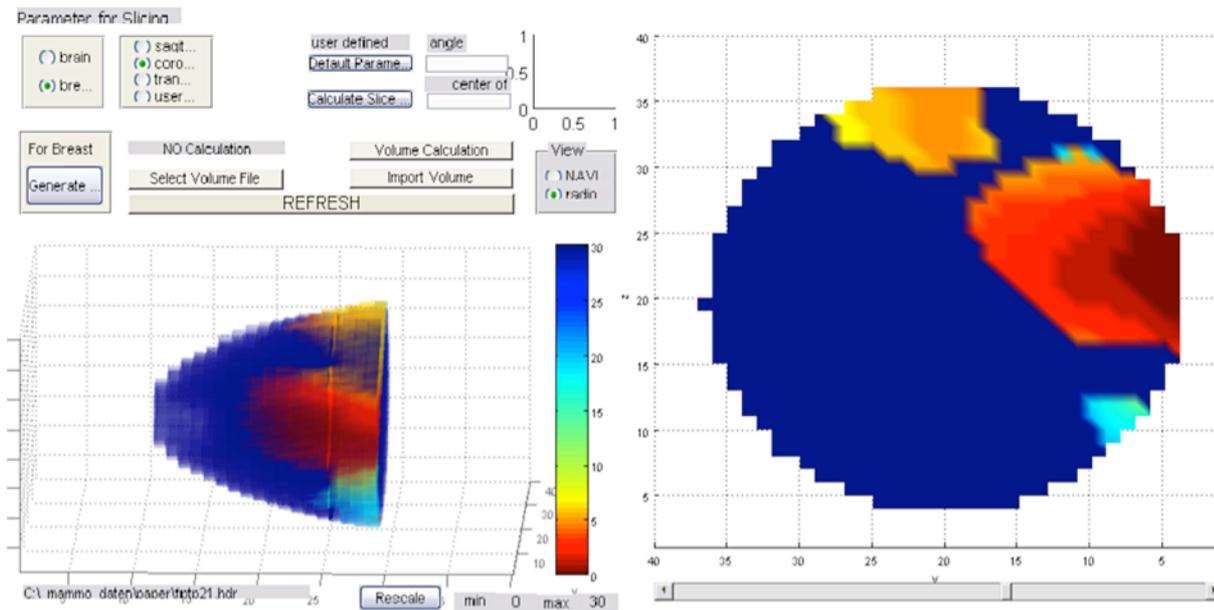


Abbildung 9: Bildschirmfoto der entwickelten ‚Volumeslider‘-Software zur Visualisierung der optischen 3D-Mammographie-Datensätze: Gezeigt ist die Darstellung der berechneten ‚Time to Peak‘-Daten am Beispiel eines multizentrischen IDC. Im linken Fenster befindet sich ein drehbares 3-D Übersichtsmodell, welches durch Festlegen einer Schnittebene sagittal, horizontal oder koronal geschnitten werden kann (rechtes Fenster). Die farbige Skalierung ist numerisch frei veränderbar. Eigene Darstellung.

Definition eines untersucherunabhängigen Parameters zur Einschätzung der Dignität verschiedener Läsionen

Unter der Annahme, dass malignes Gewebe die Eigenschaften eines besonders frühen und besonders starken Enhancements des applizierten Kontrastmittels vereint, wurde ein dritter Parameter auf Grundlage der zuvor eingeführten Parameter PA und TTP definiert: die ‚Peaktime-Amplitude‘ (im Folgenden als ‚PTA‘ bezeichnet).

Ziel der Definition von PTA war es, einen aussagekräftigen Parameter zu erhalten, um Unterschiede in der Perfusion zwischen Brüsten mit benignen und malignen Läsionen im Sinne einer untersucherunabhängigen Auswertung klassifizierbar zu machen.

Hierzu wurde ein 15-s-Intervall entsprechend 30 akquirierten Messzyklen (‘Timeframes’), beginnend mit dem oben definierten zeitlichen Referenzpunkt $t = 0$, festgelegt. Zu jedem der 30 Zeitpunkte wurden die Peakamplituden jener Voxel-Zeitintensitätskurven gemittelt, welche gerade hier ihr Amplitudenmaximum (Peak) zeigten.

Diese Ergebnisse konnten in einer PA-vs.- TTP-Kurve (‘PTA-Kurve’) für jede Brustdrüse dargestellt werden. Hierbei wurden die gemittelten PA-Werte auf der y-Achse gegen die entsprechenden (Peak-)Zeitpunkte (TTP) auf der x-Achse aufgetragen. Abbildung 15 im Ergebnisteil zeigt die PTA-Kurven von 3 Brustdrüsen im Vergleich.

Mit dem Ziel der objektiven Erfassung verschiedener Perfusionsmuster von Brüsten mit malignen Läsionen im Vergleich zu Brüsten mit benignen Läsionen wurde eine retrospektive Gruppenauswertung durchgeführt. Dabei wurden die Brustdrüsen gemäß des bekannten histopathologischen Befundes nach ihrer Läsionsart in die Gruppen ‘maligne’ und ‘benigne’ eingeteilt und anschließend für jede der beiden Gruppen eine Mittelung der PTA-Kurven der einzelnen Brüste durchgeführt. Die resultierenden Gesamtkurven für beide Gruppen gestatteten den angestrebten Vergleich hinsichtlich verschiedener Perfusionsmuster (Abbildung 14a).

Anschließend erfolgte eine statistische Bewertung des PTA-Parameters (siehe unten) und es wurde jener Zeitpunkt ermittelt, an dem die signifikantesten Unterschiede in der Brustperfusion zwischen beiden Patientengruppen zu erwarten waren (Abbildung 14a). Für die läsionsfreie Kontrollgruppe erfolgte aufgrund der geringen Fallzahl ($n = 3$) keine Darstellung der PTA-Kurve.

Statistische Datenanalyse und ROC-Analyse

Basierend auf den einzelnen PTA-Kurven für die benignen und malignen Brustdrüsen wurde in einem statistischen Vergleich der benignen mit der malignen Gruppe für jeden der 30 Zeitpunkte die ‘standardisierte Mittelwertsdifferenz’ (standardized mean difference, SMD) berechnet. Dabei war die SMD definiert als die Differenz der Mittelwerte beider untersuchter Gruppen geteilt durch die gepoolte Standardabweichung.

Die SMD findet gewöhnlich ihre Anwendung in praktischen Metaanalysen. In der vorliegenden Studie wurde folgende Definition für die SMD verwendet:

$$SMD = \frac{\bar{X}_{\text{malignant}} - \bar{X}_{\text{benign}}}{\sqrt{\frac{1}{(n_1 + n_2 - 2)} ((n_1 - 1) * \text{Var}(X_{\text{malignant}}) + (n_2 - 1) * \text{Var}(X_{\text{benign}}))}}$$

Die Werte $X_{\text{malignant}}$ und X_{benign} stellen die gemittelten Amplituden der malignen und benignen Gruppe und n_1 , n_2 die Anzahl der Fälle in beiden Gruppen dar.

Der größte Unterschied in der ICG-Absorption zwischen beiden Gruppen liegt definitionsgemäß an dem Zeitpunkt vor, wo der SMD-Wert sein Maximum annimmt ($t(SMD_{\text{max}})$).

Zum ermittelten Zeitpunkt $t(SMD_{\text{max}})$ wurde anschließend mithilfe eines Mann-Whitney U-Tests die statistische Verteilung der PTA-Werte der Brustdrüsen auf einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen getestet. Dabei wurde ein p-Wert von $< 0,05$ als signifikant (*) angesehen (Abbildung 14b).

Im nächsten Schritt wurde mit dem Ziel der bestmöglichen Trennung der untersuchten Brüste in die Gruppen ‚benigne‘ und ‚maligne‘ ein PTA-Grenzwert (Cut-off) ermittelt, wobei das Überschreiten des Cut-off-Wertes zur Einstufung ‚maligne‘ und das Unterschreiten zur Einstufung ‚benigne‘ führte.

Zur Ermittlung des entsprechenden Cut-off-Wertes wurde zum oben bestimmten Zeitpunkt $t(SMD_{\text{max}})$ eine Receiver Operating Characteristic (ROC)-Analyse mittels der Software Matlab durchgeführt (Abbildung 14c).

Auf Basis des ermittelten Cut-off-Wertes wurde nun anhand einer Vierfeldertafel (Abbildung 10) die Sensitivität und Spezifität sowie der positive und negative prädiktive Wert des Untersuchungsverfahrens bestimmt.

Die Daten der gesunden Kontrollgruppe wurden aufgrund der geringen Fallanzahl von $n = 3$ nicht in die ROC-Analyse eingeschlossen.

		Histologie (Goldstandard)		Total
		gesichert maligne	gesichert benigne	
NIR-Bildgebung	Malignomsuspekt (PTA > 84.4 %)	A <i>richtig-positiv</i>	B <i>falsch-positiv</i>	A + B
	Unauffällig (PTA < 84.4 %)	C <i>falsch-negativ</i>	D <i>richtig-negativ</i>	C + D
Total		A + C	B + D	A + B + C + D

Abbildung 10: Darstellung der verwendeten Vierfeldertafel: Sensitivität = $A / (A + C)$, Spezifität = $D / (B + D)$, positiver prädiktiver Wert = $A / (A + B)$, negativer prädiktiver Wert = $D / (C + D)$, PTA-Cut-off-Wert: 84,4%. Eigene Darstellung.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Histopathologie

Die endgültige Patientengruppe setzte sich aus 14 Patientinnen mit einem malignen Befund (medianes Alter 60 Jahre) und 8 Patientinnen (medianes Alter 35 Jahre) mit einer benignen Läsion zusammen.

Die maligne Gruppe beinhaltete nach histologischer Sicherung 9 invasive duktales Karzinome (invasive ductal carcinoma, IDC), 1 invasives lobuläres Karzinom (invasive lobular carcinoma, ILC), 2 metaplastische Karzinome, 1 duktales Karzinom in situ (ductal carcinoma in situ, DCIS) und 1 invasives lobulo-duktales Karzinom (invasive lobular ductal carcinoma, ILDC).

Das Kollektiv der benignen Fälle setzte sich histologisch aus 6 Fibroadenomen (FA), 1 Mastopathie (MP) sowie 1 pseudoangiomatösen Stromalen Hyperplasie (PASH) zusammen. Die Ergebnisse sind auch Tabelle 1 zu entnehmen.

Histopathologischer Befund	Anzahl der Läsionen	Mittlere Läsionsgröße / Größenbereich ()*	Detektion mit NIR-Imager
Benigne (n = 8)	8		1/8
Fibroadenom	6	24 mm (10 - 52 mm)	1/6
Mastopathie	1	11 mm	0/1
Pseudoangiomatöse stromale Hyperplasie (PASH)	1	44 mm	0/1
Gesund (n = 3)**	0	n.a.	0/0
Maligne (n = 14)	14		12/14
Invasives duktales Karzinom	9	29 mm (8 - 51 mm)	8/9
Invasives lobuläres Karzinom	1	25 mm	1/1
Invasives lobulo-duktales Karzinom	1	17 mm	0/1
Duktales Karzinom in Situ	1	80 mm	1/1
Metaplastisches Karzinom	2	28 mm (19 - 37 mm)	2/2

* Bei Anzahl der Läsionen > 1 erfolgte die Angabe der mittleren Läsionsgröße und die Angabe des Größenbereichs in Klammern. Für die malignen Läsionen (n = 14) lag der mediane Durchmesser bei 27 mm (mittlerer Durchmesser = 30 mm, Größenbereich = 8 – 80 mm), für die benignen Läsionen (n = 8) bei 22 mm (mittlerer Durchmesser = 25 mm, Größenbereich 10 – 52 mm). Im Falle der gesunden Brustdrüsen ohne Läsionen erfolgte keine Größenangabe (n.a.).

** keine Biopsie erfolgt. Befund basierend auf konventioneller Bildgebung.

Tabelle 1: Histopathologische Befunde, Läsionsgrößen und Detektionsraten für 22 untersuchte Brustdrüsen.

4.2 Ergebnisse der Analyse der Brustdichte

Im Hinblick auf die Brustdichte wurden anhand der Röntgenmammographie-basierten Analyse 11 Brustdrüsen als „nicht-dicht“ (10 maligne Läsionen, 1 benigne Läsion) und 10 Brustdrüsen als „dicht“ eingestuft (4 maligne Läsionen, 6 benigne Läsionen) (Abbildung 11).

Bei der Dichteanalyse wurde eine Brustdrüse aufgrund fehlender Mammographie ausgeschlossen.

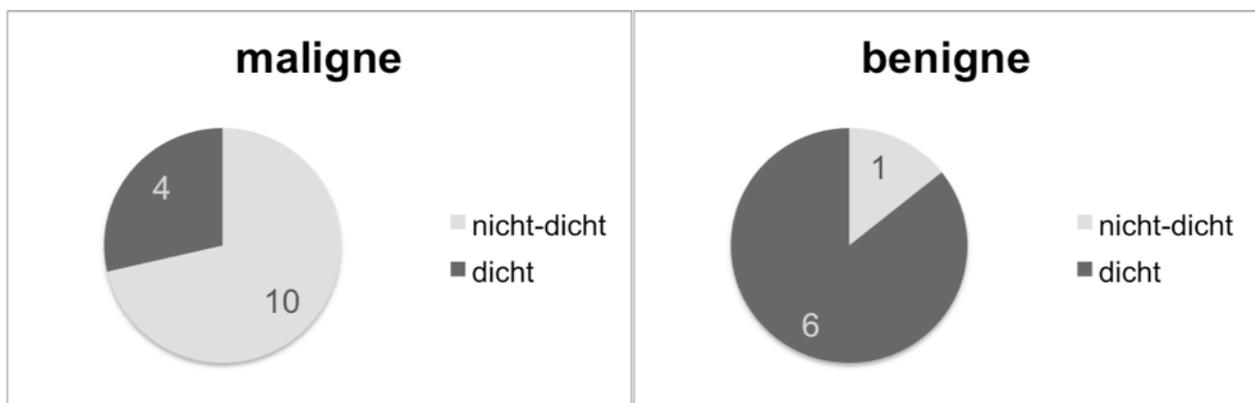


Abbildung 11: Quantitative Zusammensetzung des Patientenkollektivs bezüglich der Dichtebeurteilung des Brustdrüsengewebes nach BI-RADS Kriterien für die maligne Gruppe (14 Patientinnen) und die benigne Gruppe (7 Patientinnen, 1 Ausschluss aufgrund fehlender Mammographie). Definition der BI-RADS-Kategorien: 1 = vollständig verfettetes Gewebe, 2 = verstreutes fibroglanduläres Gewebe, 3 = heterogen dichtes Drüsengewebe und 4 = extrem dichtes Drüsengewebe. Die Ergebnisse wurden in die Kategorien ‚dicht‘ (BI-RADS 3 und 4) und ‚nicht-dicht‘ (BI-RADS 1 und 2) dichotomisiert.

4.3 Ergebnisse der NIR-Bildgebung

4.3.1 Zeitintensitätskurven (TICs) der An- und Abflutungsphase von ICG

Die aus dem räumlichen Rekonstruktionsalgorithmus gewonnenen Zeitintensitätskurvenscharen für die Brustdrüsen zeigten jeweils deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Kurven der Voxel hinsichtlich ihrer Amplituden und Verlaufscharakteristiken. Ein repräsentativer Datensatz für das gesamte Volumen der linken Brust einer 77-jährigen Patientin mit einem metaplastischen Karzinom ist in Abbildung 12 für ein Zeitintervall von etwa 15 min dargestellt.

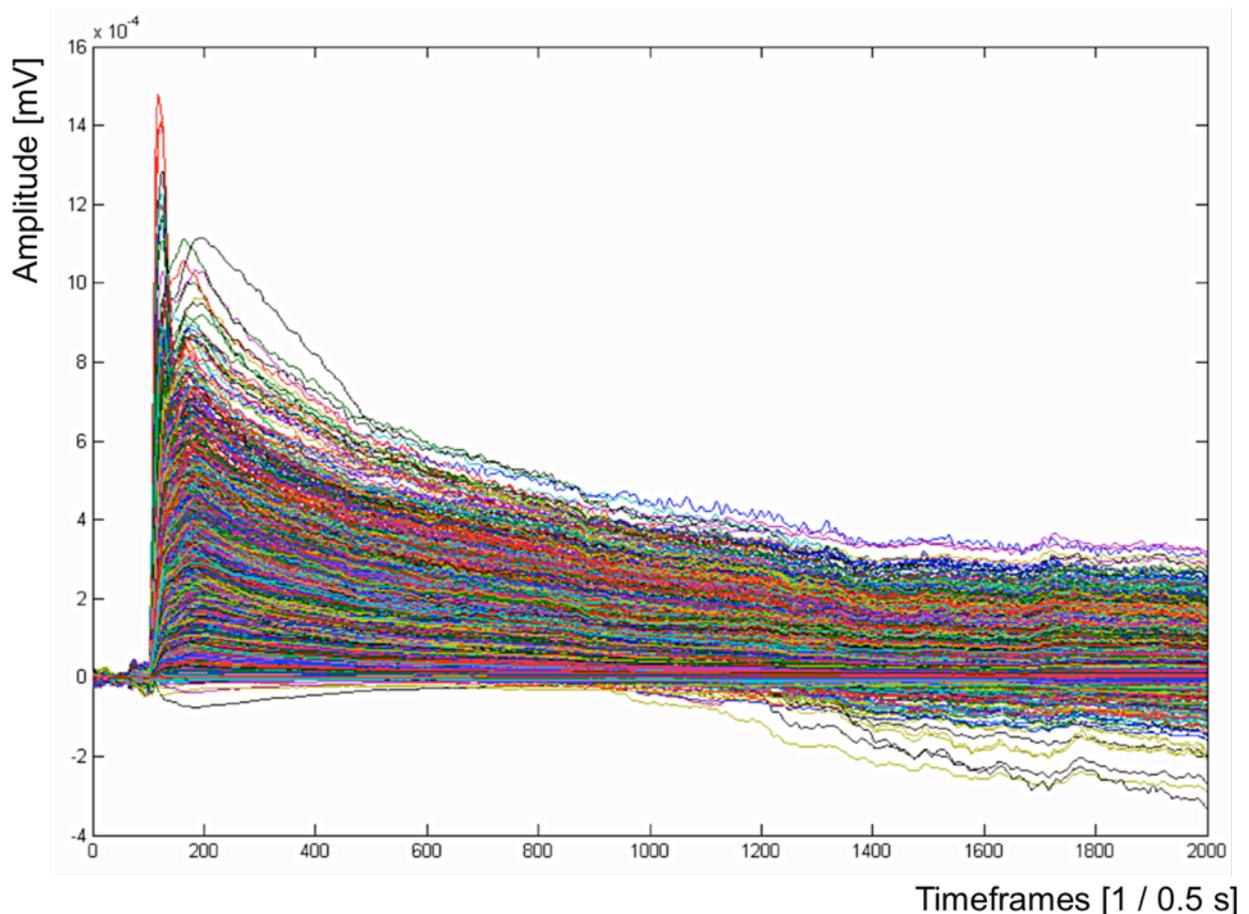


Abbildung 12: Zeitintensitätskurven aller rekonstruierten Voxel für die linke Brust einer 77-jährigen Patientin mit einem 19 mm metaplastischen Karzinom (Fall 6). Jede der 2243 Zeitintensitätskurven repräsentiert den Bolusverlauf für ein Voxel im rekonstruierten Brustvolumen. Die Akquisitionsrate für das gesamte Brustvolumen betrug 2 Hz. Das dargestellte Messintervall umfasst etwa 15 min der insgesamt 20-minütigen Messphase nach Bolusgabe. Die dargestellten Kurven unterlagen noch keinem Preprocessing mittels Normalisierung und Frequenzfilterung.

Bei näherer Betrachtung der TICs im räumlichen Bereich des 19 mm metaplastischen Karzinoms derselben Patientin zeigt sich innerhalb der ersten Minute der KM-Anflutung ein deutlich unterschiedliches Anflutungsverhalten im Vergleich zum umliegenden gesunden Brustgewebe (Abbildung 13) mit Auftreten von *früheren* und *stärkeren* Peaks. Bei beiden dargestellten Kurven handelt es sich um gemittelte Daten, zum einen aus einer manuell platzierten ‚region of interest‘ (ROI) im Bereich des Tumors, zum anderen aus dem restlichen, nicht-erkrankten Brustgewebe. Dieses Beispiel veranschaulicht die Perfusionsunterschiede zwischen beiden Gewebekategorien, d.h. frühe Anflutung im Tumorbereich vs. verzögerte Anflutung im umgebenden gesunden Brustgewebe.

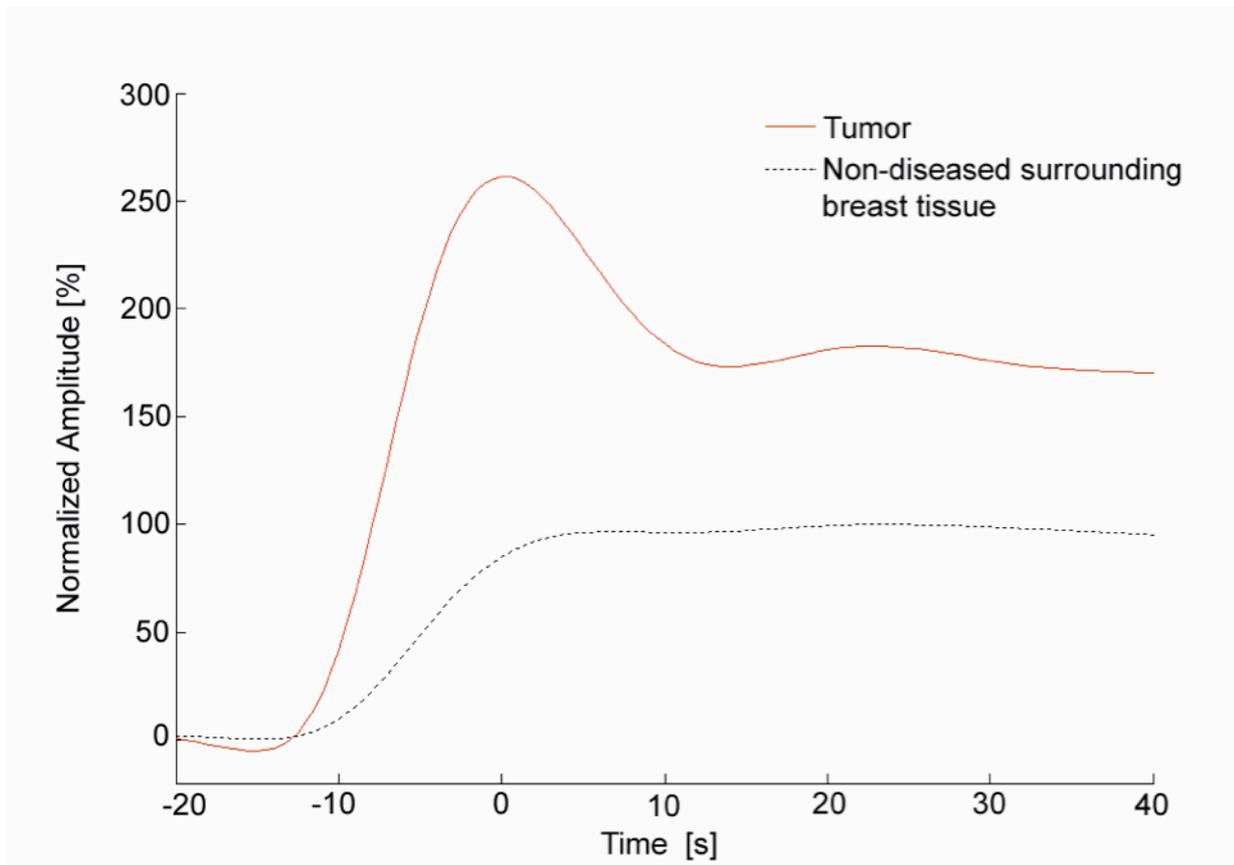


Abbildung 13: Vergleich der Zeitintensitätskurven (TICs) von malignem Tumorgewebe und tumorfreiem Brustgewebe für Fall 6. Die Tumorkurve (rot) basiert auf der manuellen Festlegung einer Region of Interest (ROI) im Tumorbereich, welcher durch MRT und Palpation bestätigt wurde. Die Kurven stellen die Mittelwerte dar und wurden auf das Maximum der tumorfreien Brustgewebeskurve (schwarz gestrichelt) normalisiert. Das dargestellte Zeitfenster wurde auf 1 min im frühen Bereich der Anflutungsphase limitiert. Der Zeitpunkt $t = 0$ s entspricht dem im Text unter 3.7 *Datenauswertung* beschriebenen Referenzpunkt.

4.3.2 Peaktime-Amplituden-Analyse (PTA-Analyse)

Tabelle 1 und Abbildung 14 fassen die Ergebnisse der PTA-Analyse zusammen. Der Abbildung 14a ist der PA-vs-TTP-Graph für die maligne und benigne Gruppe zu entnehmen. Innerhalb der ersten 4 - 5 s (ab dem Referenzpunkt $t = 0$ s) sind die medianen Amplituden (PTA-Werte) der malignen Gruppe größer als die der benignen Gruppe. Aus dieser Differenz resultierend lassen sich in diesem Zeitintervall auch erhöhte SMD-Werte beobachten. Nach 5 s kann für die maligne Gruppe ein annähernd konstantes Plateau der Werte beobachtet werden, während die benigne Gruppe einen weiteren Anstieg der Amplitudenwerte bis auf 122,6 % zum Zeitpunkt 12,5 s verzeichnet.

Die beste Diskriminierung zwischen beiden Gruppen ist zu dem Zeitpunkt möglich, an dem die SMD ihren Maximalwert annimmt. Der maximale SMD-Wert der vorliegenden Messdaten kann nach $t = 1,5$ s (SMD = 1,76) beobachtet werden. Zu diesem Zeitpunkt erreichte die Kurve der PTA-Werte im Falle der benignen Gruppe 55,8 % (Min: 9,8 %, Max: 99,6 %) und 111,0 % (Min: 30,4 %, Max: 187,0 %) im Falle der malignen Gruppe (Abbildung 14a).

Der Mann-Whitney U-Test zeigte einen signifikanten Unterschied der PTA-Werte zwischen beiden untersuchten Gruppen ($p = 0,0015$) zum untersuchten Zeitpunkt $t = 1,5$ s (Abbildung 14b).

Auf Basis dieser statistischen Daten wurde für PTA-Werte zum Zeitpunkt $t = 1,5$ s eine ROC-Analyse durchgeführt (Abbildung 14c). Der PTA-Cut-off-Wert zur Abgrenzung zwischen maligner und benigner Gruppe wurde hierbei auf 84,4 % festgesetzt und ergab folgende Trennung der Gruppen:

Sieben von 8 benignen Fällen zeigten PTA-Werte unterhalb dieses Cut-off-Wertes, während 12 von 14 malignen Fällen durch ihre PTA-Werte über 84,4 % korrekt identifiziert werden konnten.

Dies entspricht einer Sensitivität von 85,7 % und einer Spezifität von 87,5 %.

Der positive prädiktive Wert (ppV) betrug 92,3%, der negative prädiktive Wert (npV) betrug 77,8%, beide Werte sind aufgrund des vorselektierten kleinen Patientenkollektivs jedoch nicht aussagekräftig.

Der höchste PTA-Wert (187,0 %) wurde in der Brustdrüse einer 53-jährigen Patientin mit einem 33 mm großen IDC registriert (Fall 1, Abbildung 17).

Niedrige PTA-Werte, welche zu falsch-negativen Ergebnissen führten, konnten für zwei maligne Fälle beobachtet werden: einem 15 mm messenden IDC einer 55-jährigen Patientin (PTA: 30,4 %) sowie einem 16 mm großen ILDC einer 61-jährigen Patientin (PTA: 74,7 %).

In der benignen Gruppe war lediglich ein falsch-positiver Fall eines 10 mm messenden FA einer 50-jährigen Patientin (PTA: 99,6 %) zu verzeichnen.

Eine Analyse der läsionsfreien Kontrollgruppe (n = 3) zum Zeitpunkt 1,5 s zeigte in allen 3 Brüsten PTA-Werte unterhalb des Cut-off-Wertes von 84,4 % (Median: 32,7 %, Min: 22,5 %, Max: 60,4 %).

Zur besseren Verdeutlichung des Zusammenhangs zwischen der numerischen Auswertung der PTA-Kurven und den zugrunde liegenden Perfusionsparametern TTP und PA wurden für 3 exemplarische Brustdrüsen (Fall 1 - 3) die PTA-Kurven dargestellt (Abbildung 15). Die entsprechenden NIR-Schnittbilder mit den visualisierten Parametern TTP und PA zum Vergleich finden sich bei den weiter unten präsentierten 7 klinischen Fallbeispielen als Fall 1 - 3 wieder.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich die Stärke der frühen ICG-Anflutung signifikant zwischen der malignen und benignen Gruppe unterscheidet. Hier zeigte sich die starke Tendenz, dass Brustdrüsen mit malignen Läsionen hohe Peakamplituden in der frühen Anflutung aufwiesen (siehe Fall 1 / Abbildung 17, Fall 2 / Abbildung 19, Fall 4 / Abbildung 23, Fall 5 / Abbildung 25, Fall 6 / Abbildung 27, Fall 7 / Abbildung 29), während Brustdrüsen mit benignen Läsionen (siehe Fall 3 / Abbildung 21) oder Brustdrüsen ohne Läsionen (nicht in Gesamtauswertung eingeflossen) initial tiefe Peakamplituden zeigten, welche sich im Verlauf der Anflutung jedoch dem Niveau der malignen Gruppe anpassten.

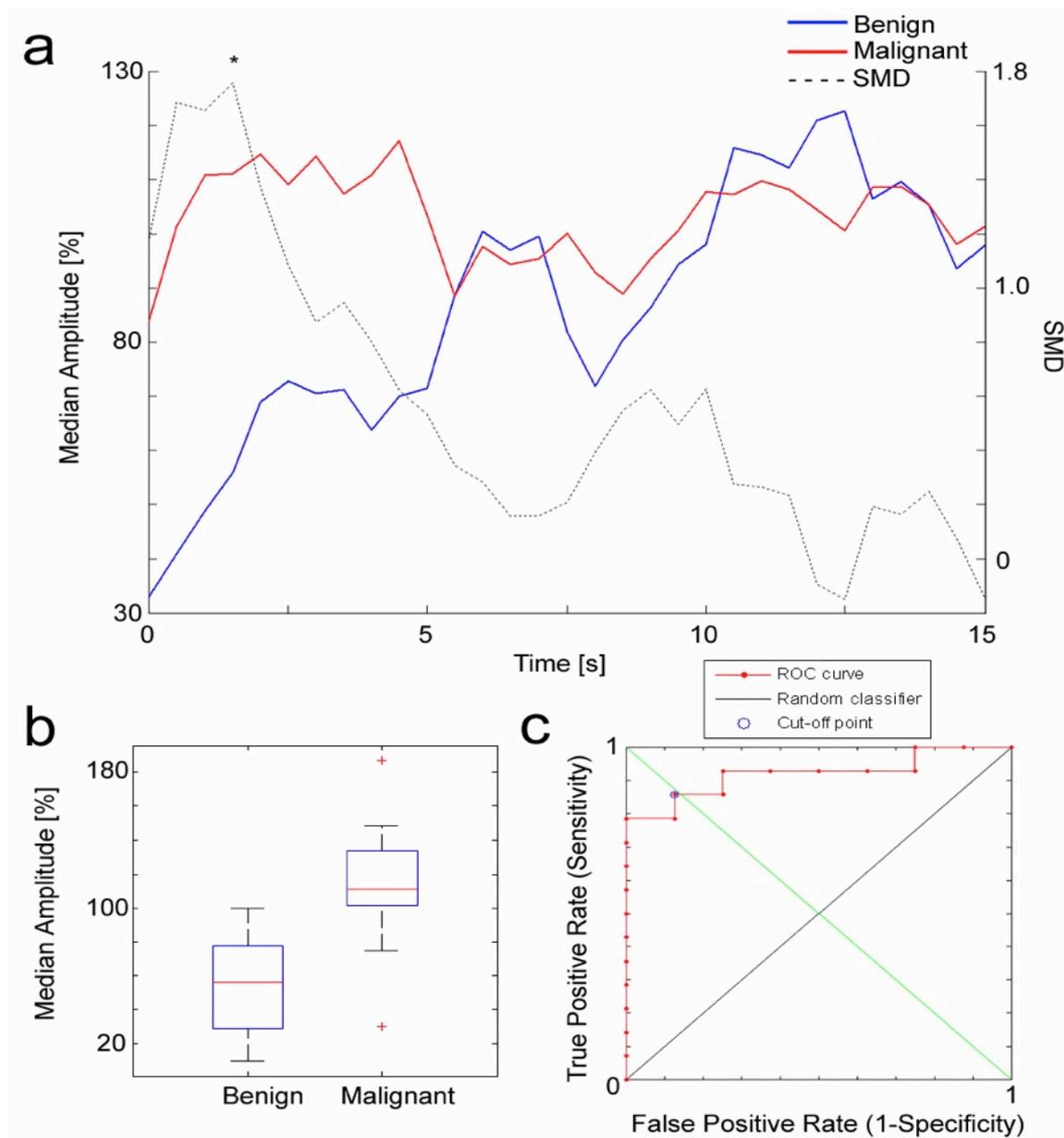


Abbildung 14: Time to Peak-basierte Amplitudenanalyse für 22 Patientinnen. **a** Analyse der Peakamplituden für ein Zeitintervall von 15 s nach Registrierung der ersten ICG-Bolus-Peaks in der Brust (Referenz $t = 0$ s, Definition siehe 3.7 Datenauswertung). Für jeden Zeitpunkt ist der Medianwert der gemittelten Peakamplituden (normiert auf das jeweilige Maximum der mittleren Gewebeskurve) aller untersuchten Brüste mit benignen (durchgezogen blau) und malignen (durchgezogen rot) Läsionen dargestellt. Die standardisierte Mittelwertsdifferenz (SMD) beider Gruppen ist für jeden Zeitpunkt angegeben (schwarze, gestrichelte Linie); der Stern (*) markiert die maximale SMD bei $t = 1,5$ s. **b** Box Plots illustrieren die Verteilung der Peakamplituden bei $t = 1,5$ s für beide Gruppen; rote Mittellinien repräsentieren den Median; blaue Box-Ecken umschließen das obere und untere Quartil; Whisker repräsentieren die niedrigsten bzw. höchsten Datenwerte jeweils begrenzt auf einen IQR (Interquartilsabstand) = 1,5 des unteren bzw. oberen Quartils. Ausreißer werden durch rote Kreuze dargestellt. **c** ROC-Kurve für Peakamplituden bei $t = 1,5$ s. Der Cut-off-Wert wurde auf 84,4 % gesetzt.

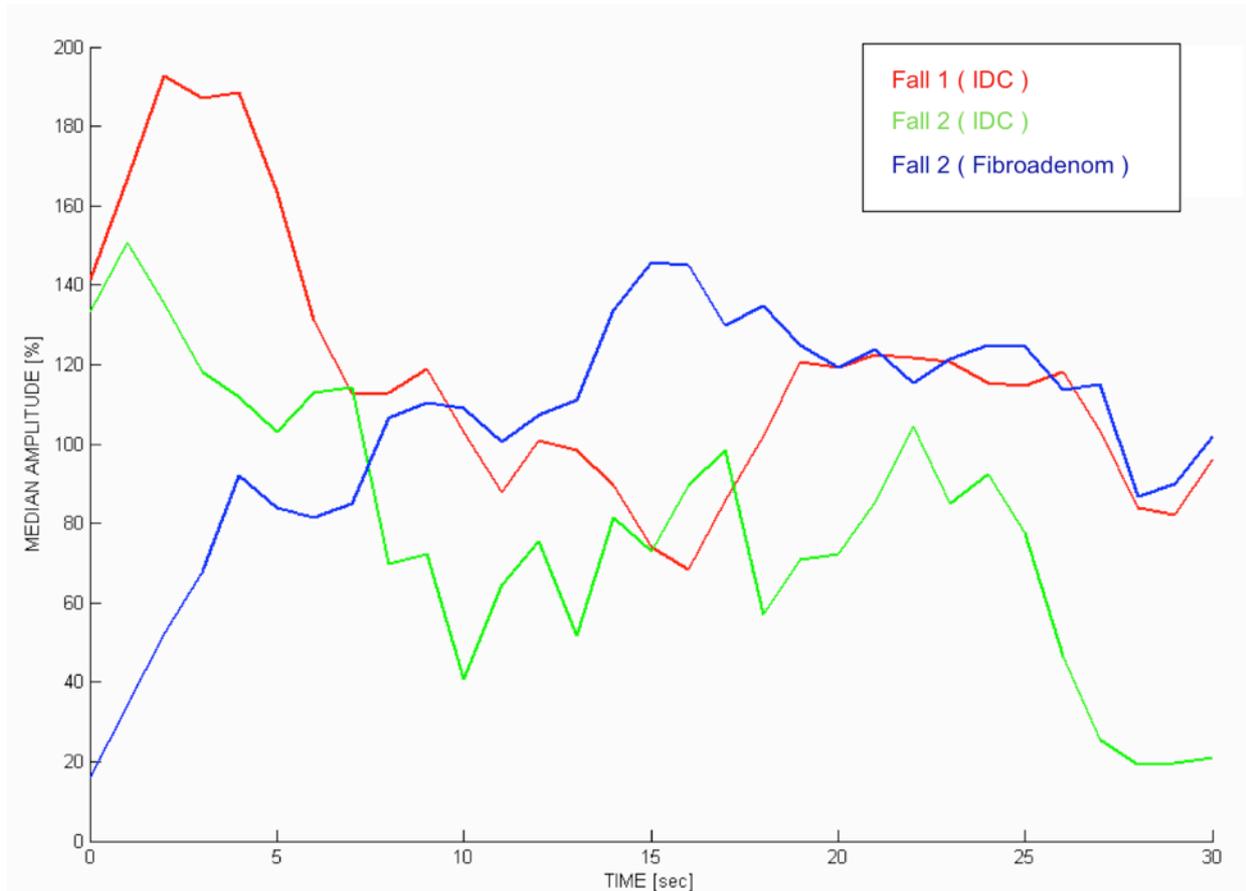


Abbildung 15: Darstellung der PTA-Kurven der Time to Peak-basierten Amplitudenanalyse für Fall 1 - 3: Fall 1, ein 33 mm intermediär-gradiges IDC bei einer 53-jährigen Patientin, zum Vergleich ein 30 mm niedrig-gradiges IDC bei einer 58-jährigen Patientin (**Fall 2**) und eine 27-jährige Patientin mit einem 22 mm Fibroadenom (**Fall 3**). Analog zur Analyse für das Gesamtkollektiv erfolgte die Medianbildung der Peakamplituden aller TICs (normiert auf das jeweilige Maximum der mittleren Gewebeskurve) zum jeweiligen Peakzeitpunkt. Das dargestellte Zeitintervall umfasst 30 s und beginnt zum unter 3.7 *Datenauswertung* definierten Referenzpunkt $t = 0$ s. Ähnlich der Gesamtanalyse war auch hier ein deutlicher Unterschied der medianen Peakamplituden (= PTA-Wert) im frühen Anflutungsbereich des Kontrastmittels zu beobachten. Die hohen Werte im Anfangsbereich der Kurven für die beiden malignen Fälle entsprachen einer räumlichen Überlappung von Brustarealen mit hohen Peakamplituden und frühen Peakzeiten in den NIR-Schnittbilddarstellungen. Diese Überlappung konnte für das hier präsentierte Fibroadenom nicht beobachtet werden. Zum Zeitpunkt $t = 1,5$ s wiesen alle 3 Fälle einen PTA-Wert auf, welcher mithilfe des Cut-off-Wertes von 84,4 % aus der Gesamtanalyse eine korrekte Vorhersage über die Malignität gestattete: **Fall 1** = 187,0 %, **Fall 2** = 118,1 % und **Fall 3** = 67,8 %.

4.3.3 Separate Analyse der Brüste mit hoher Gewebsdichte (BI-RADS 3 und 4)

Da die Untersuchung von Brustdrüsen hoher Dichte in der klinischen Bildgebung eine besondere Herausforderung darstellt, erfolgte zusätzlich eine separate Bestimmung der

Sensitivität und Spezifität bei diesen Patientinnen (Abbildung 16). In der Gesamtauswertung wurden 12 von 14 Brustläsionen als richtig-positiv erkannt (Sensitivität = 85,7 %), bei den benignen Läsionen wurde eine Brust falsch-positiv eingeordnet (Spezifität = 87,5 %). Die Gruppe mit der Einstufung ‚dicht‘ entsprechend einem BI-RADS 3 und 4 umfasste 10 Brüste. Hiervon wurden 3 von 4 Brüsten mit einer malignen Läsion als richtig-positiv eingeordnet (Sensitivität = 75,0 %). Von den 6 Brüsten mit benignen Befunden wurden 5 als richtig-negativ eingestuft (Spezifität = 83,3 %). In einer getrennten Analyse der Brüste mit ‚extrem dichten‘ Drüsengewebe gemäß BI-RADS 4 wurde eine einzelne Brust mit malignem Herd richtig-positiv erkannt (Sensitivität = 100 %), während 3 von 4 gutartigen Brüsten korrekterweise als benigne eingestuft wurden (Spezifität = 75,0 %). Aufgrund der geringen Fallzahl ist diese Untergruppenauswertung nicht aussagekräftig. Zum Vergleich lieferte die Untersuchung der Gruppe ‚nicht-dicht‘ eine Sensitivität von 90 % (9 von 10 Fällen erkannt), die Spezifität ist mit einem richtig-negativ erkannten Fall (100 %) ebenfalls nicht repräsentativ.

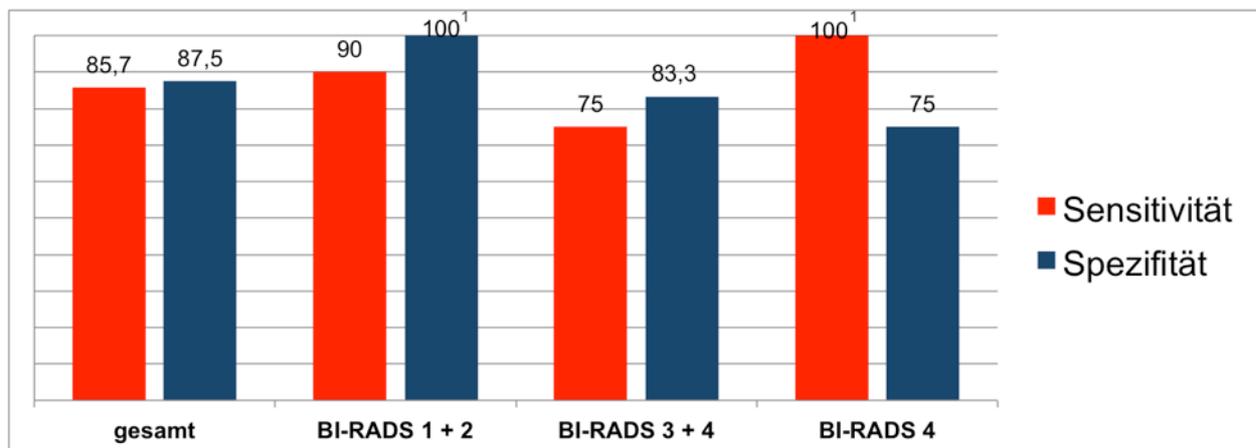


Abbildung 16: Vergleich der ermittelten Sensitivitäten und Spezifitäten für Brustdrüsen verschiedener Gewebsdichte. ¹geringe Fallzahl.

4.3.4 Sieben klinische Fallbeispiele

Zur besseren Veranschaulichung der erhobenen Perfusionsparameter werden im Folgenden 7 klinische Fallbeispiele anhand ihrer NIR-Schnittbilder sowie der MRM-Bilder, Sonographien und Röntgenmammographien präsentiert. Zum Vergleich der verschiedenen Auswertungsansätze (Schnittbilder vs. Kurven) wurden zusätzlich für 3 der 7 vorgestellten Fälle exemplarisch die (PTA-) Einzelkurven visualisiert (Abbildung 15).

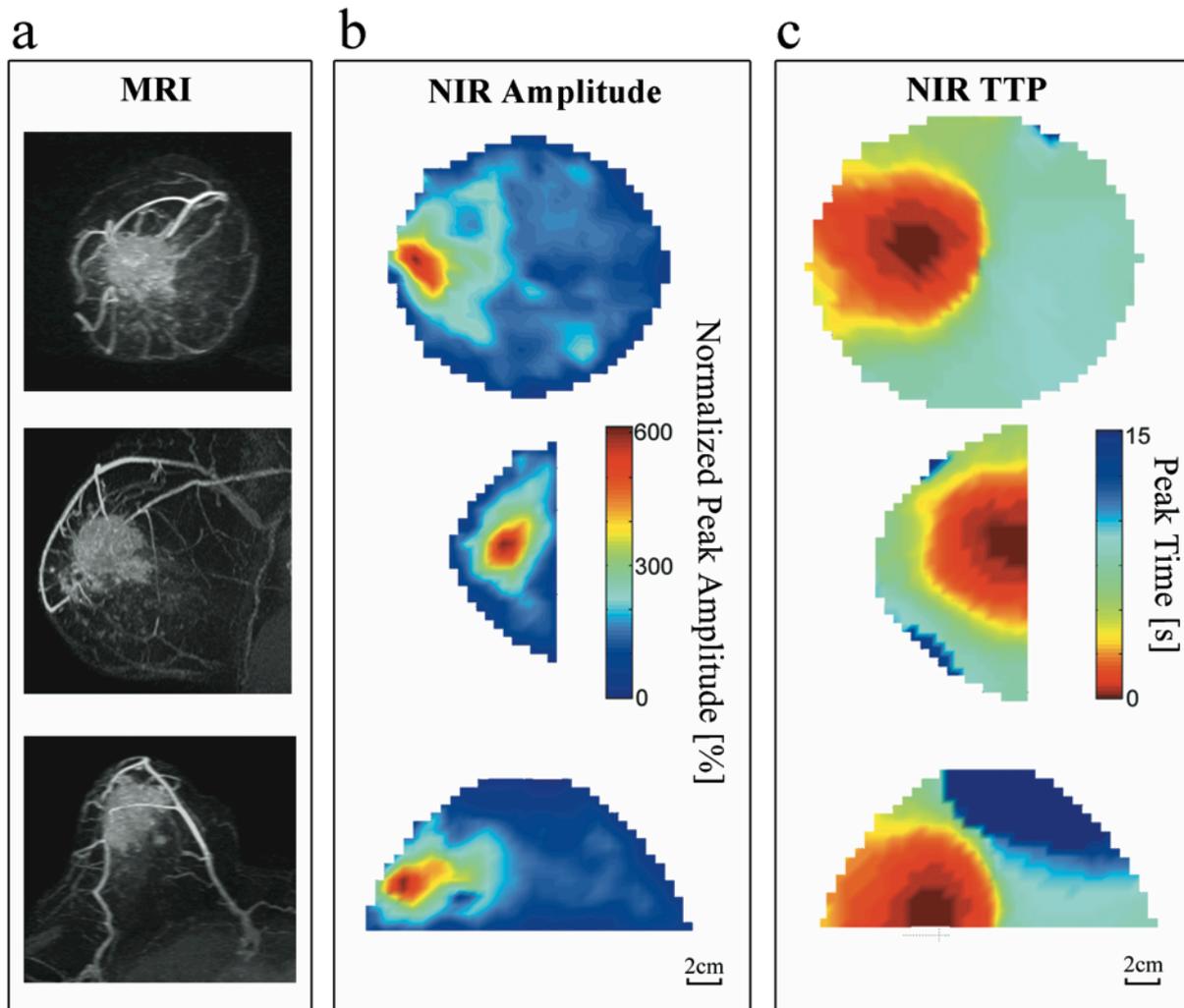


Abbildung 17: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 1 (Fall publiziert [130]): Die MRM zeigt ein großes hypervaskularisiertes Areal auf 9 Uhr Position **a**, korrespondierend mit höheren Amplituden in diesem Bereich in der Peakamplituden-Visualisierung (**b**) und früheren Zeitpunkten in der Time to Peak-Visualisierung (**c**) im indocyaningrün-basierten NIR-Imaging. Die Histologie ergab ein 33 mm intermediär-gradiges IDC bei der 53-jährigen Patientin. Der PTA-Wert lag mit 187,0 % im malignen Bereich.

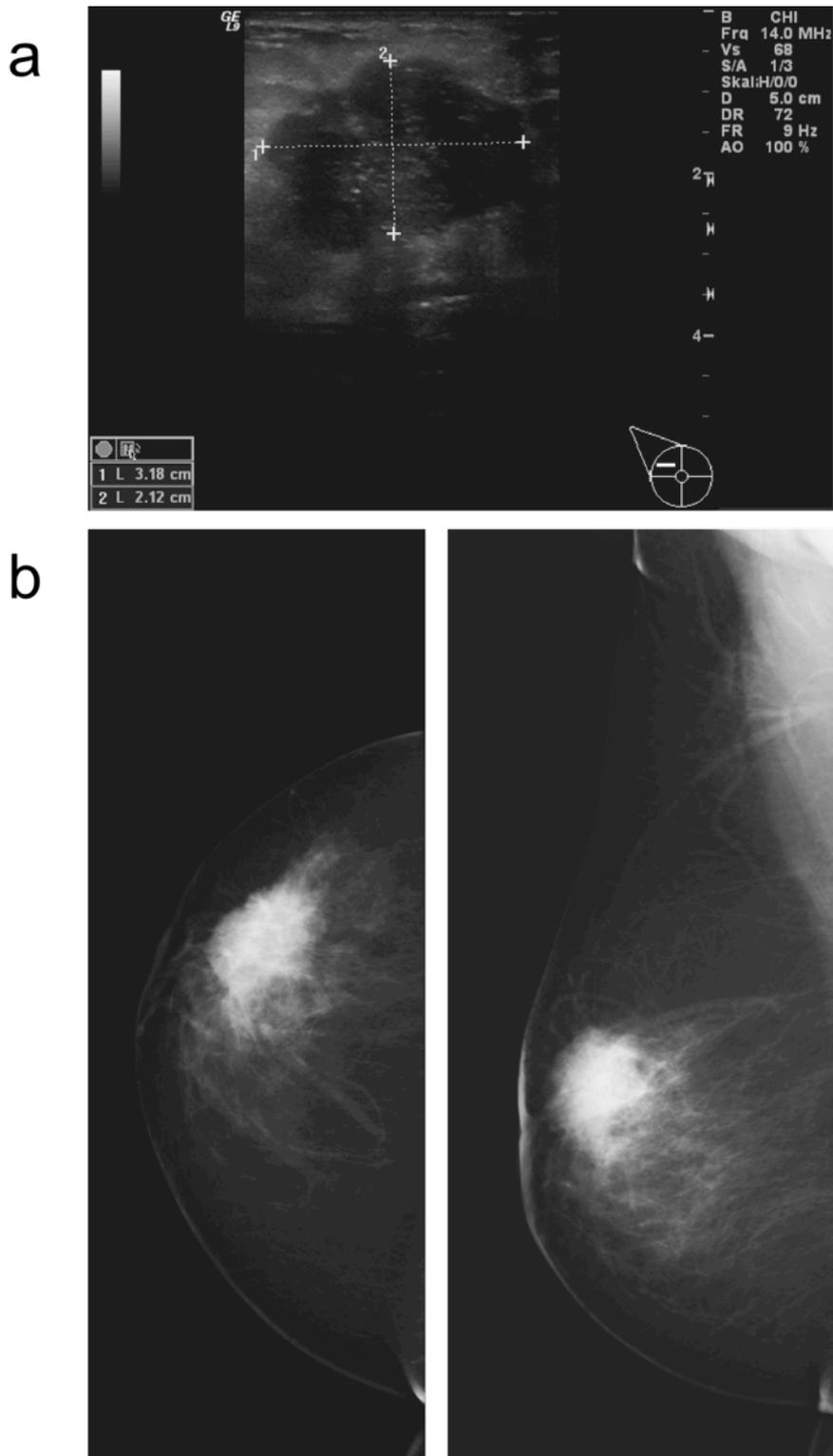


Abbildung 18: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 1: **a** In der Sonographie ist eine unscharf berandete Läsion mit inhomogener Binnenstruktur und partieller dorsaler Schallauslöschung zu erkennen. Dies ist gut vereinbar mit dem histopathologisch gesicherten Befund eines IDC. **b** Korrespondierend dazu zeigen die Mammographie-Aufnahmen der rechten Brust in beiden Strahlengängen eine spikulierte, unscharf berandete Verdichtungsstruktur. Der ACR-Dichteindex liegt bei 2.

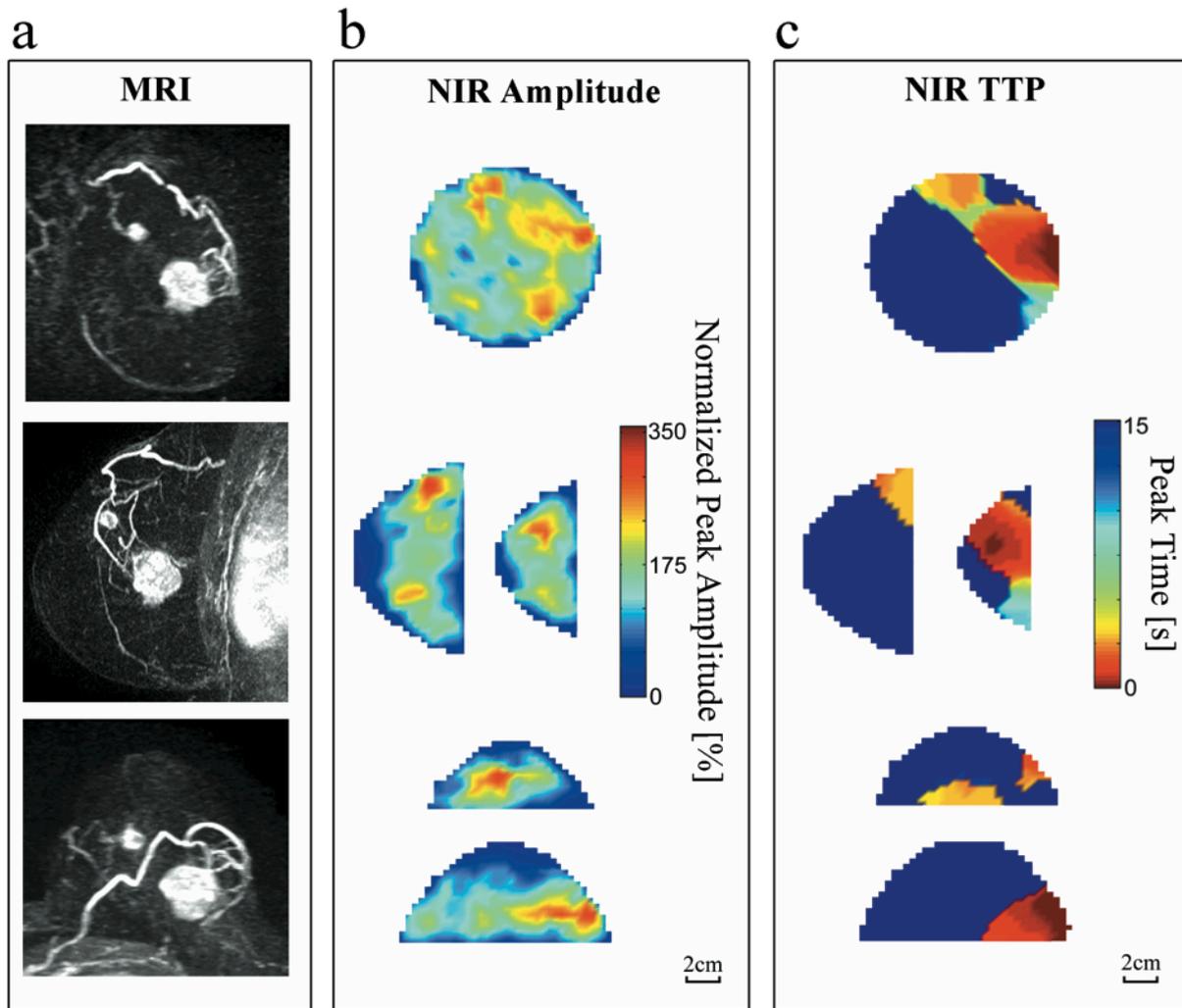


Abbildung 19: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 2 (Fall publiziert [130]): Ein 48 mm multizentrisches IDC bei einer 58-jährigen Patientin. Die gadoliniumbasierte MRM-Subtraktionsaufnahme zeigt die suspekten Läsionen mit Lokalisierung auf 11 und 3 Uhr Position (a). Darstellung der Peakamplituden (b) und der Peakzeiten (c) im indocyaningrün-basierten NIR-Imaging. Mit 118,1 % lag der PTA-Wert für diese Patientin ebenfalls im malignen Bereich.

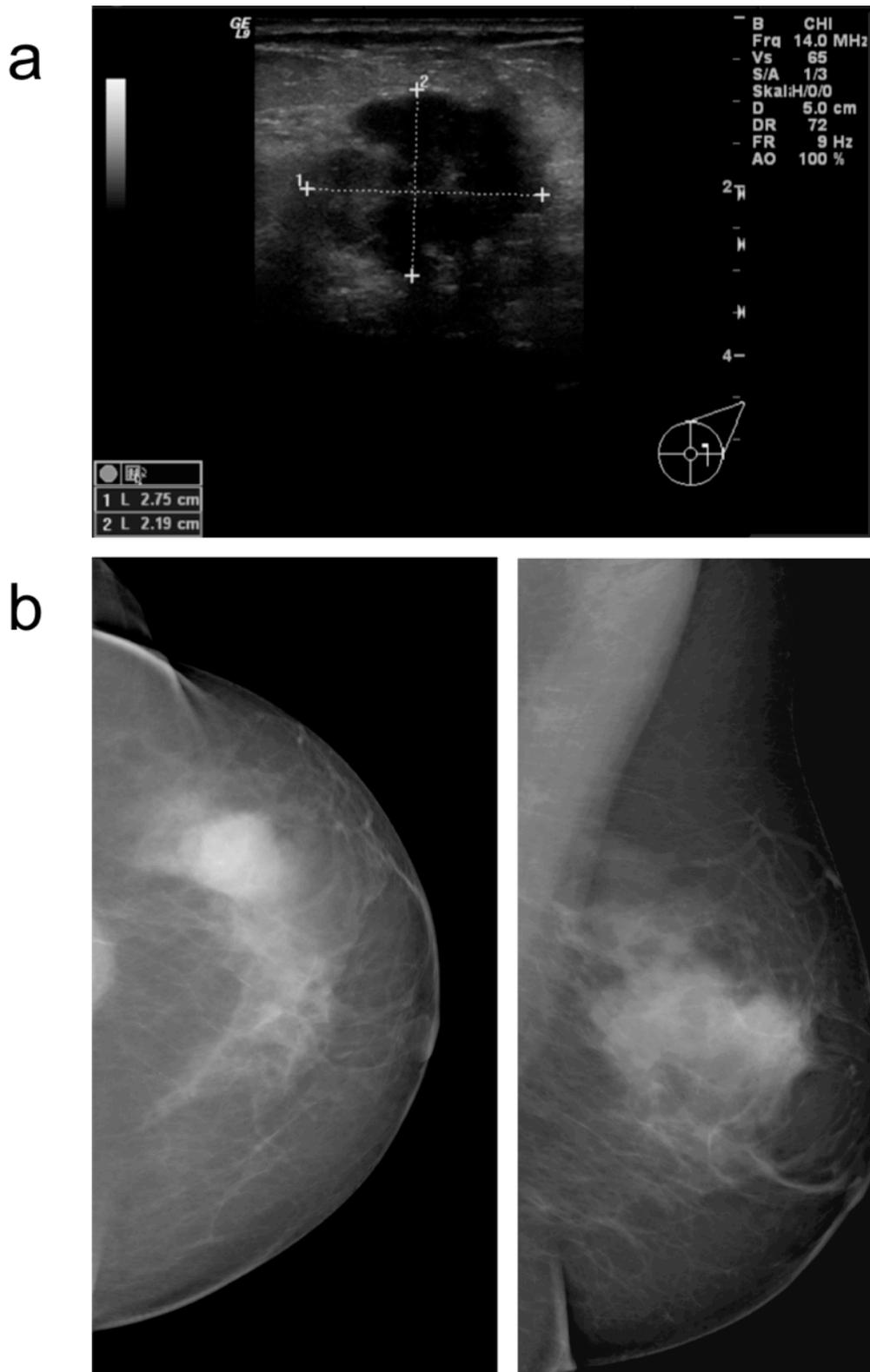


Abbildung 20: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 2: **a** In der Sonographie imponiert eine 28 mm x 22 mm messende Läsion mit inhomogener Binnenstruktur und einer partiellen dorsalen Schallauslöschung. Die Histopathologie sicherte die Diagnose eines IDC. **b** Die Mammographie-Aufnahmen der linken Brust zeigen in beiden Strahlengängen multizentrische unscharf berandete Verdichtungsstruktur. Der ACR-Dichteindex liegt bei 3.

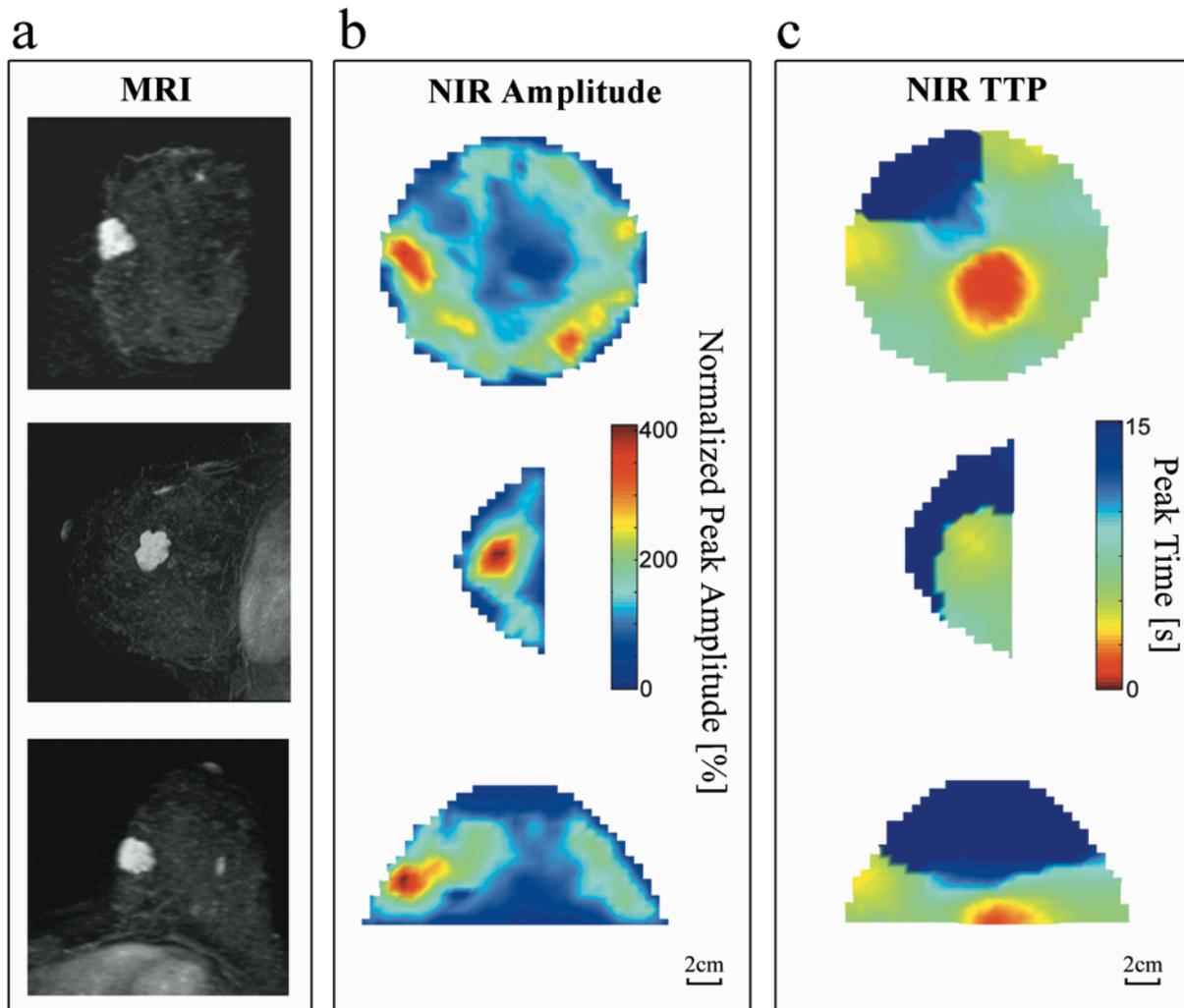


Abbildung 21: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 3 (Fall publiziert [130]): Ein 22 mm Fibroadenom bei einer 27-jährigen Patientin. **a** Gadoliniumbasierte Subtraktions-MRM der suspekten Läsion mit Lokalisation auf 9 Uhr in der linken Brust. Die Läsion konnte ebenfalls auf 9 Uhr palpirt werden. Darstellung der Peakamplituden (**b**) und der Peakzeiten (**c**) im indocyaningrün-basierten NIR-Imaging. Im Gegensatz zu den malignen Fallbeispielen kommt es hier zu keiner Überlappung erhöhter NIR-Parameter im entsprechenden Areal. Es kommt lediglich zu einer Erhöhung der Peakamplitude im Tumorbereich, der Bereich der frühesten Anflutung von ICG wird hingegen im dorsozentralen Brustbereich registriert. Ein unauffälliger PTA-Wert von 67,8 % entspricht dem benignen Befund.

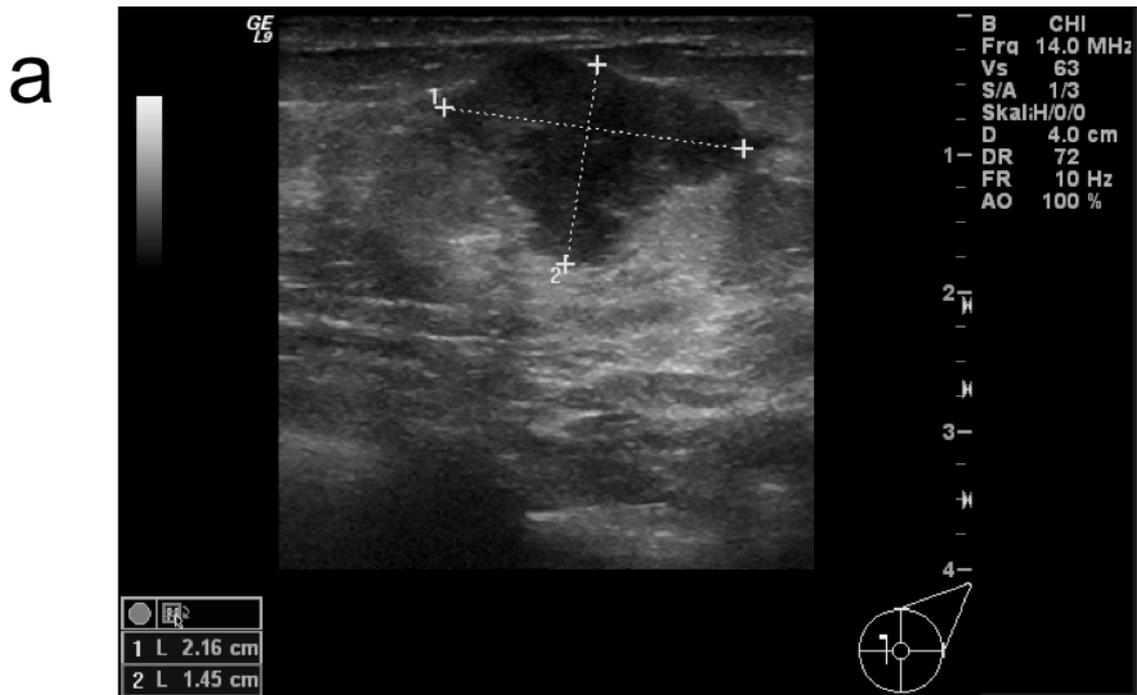


Abbildung 22: Sonographie für Fall 3: a In der Sonographie-Untersuchung präsentiert sich das histologisch gesicherte benigne Fibroadenom als homogene, echoarme Struktur (22 x 15 mm) und weist eine typische dorsale Schallverstärkung auf. Der Nachweis einer charakteristischen kapselartigen Struktur gelingt an dieser Stelle nicht. Eine Mammographie ist bei dieser Patientin nicht durchgeführt worden.

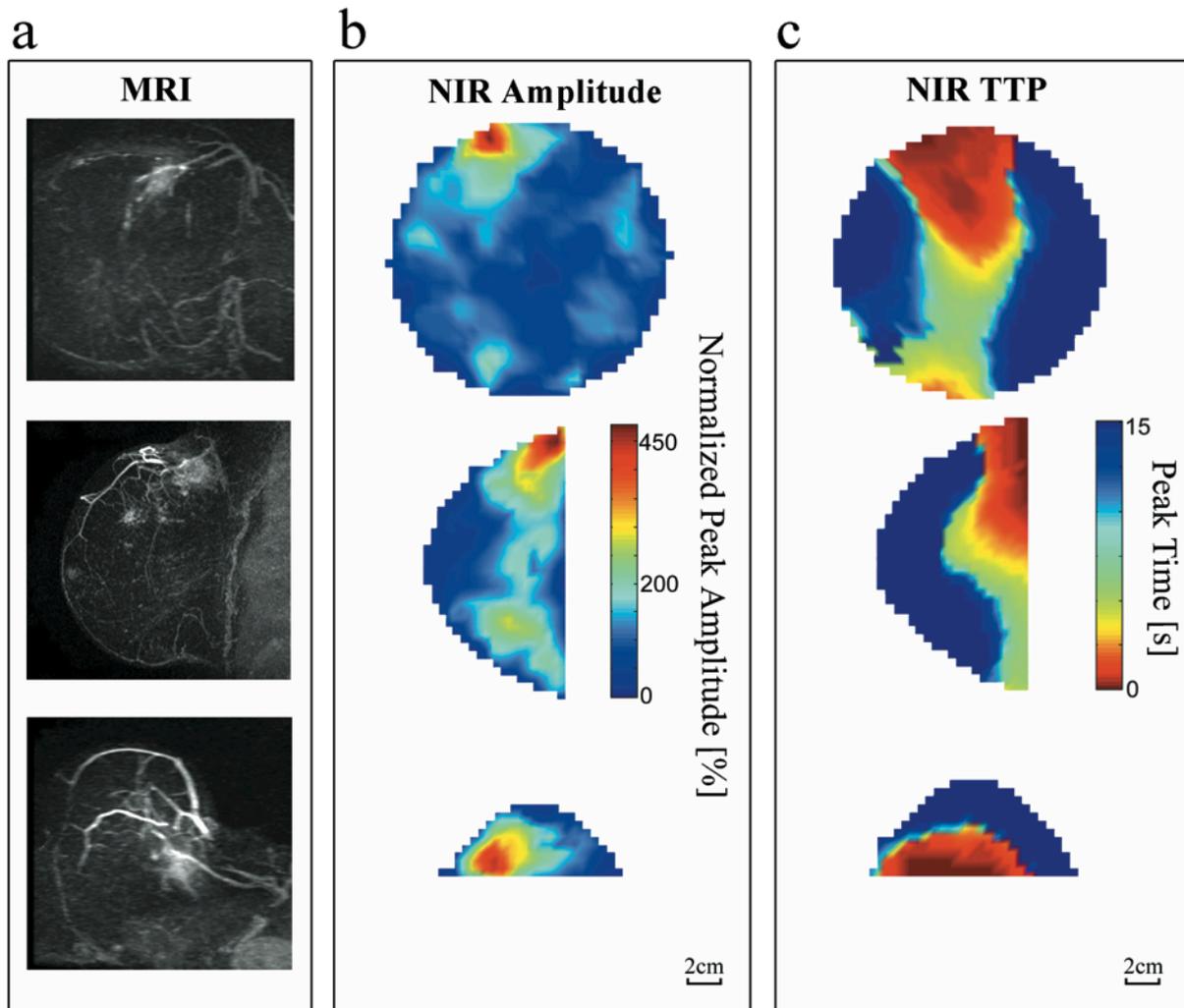


Abbildung 23: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 4: Eine 68-jährige Patientin mit 16 mm IDC in der rechten Brust. **a** Gadolinium-gestützte Subtraktions-MRM mit suspekter Läsion auf 1:00 Position. Die Palpation der Läsion erfolgte ebenfalls auf 1:00 Position. **b + c** Darstellung der Peakamplituden- und der Time To Peak-Werte in der indocyaningestützten Bildgebung. Mit moderater Abweichung zur MRM zeigen beide Parameter in der NIR eine Überlappung der auffälligen Werte mit Lokalisation auf etwa 11:00. Ein erhobener PTA-Wert von 134,1 % entspricht hier dem malignen Befund.

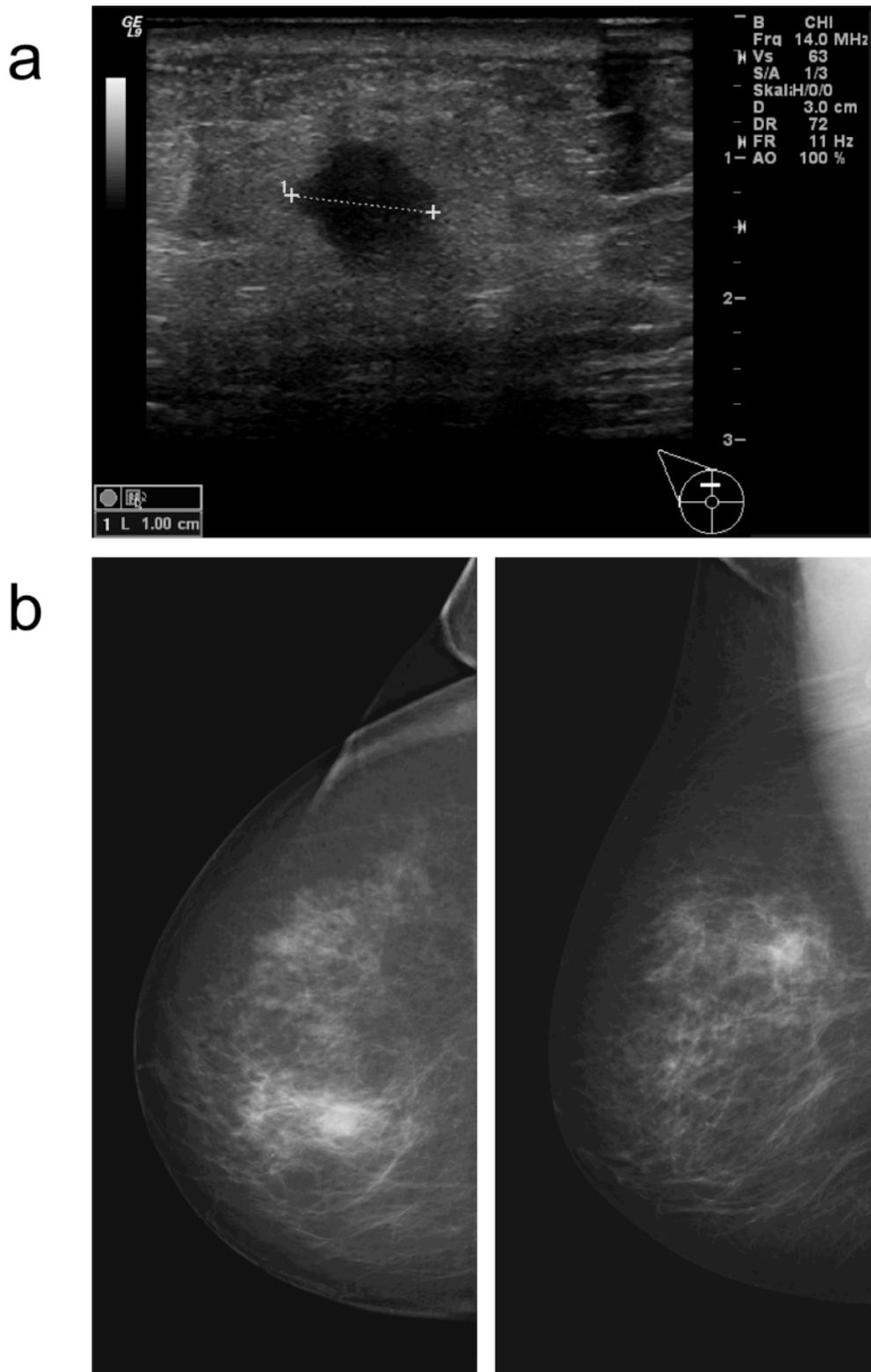


Abbildung 24: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 4: **a** Im Sonogramm präsentiert sich das IDC als ca. 10 mm große unscharf begrenzte, echoarme RF mit andeutungsweiser dorsaler Schallauslöschung. **b** Die Röntgenmammographien der rechten Brust lassen eine dezente Verschattung im kranialen Brustbereich erkennen. Aufgrund des dichten Brustparenchyms liegt der ACR-Dichteindex bei 4.

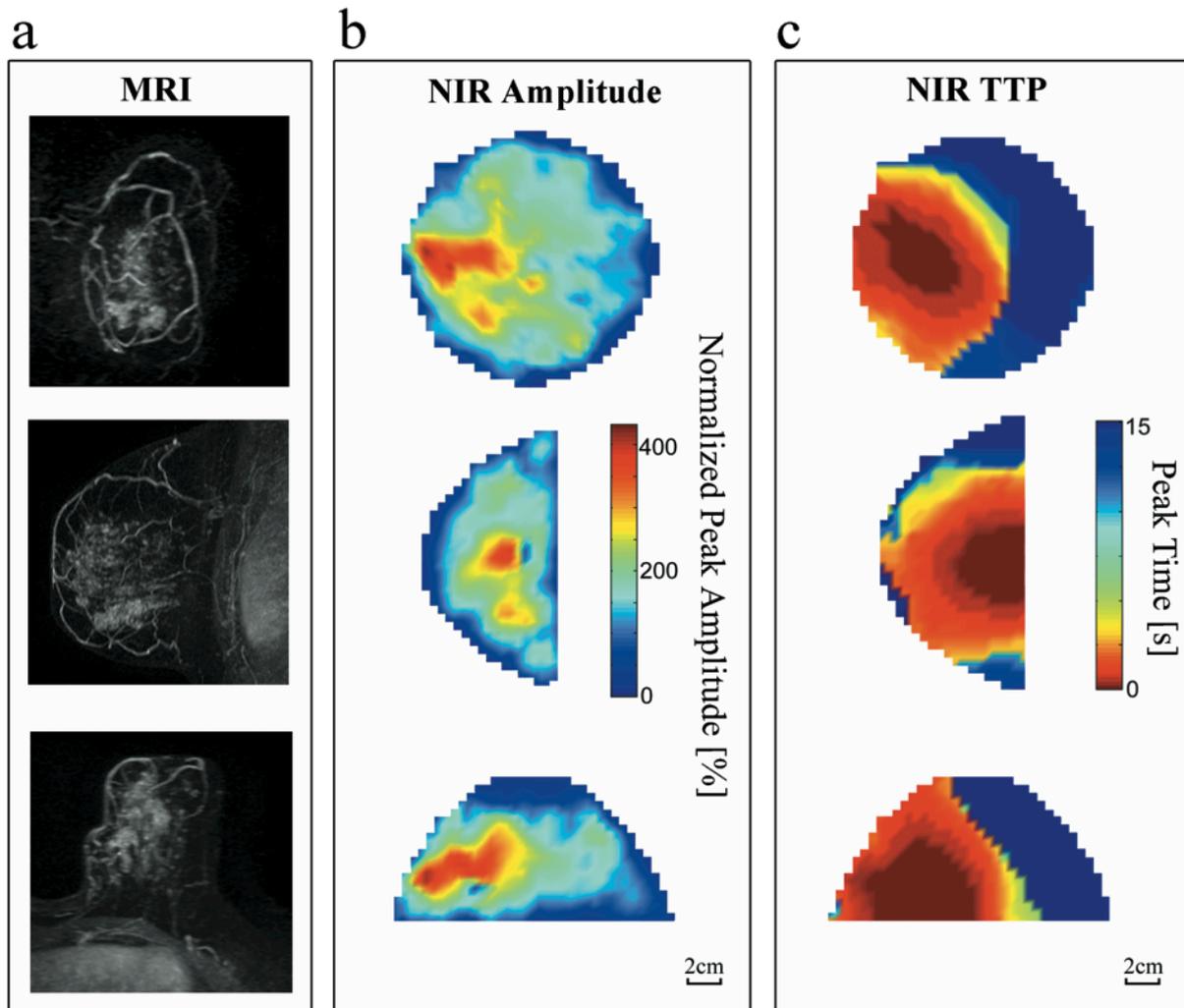


Abbildung 25: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 5: Eine 44-jährige Patientin mit 80 mm high-grade DCIS in der linken Brust. Die gadoliniumgestützte MRM der Brust zeigt die suspekte Läsion auf ungefähr 7:00 Position (**a**). Die Palpation der Läsion erfolgte auf 8:00 Position. In der NIR-Darstellung spiegelt sich die Größe der Läsion sowohl in den Peakamplituden als auch in der Time to Peak der betreffenden Areale wieder (**b + c**). Der PTA-Wert liegt mit 119.3 % im malignomsuspekten Bereich.

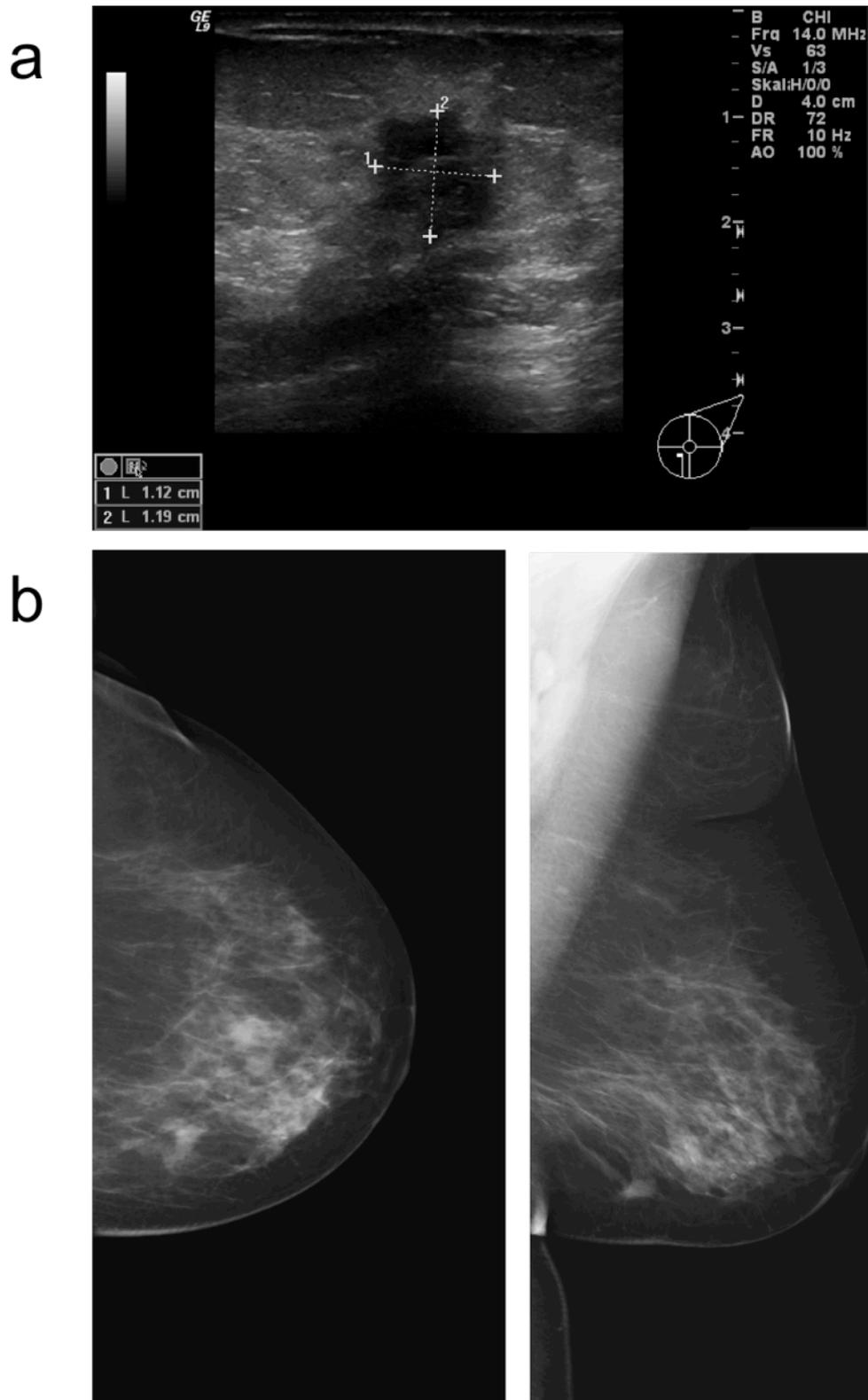


Abbildung 26: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 5: **a** Im Sonogramm gelingt der Nachweis des high-grade DCIS als 11 x 12 mm messende unscharf begrenzte RF. **b** Im Mammogramm imponiert die Läsion als diffuse Verschattung bei einem mäßig dichten Drüsenparenchym (ACR-Dichteindex = 2). Der vorliegende Nachweis von malignem Mikrokalk gelingt allerdings nur am hochauflösenden Monitor. In circa 65 % weisen DCIS suspekt Mikrokalkifikationen auf [24].

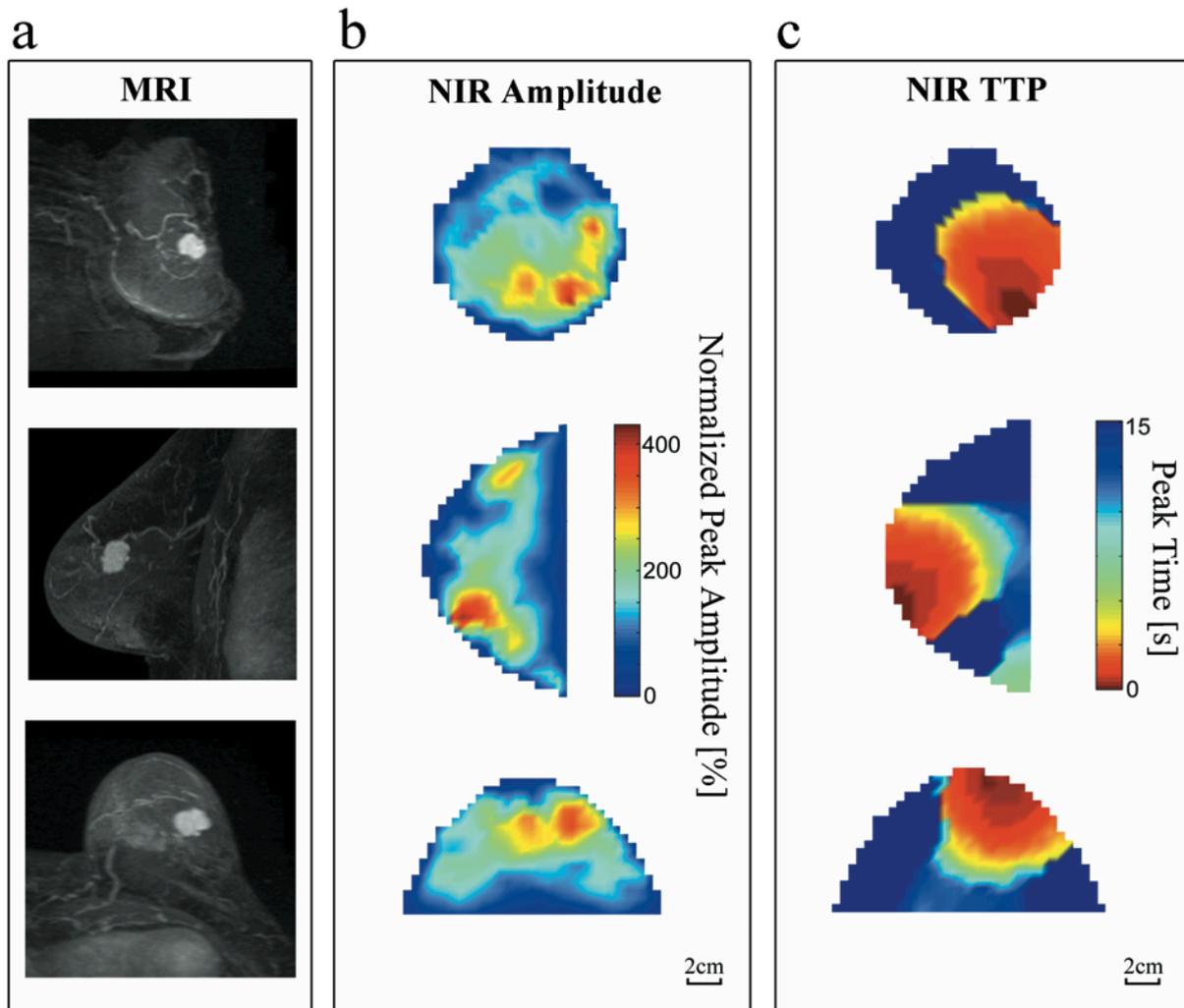


Abbildung 27: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 6: Fallbeispiel einer 77-jährigen Patientin mit 19 mm metaplastischem Karzinom in der linken Brust. **a** Gadolinium-gestützte MRM mit suspekter Läsion auf 5:00 Position. Die Palpation der Läsion erfolgte auf 4:00 Position. **b + c** Beide NIR-Parameter zeigen eine Abnormität an der betreffenden Stelle. Der PTA-Wert von 148.8 % weist auch hier auf Malignität hin.

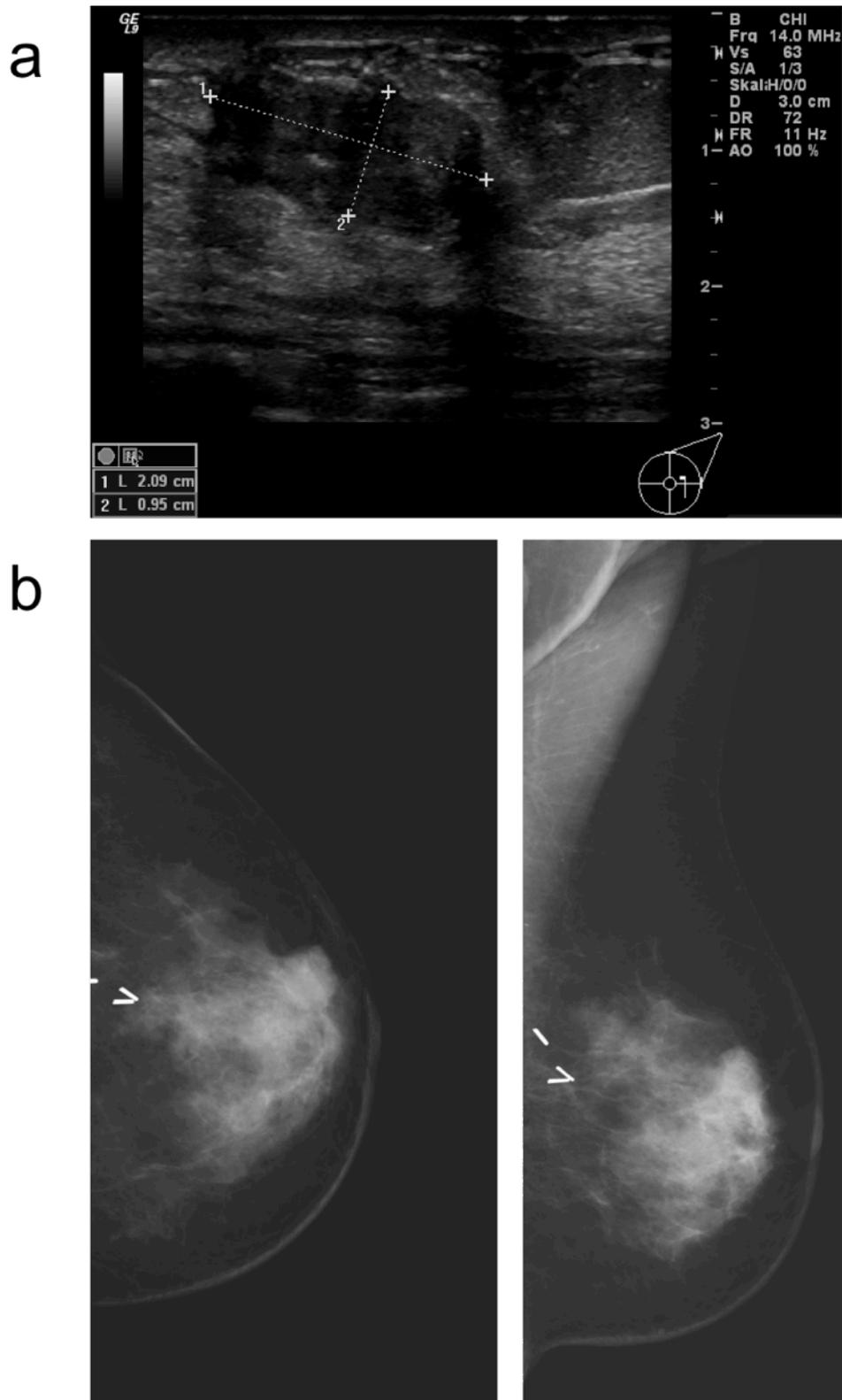


Abbildung 28: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 6: **a** Das Sonogramm zeigt das metaplastische Karzinom als ca. 21 x 10 mm messendes unscharf begrenztes echoarmes Areal. **b** Im Mammogramm lässt die röntgendichte Brust (ACR-Dichteindex = 3) nur schwer eine diffuse, unscharf berandete Verschattung erkennen. Bei den Metallfremdkörpern handelt es sich um OP-Clips einer früheren brusterhaltenden Operation (Z.n. metaplastischem Karzinom, BET 2005).

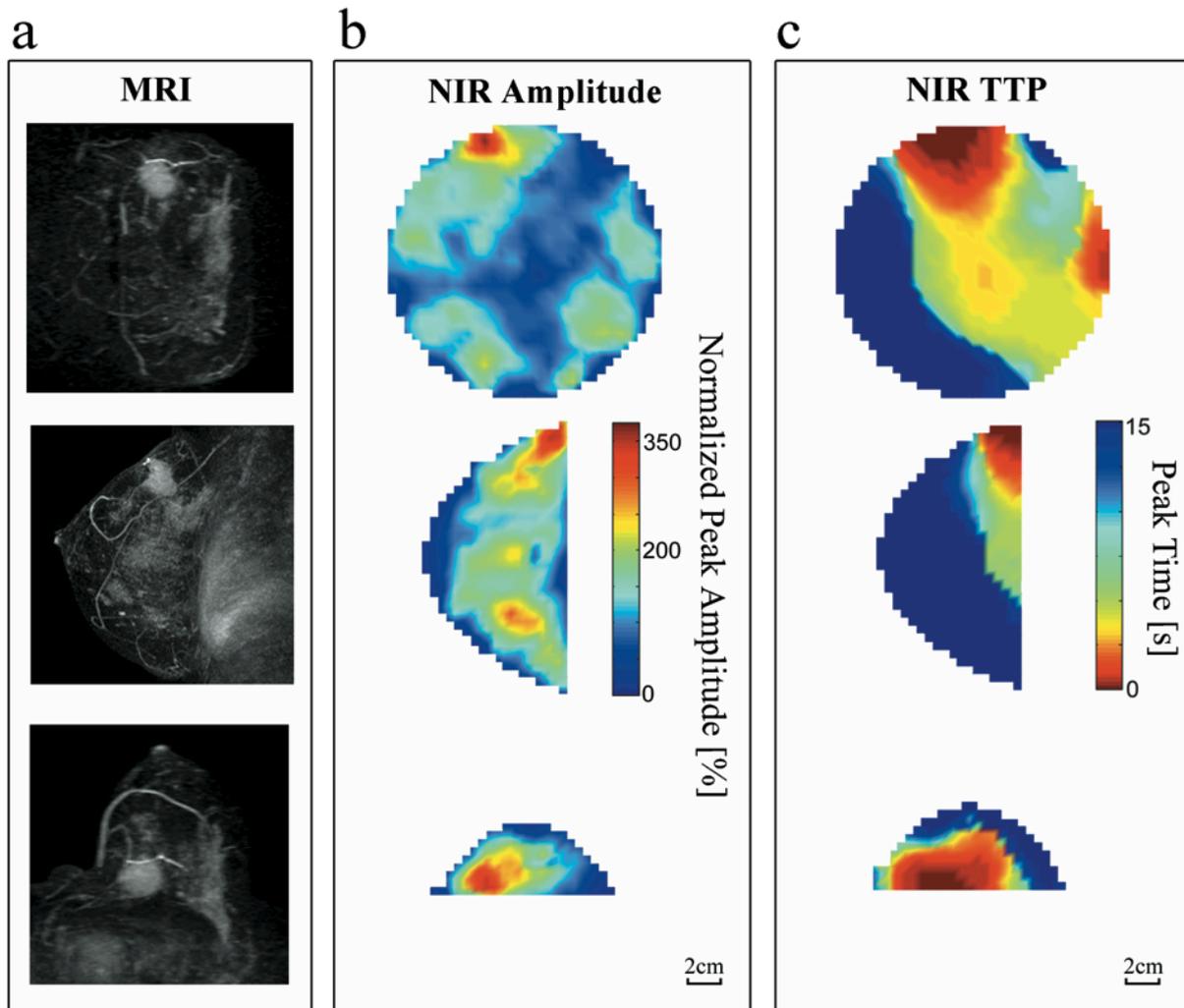


Abbildung 29: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 7: Eine 37-jährige Patientin mit 30 mm IDC in der linken Brust. **a** Gadolinium MRM mit suspekter Läsion auf 12:00 Position, welche über die manuelle Palpation an dieser Stelle bestätigt werden konnte. Analog zu den anderen malignen Fällen gelingt auch hier der Läsionsnachweis mittels PA und TTP in der indocyaningestützten NIR-Bildgebung (**b + c**). Ein PTA-Wert von 101,4 % bestätigt dies.

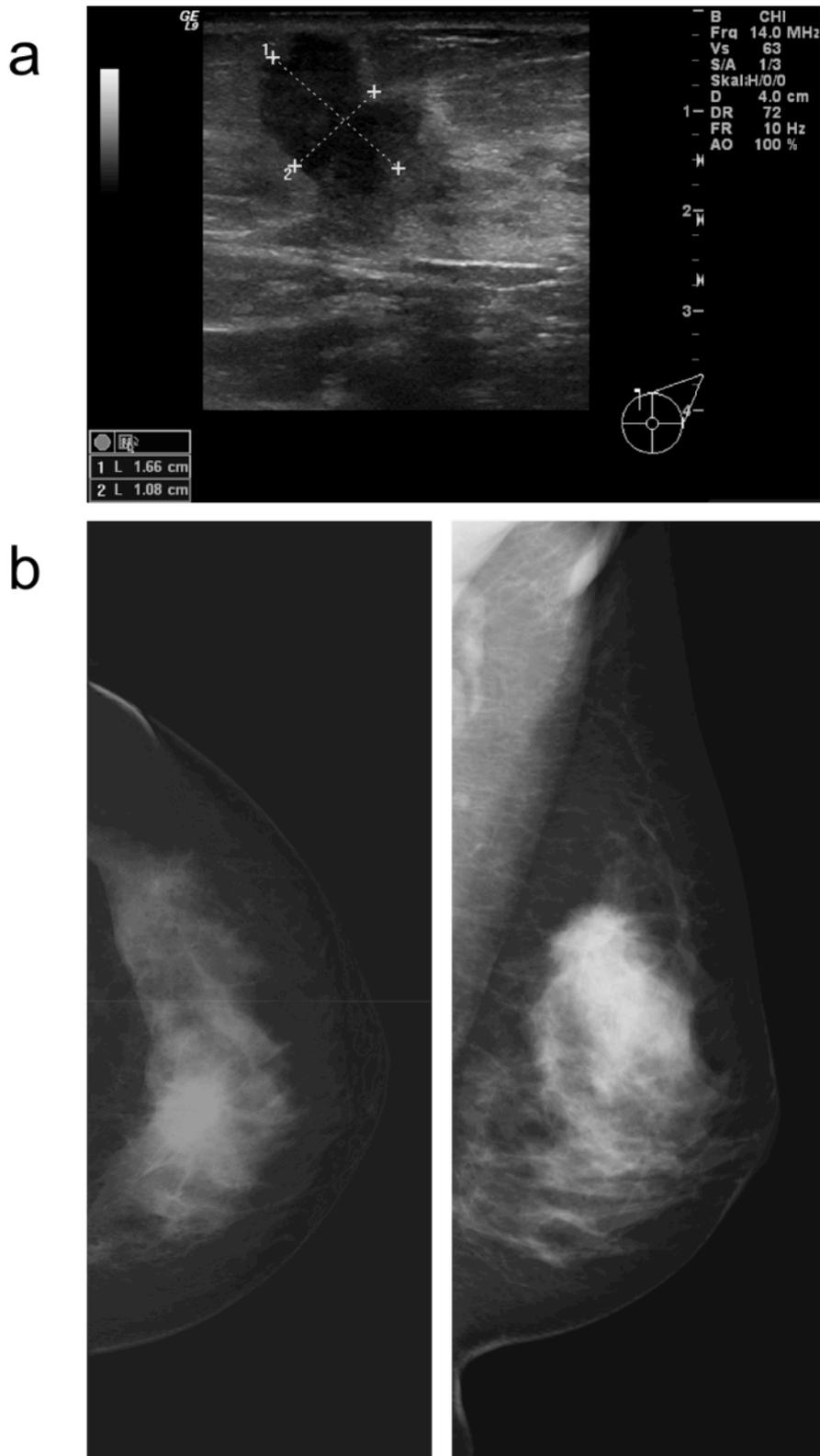


Abbildung 30: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 7: **a** Der Ultraschall zeigt bei dieser Patientin mit einem malignen IDC eine 16 x 11 mm große RF mit unscharfer Berandung und einer typischen echoarmen Binnenstruktur. **b** Bei einer insgesamt mäßigen Brustdichte im Röntgenbild (ACR-Dichteindex 2) imponiert die Läsion auch als deutliche Verschattung in beiden Mammographie-Strahlengängen.

5 Diskussion

Das Mammakarzinom ist weltweit die häufigste Krebserkrankung der Frau. Von 1980 bis 2008 hat sich die Anzahl der neu aufgetretenen Mammakarzinome in Deutschland verdoppelt. Bis in die 1990er Jahre gab es auch einen Anstieg der Mortalität in den meisten europäischen Ländern, seither ist sie fallend. Trotz der deutlich gestiegenen Inzidenz versterben laut aktuellen Zahlen heute weniger Patientinnen als noch vor 20 Jahren [7].

Die wichtigsten Prognosefaktoren für das Mammakarzinom sind die Primärtumorgröße und der axilläre Lymphknotenstatus. Beide korrelieren direkt mit der Rezidivwahrscheinlichkeit und der Überlebensrate für die Patientin [17].

Demzufolge ist der Brustkrebsfrüherkennung im Sinne einer Sekundärprävention eine außerordentliche Bedeutung bei der Mortalitätsreduktion des Mammakarzinoms beizumessen.

So weiß man aus den skandinavischen Ländern mit bereits länger etablierten flächendeckenden Mammographie-Screeningprogrammen, dass diese eine Reduktion der Brustkrebsmortalität von etwa 30 % (‘Two-county-trial’) beobachten ließen [37]. Für das Mammographie-Screening gibt es Berechnungen, dass der diagnostische Benefit gegenüber den strahlungsbedingten Risiken ab einem Alter von 50 Jahren für die Patientinnen deutlich überwiegt [53]. Das Risiko eines strahleninduzierten Mammakarzinoms ist für Frauen in jungen Jahren deutlich erhöht [54], gleichzeitig nimmt die Sensitivität der Röntgenmammographie bei erhöhter Brustdrüsendichte, wie sie oft bei jungen Frauen vorkommt, bekanntermaßen ab [26]. Eine niedrigere Prävalenz in der jungen Altersgruppe hat darüber hinaus eine Senkung des positiven prädiktiven Wertes mit einer Erhöhung der falsch-positiven Mammographiefunde zur Folge, dementsprechend lehnen einige Autoren ein Röntgenmammographie-Screening bei Patientinnen unter 50 Jahren ab [55].

Da es deutliche Hinweise dafür gibt, dass Frauen mit hoher Brustgewebisdichte im Laufe des Lebens mit höherer Wahrscheinlichkeit Brustkrebs entwickeln [131,132], ist es naheliegend diese Patientinnen schon in jungen Jahren mit einer höheren Frequenz im Rahmen von Screenings zu untersuchen [133].

Dies gilt insbesondere im Falle von Hochrisikopatientinnen, wie zum Beispiel Trägerinnen des BRCA1/2-Gens [53]. In einer 2005 publizierte Kohortenstudie von Kuhl et al. mit 529 Patientinnen mit Nachweis bzw. hochgradigem Verdacht auf ein Vorliegen des

BRCA-Gens führte die Röntgenmammographie von den 43 im Verlauf der Studie histologisch gesicherten malignen Läsionen lediglich bei 33 % zum radiologischen Nachweis, der Ultraschall stellte nur 40 % der Läsionen dar, lediglich mit der MRM-Untersuchung erzielte man eine Sensitivität von 91 %. Eine Metaanalyse von Warner et al. kam beim Vergleich von Mammographie und MRM für die Gruppe der Hochrisikopatientinnen zu einem ähnlich schlechten Abschneiden der Röntgenmammographie (Sensitivität 30 - 40 %) [134].

Trotz enormer Fortschritte im Bereich der Brustbildgebung ist der Weg zu einem sensitiven, strahlungsarmen und kostengünstigen Untersuchungsverfahren für die Früherkennung des Mammakarzinoms noch lang und neben der Verbesserung bewährter Verfahren ist die Erforschung und klinische Evaluation komplementärer Verfahren dringend nötig.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die optische Bildgebung als ein komplementärer Ansatz hinsichtlich der Detektierbarkeit und Differenzierung von Mammaläsionen durch den Einsatz einer zeitlich hochaufgelösten Anflutungsanalyse von ICG untersucht.

5.1 ICG-Anflutungsverhalten maligner und benigner Läsionen und pathophysiologische Deutung

Im Vergleich zu einem konventionellen Röntgenmammographiebild, welches die Morphologie der Brust darstellt, wurden die Läsionen in der vorliegenden Studie auf Basis einer *funktionellen* Bildgebung dargestellt. Die berechneten Bilder stellten keine Momentaufnahme dar, sondern waren Ergebnis einer Analyse der Kontrastmittelanflutungskurven jedes einzelnen Voxels des Brustvolumens hinsichtlich der Peakzeit (TTP) und Peakamplitude (PA).

Es zeigten sich bei den Mammakarzinomen im Vergleich zum gesunden Brustgewebe *frühere* Peaks mit *höheren* Amplituden nach ICG-Bolusgabe, beides hinweisend auf einen erhöhten Blutfluss [135]. Dies konnte beispielhaft an einer tumorspezifischen ICG-Anflutungskurve im Bereich eines metaplastischen Karzinoms aufgezeigt werden (Fall 6 /Abbildung 27). Am Beispiel 6 maligner Fälle wurde dieser Zusammenhang anhand der NIR-Schnittbilddarstellungen für die Tumore exemplarisch mithilfe

funktioneller Schnittbilder bildhaft visualisiert, welche zudem eine räumliche Korrelation mit Schnittbildern aus Mammographie und MRM gestatteten.

Abweichend vom Anflutungsverhalten maligner Läsionen zeigte das Gewebe in Brustdrüsen mit benignen Läsionen nur *niedrige frühe* Peaks. Ein *späterer hoher* Peak spricht in der Analyse für eine benigne Läsion. So konnte beobachtet werden, dass es bei einem Fibroadenom (Fall 3, Abbildung 21) lokal zu einem deutlichen Maximum bei der Peakamplitude gegenüber dem umgebenden Brustgewebe kam und die Läsion auf alleiniger Basis der quantitativen Anflutung (also der Peakamplitude) von einer malignen Läsion nicht zu unterscheiden gewesen wäre. Mithilfe der zeitlichen Information des *späten* Auftretens konnte die Läsion als benigne eingestuft werden. Die früh auftretenden Peaks mit niedriger Amplitude zeigten hier keine räumliche Korrelation mit der Läsion.

Die drei gesunden Kontrollbrüste ohne einen Läsionsnachweis zeigten analog zu den Brustdrüsen mit gutartigen Läsionen keine sogleich früh *und* stark anflutenden Areale. Aufgrund der geringen Fallzahl flossen sie allerdings nicht in die Auswertung mit ein. Allerdings ist zu erwähnen, dass auch gesundes Brustgewebe aufgrund seiner Vaskularisation lokale hohe Peaks aufzeigen kann, deren Abgrenzung zu benignen Läsionen auf Basis der in dieser Studie erfolgten Bildgebung schwierig sein dürfte.

Die entsprechende Verknüpfung beider Perfusionsparameter *Peakamplitude* (PA) und *Peakzeit* (TTP) in Form der in dieser Arbeit entwickelten ‚Peaktime-Amplitudenanalyse‘ (PTA-Analyse) bestätigte die genannten Beobachtungen und erlaubte eine statistisch signifikante Trennung beider Läsionsgruppen mittels eines ROC (Receiver Operating Characteristic)- optimierten Cut-off-Wertes.

Der beobachtete Unterschied bei malignen und benignen Läsionen legt verschiedene Durchblutungsmuster nahe. Eine mögliche Erklärung für den beobachteten schnellen Signalanstieg im Tumorbereich kann in der im Vergleich zu gesundem Gewebe erhöhten Gefäßdichte in malignen Läsionen gefunden werden [136-138]. Aufgrund eines erhöhten Sauerstoffbedarfs der schnell wachsenden Tumorzellen konnte in Studien zur nativen diffusen optischen Tomographie (DOT) eine lokale Hypoxie in Tumorealen beobachtet werden [114], das Diffusionslimit für Sauerstoff liegt im Gewebe bei etwa 100 - 200 μm [139]. Als Reaktion kommt es ähnlich der embryonalen Angiogenese zum

Einsproßen („Sprouting“) von Gefäßen in das Tumorgewebe mit Ausbildung einer erhöhten Kapillardichte. Diese Prozesse werden maßgeblich durch ein Zusammenwirken von pro- und antiangiogenetischen Signalen aus Tumorzellen, Endothel, extrazellulärer Matrix und Stroma beeinflusst. Hierzu gehören u.a. Mitglieder der VEGF (vascular endothelial growth factor)-Familie, Regulatoren der extrazellulären Matrix wie TGF- β (transforming growth factor beta) und Metalloproteinasen [139].

Im Gegensatz zum normalen Kapillargewebe zeigen diese tumorinduzierten Neovaskularisationen eine geänderte Morphologie mit zahlreichen Lecks, Gefäßblindgängen, Gefäßerweiterungen (3 – 5facher Gefäßdurchmesser) und arteriovenösen Shuntverbindungen [140,141]. Letztere sind dopplersonographisch gut nachweisbar und führen neben einem beobachteten erniedrigten Flusswiderstand im Tumorgefäßbett zu erhöhten Blutflussraten in Tumoren [142,143]. Die in der vorliegenden Studie gefundenen *früh* auftretenden *hohen* Amplituden bei der ICG-Anflutung im Tumorgewebe sind möglicherweise als ein Korrelat dieses schnellen Blutflusses zu werten. Dementsprechend sind in der klinisch angewandten Dopplersonographie der Brustdrüse sowohl eine hohe Blutflussrate als auch ein hohes Blutflussvolumen etablierte malignitätsspezifische Kriterien bei der Läsionsbeurteilung. Im Falle benigner Läsionen sind beide Parameter hingegen vergleichsweise niedriger [144].

Trotz der erhöhten Perfusion ist die Mikrozirkulation im Gewebe aufgrund der strukturellen und funktionellen Abnormitäten im Gefäßnetzwerk erheblich gestört. Ein effektiver Stofftransport und Austausch (Sauerstoff, Medikamente) im Tumorgewebe ist vermindert. Dies führt zu einer, weiter oben bereits angeführten, Gewebshypoxie [114], welche auf Tumorebene über eine HIF(hypoxia-inducible factor)-vermittelte Signalkaskade zahlreichen Anpassungen wie das Ausbilden weiterer lokaler angiogener Hotspots aber auch das Übergehen in einen aggressiveren Tumor-Phenotyp mit konsekutiver Resistenz gegen Radio- und Chemotherapie auslösen kann. Auch die oft beobachtete zentrale Tumornekrose kann Folge o.g. Prozesse sein. Eine pharmakologische Intervention in genannte Signalkaskaden wird derzeit intensiv erforscht. Hierbei kommen beispielsweise Topomeraseinhibitoren zum Einsatz, welche auf DNA-Ebene durch Hemmung der Transkription und Replikation wirken [140].

Auch benigne Brustläsionen gehen oft mit einer vermehrten Durchblutung einher. In verschiedenen Studien mittels Power-Doppler Sonographie konnte in bis zu 85 % der Fälle innerhalb der benignen Läsionen eine Vaskularisierung dargestellt werden, was

eine Läsions-Unterscheidung auf Basis des bloßen Vorliegens einer erhöhten Gefäßdichte unmöglich macht [145]. Das Vorliegen erhöhter Amplituden bei der ICG-Anflutung in benignen Läsionen ist mit einer hier ebenfalls erhöhten Gefäßdichte gut erklärbar. Eine im Vergleich zu malignen Läsionen intakte Struktur des Kapillarnetzes könnte das spätere Auftreten der Peaks erklären. In Kontrastmittelgestützten Ultraschalluntersuchungen zeigte sich im Läsionsvergleich ein ähnliches Verhalten, auf welches später noch näher eingegangen werden soll [138].

Auch wenn in der vorliegenden Studie nur ein falsch-positiver Fall (FA, 10 mm) und zwei falsch-negative Fälle (ILDC, 16 mm; IDC, 15 mm) gefunden wurden, deuten die Ergebnisse dennoch auf eine mögliche Überlappung der Perfusionscharakteristika benigner und maligner Läsionen hin. Aus anderen Bildgebungsverfahren wie der MRT ist bekannt, dass bezüglich der Kontrastmittelaufnahme beträchtliche Überschneidungen zwischen Fibroadenomen und invasiven Brustkrebsarten auftreten, demzufolge eine Differenzierung der Läsionen auf alleiniger Basis ihrer kinetischen Merkmale bei der Kontrastmittelaufnahme schwierig, wenn nicht sogar unmöglich sein kann [146]. Zhu et al. zeigten auf der Grundlage optischer Messungen, dass einige benigne Läsionen hohe Hämoglobinkonzentrationen aufweisen [111], was als ein Hinweis für eine hohe Dichte an Kapillargefäßen gewertet werden kann. Dem ist gegenüberzustellen, dass maligne Tumoren oft Inhomogenitäten aufweisen, wobei sowohl Areale mit hoher Perfusion als auch nekrotische Areale mit geringer Perfusion anzutreffen sind [111]. Aus Forschungen zur Tumorbilogie ist bekannt, dass es in Malignomen zu unterschiedlich hohen Graden an Neovaskularisationen kommt [62]. Zudem sollte der Einfluss von Alter und Hormonstatus der Patientin auf die Durchblutung der Brust nicht vernachlässigt werden [147,148]. Somit ist von entscheidenden Limitierungen bei der Annahme eines stereotypen Kurvenverlaufs für Malignome in der Tumorperfusionsanalyse auszugehen.

5.2 Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien zur optischen Brustbildgebung

Die vorliegenden Ergebnisse stehen weitgehend im Einklang mit anderen ICG-gestützten Studien zur optischen Brustbildgebung: So zeigte sich in einer früheren Studie zur optischen Bildgebung von Ntziachristos et al. ebenfalls ein verstärktes Enhancement für ein untersuchtes malignes IDC, während ein benignes Fibroadenom hierfür

lediglich mittlere Werte aufwies [92]. Ähnlich zu unserer Studie veranschaulicht dies die prinzipielle Machbarkeit einer Differenzierung auf Basis der ICG-Perfusion, obgleich auch hier die Tendenz eines fließenden Übergangs beider Entitäten erkennbar ist.

Diese Studie mit 3 Patientinnen beinhaltete auch eine Kontrollbrust, welche unter Verwendung derselben ICG-Absorptionsskala anstelle eines lokalen Enhancements viele kleine, verstreut auftauchende Enhancements aufwies. Auch hier deutete sich ein Overlap zwischen gesundem, normal vaskularisiertem Gewebe und den benignen Läsionen an. Ähnlich hierzu konnten in unserer Studie die 3 Kontrollbrüste mithilfe des Cut-off-Wertes (basierend auf den benignen und malignen Fällen) allesamt als ‚benigne‘ eingeordnet werden. Obwohl diese Beobachtung bei der geringen Fallzahl noch keine statistische Aussagekraft aufwies, deutete sie ebenfalls auf Parallelen zwischen der Perfusion gesunden Gewebes und benignen Läsionen hin.

Bei Ntziachristos et al. erfolgte eine Implementierung des optischen Imagers (Time-domain-Technik) in ein Magnetresonanz-Tomographiegerät unter Co-Registrierung. Die Messung der ICG-Absorption erfolgte 2,5 min nach Bolusgabe und dauerte 2 min an, die zeitliche Auflösung des Imagers lag bei etwa 20 s. Die Messungen ließen sowohl beim IDC als auch beim FA eine exakte örtliche Korrelation der beobachteten ICG-Enhancements mit den Läsionen erkennen. Auch die Ergebnisse der von uns durchgeführten Studie zeigten eine enge räumliche Korrelation der auffälligen Perfusionsmuster mit den malignen und benignen Läsionen.

In einer 2003 publizierten Studie untersuchten Intes et al. mit einem optischen Imager (zeitliche Auflösung: ca. 9 s, Continuous-wave-Technik) die ICG-Pharmakokinetik von Brustläsionen mithilfe eines 2-Kompartimentmodells anhand von Absorptionmessungen [115]. Im Falle eines untersuchten Fibroadenoms beobachteten sie keinerlei Veränderungen der Ein- oder Ausflussraten von ICG ins extravasale Kompartiment im Vergleich zum gesunden Gewebe. Überraschenderweise kam es im Falle eines Adenokarzinoms jedoch zu einer erniedrigten Einflussrate und im Falle eines weiteren Adenokarzinoms (IDC) zu einer erniedrigten Einfluss- und Ausflussrate. Dies widerspricht im Grundsatz der Annahme einer erhöhten Vaskularisierung im Tumorbereich und ist nicht mit den Ergebnissen unserer Studie vereinbar. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass abnormale Gefäßnetzwerke mit blinden Gefäßendigungen zu einer Erhöhung des Flusswiderstandes führen könnten. Möglicherweise könnten diese Beobachtungen aber auch auf Schwächen beim benutzten Modell zur Auswertung der Pharmakokinetik zurückzuführen sein.

So wurde 5 Jahre später auf Basis offenbar desselben Datensatzes eine weitere Studie von Alacam et al. publiziert, in welcher ein verbessertes pharmakokinetisches Modell zur Anwendung kam [61]. Vereinbar mit unseren Ergebnissen und dem Ergebnis von Ntziachristos et al. zeigte sich im Falle des Fibroadenoms nun eine verzögerte ICG-Anreicherung im Vergleich zu zwei weiteren untersuchten malignen Läsionen. Die beiden malignen Läsionen, das Adenokarzinom und das zweite Adenokarzinom (IDC), präsentierten in ihrer ICG-Anflutung einen wesentlich steileren Kurvenverlauf mit früherem Peak und höherer Amplitude. Im Widerspruch zu den Ergebnissen von Intes et al. ließ sich in den beiden malignen Tumoren neben der erhöhten ICG-Konzentration im Plasma auch eine erhöhte Kontrastmittel-Ein- und Ausflussrate ins extrazelluläre Kompartiment bestimmen. Allerdings zeigte auch das Fibroadenom eine moderate Steigerung beider Werte, was normalerweise nicht zu erwarten wäre, wenn man von einem intakten Gefäßendothel ausgeht.

In einer klinischen Studie von Hagen et al. konnte der Effekt der Extravasation zur Detektion und Charakterisierung von Läsionen an 3 Patientinnen erfolgreich genutzt werden. Anhand einer Fluoreszenzmessung des extravasierten ICG in der Spätphase der Messung (ca. 1 h nach ICG-Applikation, Time-domain-Technik, Zeit für 1 Volumenscan: 6 – 10 min) konnten durch Verrechnung mit Fluoreszenzaufnahmen aus einer zuvor gemessenen vaskulären Phase (unter kontinuierlicher ICG-Applikation) Subtraktionsbilder erstellt werden [91]. In einer Studie von Pöllinger et al. wurde dieses Verfahren erstmals an einer höheren Fallzahl (20 Patientinnen) klinisch evaluiert [113]. Die getrennte Befundung der optischen Mammogramme durch 2 Radiologen mit langjähriger Erfahrung in der Mammographie lieferte eine Sensitivität und Spezifität von 92 % bzw. 75 % im Vergleich zu einer Sensitivität von 100 % und Spezifität von 25 % für die Röntgenmammographie.

Inwieweit die ICG-Extravasation in den ersten Sekunden der Kontrastmittelanflutung bereits eine Rolle spielt, lässt sich auf Basis der Daten aus unserer Studie nicht ohne Weiteres feststellen. Hierzu wären pharmakologische Modelle zur Unterteilung des Gewebes in ein intra- und extravasales Kompartiment nötig. Jedoch kommen Pöllinger et al. zu dem Schluss, dass der dominierende Gewebskontrast während der frühen KM-Anreicherung hauptsächlich im intravaskulären Kompartiment zu finden ist, da es hier trotz der erhöhten kapillären Permeabilität in der Tumorregion noch zu keiner nennenswerten Extravasation von ICG kommt. Ursächlich könnte dies damit zu erklären sein, dass ICG im Blut sofort an Makromoleküle wie Albumin, α -1-Lipoproteine und

β -1-Lipoproteine bindet. Als makromolekulares Kontrastmittel ist ICG damit ein sogenanntes ‚blood-pool-agent‘ und unterliegt einer geringeren Extravasation als niedermolekulare Kontrastmittel wie z.B. die meisten Gd-haltigen KM in der MRM - Bildgebung.

In einer weiteren ICG-Fluoreszenz-Studie berichteten Corlu et al. auf Basis ihrer DOT-Messergebnisse an drei IDCs über einen erhöhten Läsionskontrast nach 10-minütiger Fluoreszenzmessung. Die Autoren bezifferten die Kontrastverbesserung gegenüber der nativen Hb-Messung auf den Faktor 3 - 4. Der eingesetzte Imager arbeitete sowohl im Continuous-wave als auch im Frequency-domain-Verfahren und benötigte etwa 11,5 min zur Akquisition eines Fluoreszenzdatensatzes für das gesamte Brustvolumen. Aufgrund des Studiendesigns lassen sich jedoch keine Schlüsse bezüglich der Machbarkeit einer Differenzierung zwischen malignen und benignen Läsionen ziehen.

Der Großteil der in den letzten Jahren publizierten optischen Mammographiestudien basierte auf der Darstellung intrinsischer Kontraste und bediente sich keines Kontrastmittels. In einem systematischen Review, basierend auf 2000 optischen Mammographien ohne Kontrastmittelgabe, fanden Leff et al., dass etwa 85 % der Läsionen anhand ihres Hämoglobingehaltes detektiert werden konnten [88]. Dabei waren hierbei sowohl die kleinen malignen Läsionen (< 10 mm), als auch die benignen Läsionen wie z.B. Fibroadenome schwer zu identifizieren. Als mögliche Erklärung ist hierbei auf die limitierte räumliche Auflösung der optischen Mammographie zu verweisen.

Des Weiteren fand man heraus, dass eine Differenzierung zwischen malignen und benignen Läsionen auf alleiniger Grundlage intrinsischer Messwerte nicht in ausreichendem Maße möglich ist.

Zu ähnlichem Schluss kommt auch eine Arbeit von Schreiter et al. aus unserer Forschungsgruppe [123]. In jener Arbeit wurden die in der hier vorgestellten Studie miterhobenen intrinsischen Messdaten ausgewertet. Dabei hatten die Patientinnen vor erfolgter ICG-Bolusgabe mehrere Valsalva-Manöver durchgeführt, welche hinsichtlich gängiger Perfusionsparameter ausgewertet wurden. Dabei zeigte die Peakamplitude, bedingt durch den deutlichen Anstieg von oxygeniertem und deoxygeniertem Hämoglobin in den Läsionen, zwar gute Detektionsraten von 70 - 90 %. Allerdings traten mit einer ebenfalls 90%igen Rate auch falsch-positive Herde in den untersuchten Brustdrüsen auf. Eine Differenzierung der Läsionen wurde in dieser Studie nicht untersucht.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich die in dieser Arbeit vorgestellte Bildgebungsmethode dem Vergleich mit anderen ICG-gestützten Verfahren stellen kann:

Abgesehen von den Studien von Hagen et al. und Pöllinger et al. basieren die Ergebnisse der vier weiteren bekannten ICG-Mammographie-Studien auf einer Absorptions- bzw. Fluoreszenzmessung, welche *während* oder *kurz nach* Bolusgabe erfolgte. Die Ergebnisse repräsentieren hauptsächlich die intravasale Fraktion des applizierten ICG, das proteingebunden im Plasma vorliegt. Trotz einiger vielversprechender Ergebnisse bezüglich eines erhöhten Tumorkontrastes [92,114] konnte bislang in keiner der vier angeführten Studien die Machbarkeit einer Differenzierung zwischen benignen und malignen Läsionen an ausreichender Patientenzahl demonstriert werden. Da die Untersuchungen retrospektiv auf Basis einer a-priori Ortsinformation der Läsion erfolgten, war eine Angabe von Sensitivität und Spezifität nicht möglich.

Verglichen mit der Studie von Pöllinger et al., welche basierend auf der Extravasation von ICG erstmalig eine Differenzierung realisierte, ist es in dieser Studie gelungen, ähnliche Ergebnisse für die vaskuläre Phase nach ICG-Applikation zu produzieren. Dies geschah auf der Basis einer Perfusionsanalyse der frühen ICG-Anflutungsphase. Diese Phase lag mit leichten Schwankungen, bedingt durch die verschiedenen kardiovaskulären Parameter der Patientinnen, bei etwa 1 min nach intravenöser ICG-Applikation. Die Vorteile einer frühen Perfusionsanalyse im Gegensatz zu langsameren Messverfahren oder Messungen in der Spätphase könnte man in einer Zeitersparnis bei der Patientenuntersuchung sehen.

Bezüglich eines Vergleichs von Sensitivität und Spezifität gibt es in diesem noch jungen Forschungsgebiet nur wenige andere Studien mit ähnlichen Fallzahlen. Die Studie von Pöllinger et al. erreichte im Vergleich zur vorliegenden Studie etwas höhere Werte für die Sensitivität (92,0 % vs. 85,7 %) bei einer gleichzeitig etwas geringeren Spezifität (75,0 % vs. 87,5 %). Allerdings ist zu bedenken, dass die Werte im Falle unserer Studie auf einem, mittels ROC-Analyse optimierten, Cut-off-Wert basieren. Somit können beide Parameter jeweils durch Justierung des Cut-off-Wertes zulasten des anderen Wertes verändert werden. Des Weiteren erschweren die verschiedenen Studiendesigns (Cut-off-basierte Auswertung vs. Bildinterpretation durch verblindete, radiologisch geschulte Reader) einen direkten Vergleich der diagnostischen Aussagekraft, sodass eine weitere klinische Evaluation der hier eingesetzten Technik abzuwarten ist.

In einer weiteren placebokontrollierten Multicenterstudie von Pöllinger et al. zur DOT erfolgte die Evaluierung von Omocyanin, einem weiteren Vertreter der Cyanofarbstoffe [118]. Die Messungen erfolgten mittels eines CW-Imagers (Dauer eines Volumenscans: durchschnittlich 12 min) an einem etwas größeren Kollektiv von 52 Patientinnen. Bedingt durch eine schrittweise Dosisescalation des neu zugelassenen Pharmakons schwankte die Sensitivität bei der Auswertung der Fluoreszenz-Mammographien durch die Reader zwischen 20 % und 100 % für die verschiedenen Dosisgruppen (Mittel über alle Dosisgruppen 55,6 %). Bei der Spezifität konnte in der Gesamtauswertung ein Wert von 82,4 % ermittelt werden. Der beste Kontrast wurde in der Spätphase gefunden (3 h nach KM-Applikation). Da eine abschließende Dosisfindung des eingesetzten Kontrastmittels Omocyanin noch aussteht, ist jedoch zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch kein adäquater Vergleich zu ICG möglich.

Die Größe der kleinsten detektierten Läsion lag in unserer Studie bei 8 mm (IDC, 73-jährige Patientin), der mittlere Durchmesser der malignen Läsionen bei 30 mm. Dies ist vergleichbar mit den Ergebnissen der ICG-Fluoreszenz-Studie von Pöllinger et al. [113]. Hier maß die kleinste maligne Läsion 11 mm (IDC) und der mittlere Durchmesser der malignen Läsionen betrug 25 mm. Auch in anderen Studien konnte die prinzipielle Detektierbarkeit kleiner maligner Herde demonstriert werden (Ntziachristos: 10 mm [92]; Corlu: 15 mm [114]). Bedenkt man allerdings die limitierte örtliche Auflösung der DOT, rangieren diese Ergebnisse bezüglich der Tumorklassengrößen im Grenzbereich des Möglichen. Es liegt der Schluss nahe, dass peritumoröse Gewebsveränderungen wie z.B. eine erhöhte Gefäßdichte, in der funktionellen Bildgebung miterfasst werden.

5.3 Vergleich der Ergebnisse mit etablierten Verfahren der Brustbildgebung

Zur Steigerung der diagnostischen Aussagekraft kommt in der Magnetresonanztomographie (MRM) in der Regel ein niedermolekulares Kontrastmittel (Gadolinium) zum Einsatz, welches neben der Verbesserung der Läsionsortung zusätzlich die Analyse der Kontrastmitteldynamik erlaubt (DCE-MRM). Nach KM-Gabe neigen maligne Läsionen vermehrt dazu, eine schnellere Kontrastmittelanflutung [149] und einen früheren Rückgang der Signalintensität („wash-out“) [120] zu zeigen, was ebenfalls auf eine erhöhte Perfusion dieser Areale hindeutet. Einschränkend sei hierbei jedoch zu

erwähnen, dass die eingesetzten niedermolekularen Gadoliniumverbindungen aufgrund ihrer Molekülgröße im Gegensatz zu ICG charakteristischerweise einer starken Extravasation unterliegen und somit von einer abweichenden Kinetik auszugehen ist. Experimentelle Ansätze in diesem Bereich verwenden daher auch makromolekulare Kontrastmittel mit geringer oder fehlender Extravasation in normalem Endothel mit dem Ziel, die erhöhte Gefäßpermeabilität im Tumor spezifischer zu detektieren [63].

Mit einer in der Literatur angegebenen Sensitivität von 89 – 100 % übertrifft die MRM die erlangte Sensitivität der hier vorgestellten optischen Bildgebung, bezüglich der Spezifität hingegen nicht (72 - 75 %) [59].

Auch für die Röntgenmammographie wurde der Einsatz von Kontrastmitteln untersucht. Präliminäre Studien konnten zeigen, dass die Anwendung eines Kontrastmittels durch eine zusätzliche Erfassung der Tumorkinetik eine deutliche Steigerung der Sensitivität gegenüber der nativen Mammographie ermöglicht (94,7 % vs. 77,9 %) [122], welche damit auf dem Niveau der MRM liegt. Die digitale Mammographie ohne den Einsatz von KM zeigte in einer Studie von Pisano et al. eine Sensitivität von 70 % und eine Spezifität von 92 % [26].

Im Falle der kontrastmittelgestützten digitalen Tomosynthese (CE-DBT), einem auf Basis der Röntgenmammographie weiterentwickelten Verfahren, welches ein 3-D Bild aus Bildsequenzen mit verschiedenen Aufnahmewinkeln erzeugt, wurde demonstriert, dass unter Einsatz eines jodbasierten Kontrastmittels die Signal-Intensitätskurven für maligne Läsionen einen ähnlichen Verlauf zu denen der oben genannten gadoliniumbasierten MRM-Technik aufweisen und eine Verbesserung der Vorhersagekraft bezüglich der Malignität gegenüber der nativen Tomosynthese erlauben [150].

Die in dieser Arbeit vorgestellten präliminären Ergebnisse der ICG-basierten optischen Bildgebung sind der konventionellen Röntgenmammographie in der Sensitivität überlegen, werden durch den Einsatz von Kontrastmitteln und die Anwendung neuer sequentieller Aufnahmetechniken jedoch übertroffen.

Im Bereich der kontrastmittelgestützten Ultraschallbildgebung (CEUS) der Brust zeigen mehrere Studien ebenfalls eine kürzere Time to Peak (TTP) [121,151,152] und einen schnelleren Anstieg der Zeitintensitätskurven [135,153] für maligne Läsionen. In diesem Fall lassen die hier eingesetzten Kontrastmittel auf Basis von Mikrobläschen (Levovist) keine Extravasation erwarten und gestatten einen Vergleich mit Ergebnissen aus

ICG-Messungen. Eine Metaanalyse von Hu et al. aus 2014 zeigte für die Untersuchung von 957 Brustläsionen mittels CEUS eine ähnliche Sensitivität (86 %) bei leicht verminderter Spezifität (79 %) im Vergleich mit den Ergebnissen der vorliegenden optischen Studie [154]. Die Sensitivität und Spezifität der etablierten nativen Ultraschalldiagnostik ohne den Einsatz eines Kontrastmittels unterliegt der CEUS im Vergleich deutlich [57]. Erwähnenswert ist eine starke Untersucherabhängigkeit bei allen Ultraschalluntersuchungen.

5.4 Einfluss der Brustdrüsendichte auf die Sensitivität und Spezifität der optischen Brustbildgebung

Aus der konventionellen Mammographie ist bekannt, dass eine erhöhte Parenchymdichte zu Einschränkungen der Bildqualität respektive einem Abfall der Sensitivität auf Werte von 30 - 50 % führen kann [26]. Bei der getrennten Betrachtung der Brüste mit hoher Drüsendichte (10 Brustdrüsen entsprechend Dichte BI-RADS 3 oder 4) ergab sich in unserer Studie ein leichter Abfall der Sensitivität auf 75,0 % bei ebenfalls leicht verminderter Spezifität von 83,3 %.

Die NIR-Bildgebung arbeitet in einem diagnostischen ‚Fenster‘ von 700 - 1000 nm, in welchem das Körpergewebe eine relativ geringe Absorption aufweist. Oxy- und Desoxyhämoglobin stellen hier die wesentlichen optischen Absorber dar [155]. Da eine erhöhte Dichte des Drüsenkörpers auch mit einer entsprechend erhöhten Vaskularisation und folglich einem gesteigerten Hämoglobingehalt des Gewebes einhergeht, ist eine Verschlechterung der Eindringtiefe erklärbar.

Die getrennte Auswertung der Gruppe mit ‚nicht-dichtem‘ Drüsengewebe gemäß BI-RADS 1 und 2 zeigte dementsprechend eine bessere Sensitivität von 90 %. Dies könnte mit einer geringeren Kapillardichte des im Brustanteil erhöhten Fettgewebes zu begründen sein.

Ein Vergleich des Einflusses der Brustparenchymdichte auf die Sensitivität und Spezifität unter ICG-Verwendung mit anderen Studien ist aufgrund fehlender Referenzwerte bislang nicht möglich. Eine native optische Bildgebungsstudie von Pöllinger et al. konnte jedoch entgegen der hier gemachten Beobachtung zeigen, dass die dort eingesetzte tomographische NIR-Bildgebung *keinem* negativen Einfluss einer erhöhten Brustdichte unterlag und in Kombination mit der Röntgenmammographie zu einer nicht-signifikanten

Verbesserung bei der Läsionsdetektion führte [156]. Da es sich um ein natives Verfahren handelte, erfasste der Imager vornehmlich das Hämoglobin, welches als ‚natürliches Kontrastmittel‘ fungierte. Eine zusätzliche Gabe von ICG als Absorptionsverstärker könnte die Gesamtaborption des Kapillarnetzes in dem Maße erhöhen, dass dichtere Drüsen mit mehr Kapillaren dementsprechend schwerer zu durchleuchten sind. Dementsprechend wäre auch der Kontrast zwischen einem *gut* vaskularisierten Tumor zu *gut* vaskularisiertem Gewebe parenchymdichter Brüste schlechter als zu *weniger* vaskularisiertem Gewebe von nicht-dichten Brüsten (z.B. Involutionsbrust mit hohem Fettgewebsanteil).

In einer oben bereits zitierten Arbeit verglichen Pöllinger et al. im Rahmen einer ICG-Studie die frühe mit der späten ICG-Fluoreszenz im Gewebe [113]. Der Tumor-Gewebs-Kontrast betrug lediglich 25 %, als die Patientinnen im Falle der frühen Aufnahmen das ICG kontinuierlich über einen Perfusor im Sinne einer Plateauphase injiziert bekamen. Im Gegensatz hierzu zeigten die Aufnahmen nach Elimination des intravasalen ICG (nach circa 25 min) einen gesteigerten Kontrast von nun 60 % durch Nachweis des extravasierten ICGs im Tumor. Obwohl es sich hier entgegen unserer vorliegenden Studie um extravasiertes ICG handelt und eine *Fluoreszenzmessung* durchgeführt wurden, verdeutlicht diese Beobachtung, dass ein mit Kontrastmittel perfundiertes gesundes Gewebe ein entscheidender limitierender Faktor für den Tumor-Gewebs-Kontrast ist, insbesondere dann, wenn der Tumornachweis in der *frühen* vaskulären Phase gelingen soll.

Ob die hier vorgestellte DOT bei dichten Brustdrüsen wirklich einen diagnostischen Vorteil gegenüber der etablierten Mammographie erbringen kann, ist nur durch Folgestudien mit wesentlich höheren Fallzahlen zu beantworten.

5.5 Limitierungen

Die in dieser Arbeit vorgestellte Studie weist Limitierungen auf, welche im Wesentlichen die folgende Punkte umfassen:

a) Die Anzahl der malignen und benignen Läsionen war nur gering. Die angegebene Sensitivität und Spezifität basieren auf einem mittels ROC-Analyse ermittelten Cut-off-Wert und sollten in nachfolgenden Studien mit wesentlich höheren Fallzahlen validiert

werden. Darüber hinaus sollte eine verblindete Auswertung der optischen Mammogramme durch mehrere Radiologen erfolgen.

b) In der Studie bestand ein beachtlicher Unterschied zwischen dem medianen Alter der benignen und malignen Patientengruppe. Die beobachteten Unterschiede in der Brustperfusion könnten somit auch auf altersbedingte körperliche Unterschiede wie etwa die Dichte des Brustdrüsengewebes (Involutionenbrust) oder der Kreislaufparameter (siehe auch Punkt c) zurückzuführen sein.

c) Die durchgeführte Analyse hat keine interindividuellen Unterschiede bezüglich der Blutkreisläufe wie z.B. dem Herzzeitvolumen berücksichtigt. Für zukünftige Studien wäre zu diskutieren, ob die parallele Akquisition einer arteriellen Input Funktion (AIF), welche Informationen über die Kreislaufgegebenheiten liefert, implementierbar ist.

d) Des Weiteren fand der Menstruationszyklus der prämenopausalen Patientinnen keine Berücksichtigung. Studien belegen, dass es nach der Ovulation zu einem Anstieg des Blutflusses um 50 % und des parenchymalen Wassergehaltes um 25 % kommt [147,148]. Auch DOT Studien weisen auf zyklische Schwankungen der Brustbeschaffenheit mit einem Anstieg des totalen Hämoglobins in der lutealen Phase [157,158] hin. Dies ist konsistent mit der Beobachtung, dass es in der zweiten Hälfte des Zyklus zu einer vermehrten parenchymalen [159] und epithelialen [160] Zellproliferation kommt. Auch der Body Mass Index (BMI) der Patientinnen korreliert negativ mit dem totalen Hämoglobingehalt, respektive dem Blutvolumen der Brust [161] und wurde aufgrund der kleinen Fallzahlen nicht als möglicher Störfaktor bei der Auswertung in dieser Studie berücksichtigt. In Zukunft sollte zudem eine Mituntersuchung der kontralateralen, nicht malignomsuspekten Brustdrüse als Referenz erwogen werden.

e) Die Kontrollgruppe umfasste lediglich drei Brustdrüsen. Eine größere Anzahl an Kontrollfällen wäre sinnvoll, um einen tieferen Einblick in die physiologische Brustperfusion zu bekommen und eine statistische Auswertung zu ermöglichen.

f) Die räumliche Korrelation verschiedener bildgebender Verfahren kann aufgrund der verschiedenen Setups nur schätzungsweise erfolgen. Obwohl sowohl die MRT- als auch die NIR-Bilder in Bauchlage der Patientin aufgenommen werden, kommt es bei

der Platzierung der Brust in die Spule bzw. das optische Brustinterface zu verschiedenartigen Verformungen des Brustgewebes. Des Weiteren ist die räumliche Auflösung der optischen Tomographie aufgrund der lichtstreuenden Gewebeeigenschaften auf etwa 1 cm limitiert.

g) Zur besseren Evaluation der örtlichen Genauigkeit der detektierten Läsionen sollte eine weiterführende Analyse mit entsprechender Fallzahl für statistische Tests durchgeführt werden. Auch käme hier der Einsatz weiterentwickelter Imager mit höherer Anzahl an Messkanälen in Betracht.

h) Im hier ausgewerteten Patientenkollektiv gab es keinen Fall, bei dem maligne und benigne Läsionen gleichzeitig in der Brustdrüse vorlagen. Hierbei stellt sich die Frage inwieweit sich diese hinsichtlich ihrer Perfusion gegenseitig beeinflussen, und wie sich dies auf die Detektierbarkeit mittels des hier vorgestellten Verfahrens ausüben würde.

i) Der rekonstruktionsbedingte Abstand der Voxel im virtuellen 3D-Brustmodell liegt deutlich unter der realen Ortsauflösung und suggeriert eine falsche Präzision bei Perfusionsanalyse kleiner Brustareale, demzufolge sind die Tumorkurven bzw. der hier vorgestellte Algorithmus fehlerbehaftet.

j) Das virtuelle 3D-Brustmodell beim Rekonstruktionsalgorithmus der optischen Daten ist räumlich festgelegt und nicht an die individuellen anatomischen Verhältnisse der Brüste anpassbar. Dies führt zu Ungenauigkeiten bei der Rekonstruktion der optischen Daten.

k) Als letzter Punkt sei auf das starre Design des optischen Brustinterfaces hingewiesen, welche aufgrund mangelnder Anpassungsmöglichkeiten für über- oder unterdurchschnittliche Brustgrößen als Hauptfaktor für die hohe Drop-out-Rate anzusehen ist: In fünf Fällen war es nicht möglich, eine suffiziente Ankoppelung der Messoptoden an die Haut der Patienten vorzunehmen. Dies resultierte in schlechter Datenqualität. Ein Fall mit überdurchschnittlicher Brustgröße musste ausgeschlossen werden, weil die dorsale Brustregion durch das Brustinterface nicht erfasst werden konnte. Ein verändertes Design des Interfaces im Sinne einer dynamischen Cup-Größe könnte hier Abhilfe schaffen [162].

5.6 Zusammenfassende Betrachtung der Ergebnisse und Einschätzung des klinischen Stellenwertes

Die vorgestellte präliminäre Studie konnte erfolgreich demonstrieren, dass die frühe Perfusionsanalyse bei der ICG-gestützten dreidimensionalen optischen Mammographie eine Detektion maligner Läsionen möglich macht und eine Differenzierung gegenüber benignen Läsionen gestattet.

Durch die Anwendung einer ROC-Analyse konnten eine Sensitivität von 85,7 % und eine Spezifität von 87,5 % erreicht werden. Der Cut-off-Wert und die diagnostische Genauigkeit des Verfahrens müssen zukünftig jedoch in weiteren klinischen Studien evaluiert werden. Auch sollte eine differenzierte Befundung der funktionellen Schnittbilder durch verblindete Reader durchgeführt werden.

Da die optische Bildgebung eher einen funktionellen Einblick bei gleichzeitig limitierter Ortsauflösung bietet, ist sie insbesondere als Add-on-Verfahren prädestiniert. Des Weiteren könnte besonders die Gruppe junger Patientinnen unter 40 Jahren, für welche das strahlenbedingte Risiko am Mammographie-Screening gegenüber den Vorteilen überwiegt, von dieser komplementären nicht-invasiven Untersuchungsmethode profitieren.

Da die Brustparenchymdichte in dieser Altersgruppe physiologischerweise hoch ist, wäre eine diesbezügliche Validierung unserer Messergebnisse mit höheren Fallzahlen sinnvoll.

Die Besonderheit des hier vorgestellten Verfahrens ist darin zu sehen, dass es neben den funktionellen Schnittbildern parallel zu einer objektiven computerassistierten Detektion kommen kann. In der optischen Bildgebung ist dies nach meinem Wissen der erste dazu beschriebene Ansatz.

6 Literaturverzeichnis

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013. (Accessed February 9, 2014, at <http://globocan.iarc.fr/Pages/online.aspx>.)
2. Mattarella A. Breast cancer in men. *Radiologic technology* 2010;81:361M-378M
3. Reis LO, Dias FG, Castro MA, Ferreira U. Male breast cancer. *Aging Male* 2011;14:99-109
4. Althuis MD, Dozier JM, Anderson WF, Devesa SS, Brinton LA. Global trends in breast cancer incidence and mortality 1973-1997. *International journal of epidemiology* 2005;34:405-412
5. Veronesi U, Goldhirsch A, Boyle P, Orecchia R, Viale G. Breast cancer. *Discovery medicine* 2005;5:271-277
6. Coleman MP, Quaresma M, Berrino F, Lutz JM, De Angelis R, Capocaccia R, Baili P, Rachet B, Gatta G, Hakulinen T, Micheli A, Sant M, Weir HK, Elwood JM, Tsukuma H, Koifman S, GA ES, Francisci S, Santaquilani M, Verdecchia A, Storm HH, Young JL. Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study (CONCORD). *The lancet oncology* 2008;9:730-756
7. Kaatsch P, Spix C, Hentschel S, Katalinic A, Luttmann S, Setegmaier C. Krebs in Deutschland 2009/2010. No. 9. Berlin, Germany: Robert Koch Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland, 2013.
8. Bertz J, Dahm S, Haberland J, Kraywinkel K, Kurth BM, Wolf U. Verbreitung von Krebserkrankungen in Deutschland. Entwicklung der Prävalenzen zwischen 1990 und 2010 . Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. No. 1. Berlin, Germany: Robert Koch Institut, 2010
9. Müller M. Mammachirurgie. In: Müller M, ed. *Chirurgie für Studium und Praxis*. 9th ed. Breisach, Germany: Medizinische Verlags- und Informationsdienste, 2008/2009:143.
10. Bernstein L. The risk of breast, endometrial and ovarian cancer in users of hormonal preparations. *Basic & clinical pharmacology & toxicology* 2006;98:288-296
11. Balmana J, Diez O, Castiglione M. BRCA in breast cancer: ESMO clinical recommendations. *Ann Oncol* 2009;20 Suppl 4:19-20
12. Khoury-Collado F, Bombard AT. Hereditary breast and ovarian cancer: what the primary care physician should know. *Obstetrical & gynecological survey* 2004;59:537-542

13. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-410
14. Mitze M. Morphologische Grundlagen. In: Kreienberg R, Jonat W, Volm T, Möbus V, Alt D, eds. *Management des Mammakarzinoms*. 3rd ed. Heidelberg, Germany: Springer, 2006:169.
15. Merino MJ, Livolsi VA. Signet ring carcinoma of the female breast: a clinicopathologic analysis of 24 cases. *Cancer* 1981;48:1830-1837
16. Mitze M. Management der In-situ-Karzinome. In: Kreienberg R, Jonat W, Volm T, Möbus V, Alt D, eds. *Management des Mammakarzinoms*. 3rd ed. Heidelberg, Germany: Springer, 2006:215-216.
17. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63:181-187
18. Müller M. Mammachirurgie. In: Müller M, ed. *Chirurgie für Studium und Praxis*. 9th ed. Breisach, Germany: Medizinische Verlags- und Informationsdienste, 2008/2009:149.
19. Müller M. Mammachirurgie. In: Müller M, ed. *Chirurgie für Studium und Praxis*. 9th ed. Breisach, Germany: Medizinische Verlags- und Informationsdienste, 2008/2009:145.
20. Curigliano G, Goldhirsch A. The triple-negative subtype: new ideas for the poorest prognosis breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2011;2011:108-110
21. Klütsch D, Kotsianos D. Mamma. In: Reiser M, Kuhn FP, Debus J, eds. *Duale Reihe Radiologie*. 2nd ed. Stuttgart, Germany: Thieme, 2006:544.
22. Reichel M. Mammographie-Screening. In: Felix R, Lopez Hänninen E, eds. *Mammadiagnostik im Zeitalter interdisziplinärer Brustzentren*. 1st ed. Berlin, Germany: ABW Wissenschaftsverlag, 2005:3.
23. Michaelson J, Satija S, Moore R. Estimates of the Sizes at Which Breast Cancers Become Detectable on Mammographic and Clinical Grounds. *JOURNAL OF WOMEN'S IMAGING* 2003;5:3-10
24. Rieber A, Brambs HJ, Diederichs C, Kreienberg R. Bildgebende Verfahren: Früherkennung und Diagnostik. In: Kreienberg R, Jonat W, Volm T, Möbus V, Alt D, eds. *Management des Mammakarzinoms*. 3rd ed. Heidelberg, Germany: Springer, 2006:132-133.
25. Schreer I. Bildgebung beim Mammakarzinom. In: Jonat W, Maass N, eds. *Mammakarzinom - aktuelle Diagnostik und Therapie*. 2nd ed. Bremen, Germany: UNI-MED, 2005:48.

26. Pisano ED, Gatsonis C, Hendrick E, Yaffe M, Baum JK, Acharyya S, Conant EF, Fajardo LL, Bassett L, D'Orsi C, Jong R, Rebner M. Diagnostic performance of digital versus film mammography for breast-cancer screening. *N Engl J Med* 2005;353:1773-1783
27. Kuhl CK, Schrading S, Leutner CC, Morakkabati-Spitz N, Wardelmann E, Fimmers R, Kuhn W, Schild HH. Mammography, breast ultrasound, and magnetic resonance imaging for surveillance of women at high familial risk for breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:8469-8476
28. Diekmann F, Diekmann S. Verbesserte Brustkrebsdiagnostik durch digitale Mammographie. In: Felix R, Lopez Hänninen E, eds. *Mammadiagnostik im Zeitalter interdisziplinärer Brustzentren*. 1st ed. Berlin, Germany: ABW Wissenschaftsverlag, 2005:40-43.
29. Diekmann F, Diekmann S. Verbesserte Brustkrebsdiagnostik durch digitale Mammographie. In: Felix R, Lopez Hänninen E, eds. *Mammadiagnostik im Zeitalter interdisziplinärer Brustzentren*. 1st ed. Berlin, Germany: ABW Wissenschaftsverlag, 2005:43.
30. Diekmann F, Diekmann S. Verbesserte Brustkrebsdiagnostik durch digitale Mammographie. In: Felix R, Lopez Hänninen E, eds. *Mammadiagnostik im Zeitalter interdisziplinärer Brustzentren*. 1st ed. Berlin, Germany: ABW Wissenschaftsverlag, 2005:51-52.
31. Houssami N, Ciatto S. The evolving role of new imaging methods in breast screening. *Prev Med* 2011;53:123-126
32. Taylor P, Potts H. Computer aids and human second reading as interventions in screening mammography: two systematic reviews to compare effects on cancer detection and recall rate. *European Journal of Cancer* 2008;44:798-807
33. Kim SJ, Moon WK, Cho N, Cha JH, Kim SM, Im JG. Computer-aided detection in full-field digital mammography: sensitivity and reproducibility in serial examinations. *Radiology* 2008;246:71-80
34. Diekmann F, Diekmann S. Verbesserte Brustkrebsdiagnostik durch digitale Mammographie. In: Felix R, Lopez Hänninen E, eds. *Mammadiagnostik im Zeitalter interdisziplinärer Brustzentren*. 1st ed. Berlin, Germany: ABW Wissenschaftsverlag, 2005:54-59.
35. Aubke W, Kolterjahn T. *Qualitätsbericht 2005-2007: Ergebnisse des Mammographie-Screening-Programms in Deutschland*. Berlin, Germany: Kooperationsgemeinschaft Mammographie, 2010.
36. *Aufbau eines flächendeckenden Mammographie-Screenings in Deutschland (BMU-Hintergrundpapier)*. Berlin, Germany: Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit, 2004.

37. Tabar L, Vitak B, Chen TH, Yen AM, Cohen A, Tot T, Chiu SY, Chen SL, Fann JC, Rosell J, Fohlin H, Smith RA, Duffy SW. Swedish two-county trial: impact of mammographic screening on breast cancer mortality during 3 decades. *Radiology* 2011;260:658-663
38. Perry N, Broeders M, de Wolf C, Tornberg S, Holland R, von Karsa L. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth edition--summary document. *Ann Oncol* 2008;19:614-622
39. Pereira MB, Oliveira J, Ribeiro DP, Castro B, Yaphe J, Sousa JC. [Recommended age groups and frequency of mammography screening: a systematic review]. *Cien Saude Colet* 2014;19:1135-1140
40. Pace LE, Keating NL. A systematic assessment of benefits and risks to guide breast cancer screening decisions. *JAMA* 2014;311:1327-1335
41. Hellquist BN, Duffy SW, Abdsaleh S, Bjorneld L, Bordas P, Tabar L, Vitak B, Zackrisson S, Nystrom L, Jonsson H. Effectiveness of population-based service screening with mammography for women ages 40 to 49 years: evaluation of the Swedish Mammography Screening in Young Women (SCRY) cohort. *Cancer* 2011;117:714-722
42. Armstrong K, Moye E, Williams S, Berlin JA, Reynolds EE. Screening mammography in women 40 to 49 years of age: a systematic review for the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2007;146:516-526
43. Ontario HQ. Screening mammography for women aged 40 to 49 years at average risk for breast cancer: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser* 2007;7:1-32
44. Elmore JG, Barton MB, Moceri VM, Polk S, Arena PJ, Fletcher SW. Ten-year risk of false positive screening mammograms and clinical breast examinations. *N Engl J Med* 1998;338:1089-1096
45. Yamada T, Mori N, Watanabe M, Kimijima I, Okumoto T, Seiji K, Takahashi S. Radiologic-pathologic correlation of ductal carcinoma in situ. *Radiographics* 2010;30:1183-1198
46. Lagios MD. Ductal carcinoma in situ: controversies in diagnosis, biology, and treatment. *The Breast Journal* 1995;1:68-78
47. Page DL, Dupont WD, Rogers LW, Landenberger M. Intraductal carcinoma of the breast: follow-up after biopsy only. *Cancer* 1982;49:751-758
48. Screening IUPoBC. The benefits and harms of breast cancer screening: an independent review. *Lancet* 2014;380:1778-1786
49. Uncertainties in the management of screen-detected ductal carcinoma in situ. Sheffield, UK: NHS Cancer Screening Programmes, 2008. (NHSBSP Publication No. 66.)

50. Gotzsche PC, Jorgensen KJ. Screening for breast cancer with mammography. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;6:CD001877
51. Biller-Andorno N, Juni P. Abolishing mammography screening programs? A view from the Swiss Medical Board. *N Engl J Med* 2014;370:1965-1967
52. Heywang-Kobrunner SH, Hacker A, Sedlacek S. Advantages and Disadvantages of Mammography Screening. *Breast Care (Basel)* 2011;6:199-207
53. de Gelder R, Draisma G, Heijnsdijk EA, de Koning HJ. Population-based mammography screening below age 50: balancing radiation-induced vs prevented breast cancer deaths. *Br J Cancer* 2011;104:1214-1220
54. Jung H. Mammography and radiation risk. *Rofo* 1998;169:336-343
55. Nekolla EA, Griebel J, Brix G. Radiation risk associated with mammography screening examinations for women younger than 50 years of age. *Z Med Phys* 2008;18:170-179
56. Rieber A, Brambs HJ, Diederichs C, Kreienberg R. Bildgebende Verfahren: Früherkennung und Diagnostik. In: Kreienberg R, Jonat W, Volm T, Möbus V, Alt D, eds. *Management des Mammakarzinoms*. 3rd ed. Heidelberg, Germany: Springer, 2006:137.
57. Rieber A, Brambs HJ, Diederichs C, Kreienberg R. Bildgebende Verfahren: Früherkennung und Diagnostik. In: Kreienberg R, Jonat W, Volm T, Möbus V, Alt D, eds. *Management des Mammakarzinoms*. 3rd ed. Heidelberg, Germany: Springer, 2006:140-141.
58. Kolb TM, Lichy J, Newhouse JH. Comparison of the performance of screening mammography, physical examination, and breast US and evaluation of factors that influence them: an analysis of 27,825 patient evaluations. *Radiology* 2002;225:165-175
59. Kuhl C. The current status of breast MR imaging. Part I. Choice of technique, image interpretation, diagnostic accuracy, and transfer to clinical practice. *Radiology* 2007;244:356-378
60. Kuhl CK, Schrading S, Bieling HB, Wardelmann E, Leutner CC, Koenig R, Kuhn W, Schild HH. MRI for diagnosis of pure ductal carcinoma in situ: a prospective observational study. *Lancet* 2007;370:485-492
61. Alacam B, Yazici B, Intes X, Nioka S, Chance B. Pharmacokinetic-rate images of indocyanine green for breast tumors using near-infrared optical methods. *Physics in medicine and biology* 2008;53:837-859
62. Rieber A, Brambs HJ, Diederichs C, Kreienberg R. Bildgebende Verfahren: Früherkennung und Diagnostik. In: Kreienberg R, Jonat W, Volm T, Möbus V, Alt D, eds. *Management des Mammakarzinoms*. 3rd ed. Heidelberg, Germany: Springer, 2006:146-147.

-
63. Cyran CC, Fu Y, Raatschen HJ, Rogut V, Chaopathomkul B, Shames DM, Wendland MF, Yeh BM, Brasch RC. New macromolecular polymeric MRI contrast agents for application in the differentiation of cancer from benign soft tissues. *J Magn Reson Imaging* 2008;27:581-589
64. Rieber A, Brambs HJ, Diederichs C, Kreienberg R. Bildgebende Verfahren: Früherkennung und Diagnostik. In: Kreienberg R, Jonat W, Volm T, Möbus V, Alt D, eds. *Management des Mammakarzinoms*. 3rd ed. Heidelberg, Germany: Springer, 2006:148.
65. Yoo KM. Ultrashort laser pulse propagation and imaging in biological tissue and model random media – steps towards optical mammography. *Medical Optical Tomography: Functional Imaging and Monitoring* 1993;IS11:397-424
66. Lev A, Sfez BG. Direct, noninvasive detection of photon density in turbid media. *Opt Lett* 2002;27:473-475
67. Schmitz CH. Dynamic Optical Tomography with the DYNOT Instrument: Principles and Applications (Poster). Charité, Berlin, Germany, August 24, 2006
68. Gibson A, Dehghani H. Diffuse optical imaging. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci* 2009;367:3055-3072
69. Cutler M. Transillumination of the Breast as an Aid to Diagnosis. *Surgery, Gynecology & Obstetrics* 1929;28:721-729
70. Gros CM. Diaphanologie mammaire. *Radiol Electrol Med Nucl* 1972;53:297-306
71. Boas D. Imaging the body with diffuse optical Tomography. *IEEE Signal Processing Magazine* 2001;18:57-75
72. Hielscher AH, Bluestone AY, Abdoulaev GS, Klose AD, Lasker J, Stewart M, Netz U, Beuthan J. Near-infrared diffuse optical tomography. *Dis Markers* 2002;18:313-337
73. Carlsen E. Transillumination light scanning. *Diagnostic Imaging* 1982;4:28-34
74. Jobsis FF. Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 1977;198:1264-1267
75. Hoshi Y. Functional near-infrared optical imaging: utility and limitations in human brain mapping. *Psychophysiology* 2003;40:511-520
76. Optical Absorption of Indocyanine Green (ICG). Portland, USA: Oregon Medical Laser Center, 1999. (Accessed October 1, 2014, at <http://omlc.ogi.edu/spectra/icg/index.html>.)
77. Chance B. Phase measurement of light absorption and scattering in human tissues. *Review of Scientific Instruments* 1998;69:3457-3481

78. Rice A, Quinn CM. Angiogenesis, thrombospondin, and ductal carcinoma in situ of the breast. *J Clin Pathol* 2002;55:569-574
79. Obrig H, Villringer A. Beyond the visible--imaging the human brain with light. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23:1-18
80. Greene FL, Hicks C, Eddy V, Davis C. Mammography, sonomammography, and diaphanography (lightscanning). A prospective, comparative study with histologic correlation. *Am Surg* 1985;51:58-60
81. Wallberg H, Alveryd A, Nasiell K, Sundelin P, Bergvall U, Troell S. Diaphanography in benign breast disorders. Correlation with clinical examination, mammography, cytology and histology. *Acta Radiol Diagn (Stockh)* 1985;26:129-136
82. Alveryd A, Andersson I, Aspegren K, Balldin G, Bjurstam N, Edstrom G, Fagerberg G, Glas U, Jarlman O, Larsson SA, et al. Lightscanning versus mammography for the detection of breast cancer in screening and clinical practice. A Swedish multicenter study. *Cancer* 1990;65:1671-1677
83. Hebden JC, Kruger RA, Wong KS. Time resolved imaging through a highly scattering medium. *Appl Opt* 1991;30:788-794
84. Nioka S, Miwa M, Orel S, Shnall M, Haida M, Zhao S, Chance B. Optical imaging of human breast cancer. *Adv Exp Med Biol* 1994;361:171-179
85. Ntziachristos V. Fluorescence molecular imaging. *Annual review of biomedical engineering* 2006;8:1-33
86. Pogue BW, Davis SC, Song X, Brooksby BA, Dehghani H, Paulsen KD. Image analysis methods for diffuse optical tomography. *J Biomed Opt* 2006;11:33001
87. Patterson MS. Time resolved reflectance and transmittance for the noninvasive measurement of tissue optical properties. *Applied Optics* 1989;28:2231-2336
88. Leff DR, Warren OJ, Enfield LC, Gibson A, Athanasiou T, Patten DK, Hebden J, Yang GZ, Darzi A. Diffuse optical imaging of the healthy and diseased breast: a systematic review. *Breast cancer research and treatment* 2008;108:9-22
89. Grosenick D, Moesta KT, Moller M, Mucke J, Wabnitz H, Gebauer B, Stroszczyński C, Wassermann B, Schlag PM, Rinneberg H. Time-domain scanning optical mammography: I. Recording and assessment of mammograms of 154 patients. *Physics in medicine and biology* 2005;50:2429-2449
90. Grosenick D, Wabnitz H, Moesta KT, Mucke J, Schlag PM, Rinneberg H. Time-domain scanning optical mammography: II. Optical properties and tissue parameters of 87 carcinomas. *Physics in medicine and biology* 2005;50:2451-2468

-
91. Hagen A, Grosenick D, Macdonald R, Rinneberg H, Burock S, Warnick P, Poellinger A, Schlag PM. Late-fluorescence mammography assesses tumor capillary permeability and differentiates malignant from benign lesions. *Optics express* 2009;17:17016-17033
 92. Ntziachristos V, Yodh AG, Schnall M, Chance B. Concurrent MRI and diffuse optical tomography of breast after indocyanine green enhancement. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000;97:2767-2772
 93. Ntziachristos V, Yodh AG, Schnall MD, Chance B. MRI-guided diffuse optical spectroscopy of malignant and benign breast lesions. *Neoplasia* (New York, NY) 2002;4:347-354
 94. Pogue BW, Poplack SP, McBride TO, Wells WA, Osterman KS, Osterberg UL, Paulsen KD. Quantitative hemoglobin tomography with diffuse near-infrared spectroscopy: pilot results in the breast. *Radiology* 2001;218:261-266
 95. Patterson MS, Moulton JD, Wilson BC, Berndt KW, Lakowicz JR. Frequency-domain reflectance for the determination of the scattering and absorption properties of tissue. *Appl Opt* 1991;30:4474-4476
 96. Franceschini MA, Moesta KT, Fantini S, Gaida G, Gratton E, Jess H, Mantulin WW, Seeber M, Schlag PM, Kaschke M. Frequency-domain techniques enhance optical mammography: initial clinical results. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1997;94:6468-6473
 97. Gibson AP, Hebden JC, Arridge SR. Recent advances in diffuse optical imaging. *Physics in medicine and biology* 2005;50:R1-43
 98. Schmitz CH. Instrumentation for fast functional optical tomography. *Review of Scientific Instruments* 2002;73:429-439
 99. Schmitz CH, Graber HL, Luo H, Arif I, Hira J, Pei Y, Bluestone A, Zhong S, Andronica R, Soller I, Ramirez N, Barbour SL, Barbour RL. Instrumentation and calibration protocol for imaging dynamic features in dense-scattering media by optical tomography. *Appl Opt* 2000;39:6466-6486
 100. Rinneberg H, Grosenick D, Moesta KT, Mucke J, Gebauer B, Stroszczyński C, Wabnitz H, Moeller M, Wassermann B, Schlag PM. Scanning time-domain optical mammography: detection and characterization of breast tumors in vivo. *Technol Cancer Res Treat* 2005;4:483-496
 101. Floery D, Helbich TH, Riedl CC, Jaromi S, Weber M, Leodolter S, Fuchsjaeger MH. Characterization of benign and malignant breast lesions with computed tomography laser mammography (CTLM): initial experience. *Invest Radiol* 2005;40:328-335
 102. Grosenick D, Moesta KT, Wabnitz H, Mucke J, Stroszczyński C, Macdonald R, Schlag PM, Rinneberg H. Time-domain optical mammography: initial clinical results on detection and characterization of breast tumors. *Appl Opt* 2003;42:3170-3186

103. Intes X. Time-domain optical mammography SoftScan: initial results. *Academic radiology* 2005;12:934-947
104. Tromberg BJ, Cerussi A, Shah N, Compton M, Durkin A, Hsiang D, Butler J, Mehta R. Imaging in breast cancer: diffuse optics in breast cancer: detecting tumors in pre-menopausal women and monitoring neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2005;7:279-285
105. Kim MJ, Kim JY, Youn JH, Kim MH, Koo HR, Kim SJ, Sohn YM, Moon HJ, Kim EK. US-guided diffuse optical tomography for breast lesions: the reliability of clinical experience. *Eur Radiol* 2011;21:1353-1363
106. Taroni P, Danesini G, Torricelli A, Pifferi A, Spinelli L, Cubeddu R. Clinical trial of time-resolved scanning optical mammography at 4 wavelengths between 683 and 975 nm. *J Biomed Opt* 2004;9:464-473
107. Webb PM, Cummings MC, Bain CJ, Furnival CM. Changes in survival after breast cancer: improvements in diagnosis or treatment? *Breast* 2004;13:7-14
108. Choe R, Corlu A, Lee K, Durduran T, Konecky SD, Grosicka-Koptyra M, Arridge SR, Czerniecki BJ, Fraker DL, DeMichele A, Chance B, Rosen MA, Yodh AG. Diffuse optical tomography of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy: a case study with comparison to MRI. *Med Phys* 2005;32:1128-1139
109. Ntziachristos V, Ripoll J, Weissleder R. Would near-infrared fluorescence signals propagate through large human organs for clinical studies? *Opt Lett* 2002;27:333-335
110. Zhang Q, Brukilacchio TJ, Li A, Stott JJ, Chaves T, Hillman E, Wu T, Chorlton M, Rafferty E, Moore RH, Kopans DB, Boas DA. Coregistered tomographic x-ray and optical breast imaging: initial results. *J Biomed Opt* 2005;10:024033
111. Zhu Q, Cronin EB, Currier AA, Vine HS, Huang M, Chen N, Xu C. Benign versus malignant breast masses: optical differentiation with US-guided optical imaging reconstruction. *Radiology* 2005;237:57-66
112. IC Green-prescribing-information. Illinois, USA: AKORN pharmaceuticals corporate headquarters, 2011. (Accessed 08.10., 2011, at <http://www.akorn.com/icg/icgreen-prescribing-information.pdf>.)
113. Poellinger A, Burock S, Grosenick D, Hagen A, Ludemann L, Diekmann F, Engelken F, Macdonald R, Rinneberg H, Schlag PM. Breast cancer: early- and late-fluorescence near-infrared imaging with indocyanine green--a preliminary study. *Radiology* 2010;258:409-416
114. Corlu A, Choe R, Durduran T, Rosen MA, Schweiger M, Arridge SR, Schnall MD, Yodh AG. Three-dimensional in vivo fluorescence diffuse optical tomography of breast cancer in humans. *Optics express* 2007;15:6696-6716

-
115. Intes X, Ripoll J, Chen Y, Nioka S, Yodh AG, Chance B. In vivo continuous-wave optical breast imaging enhanced with Indocyanine Green. *Med Phys* 2003;30:1039-1047
116. Davis SC, Pogue BW, Dehghani H, Paulsen KD. Tissue drug concentration determines whether fluorescence or absorption measurements are more sensitive in diffuse optical tomography of exogenous contrast agents. *Appl Opt* 2009;48:D262-272
117. van de Ven S, Wiethoff A, Nielsen T, Brendel B, van der Voort M, Nachabe R, Van der Mark M, Van Beek M, Bakker L, Fels L, Elias S, Luijten P, Mali W. A novel fluorescent imaging agent for diffuse optical tomography of the breast: first clinical experience in patients. *Mol Imaging Biol* 2009;12:343-348
118. Poellinger A, Persigehl T, Mahler M, Bahner M, Ponder SL, Diekmann F, Bremer C, Moesta T. Near-infrared imaging of the breast using omocyanine as a fluorescent dye: results of a placebo-controlled, clinical, multicenter trial. *Invest Radiol* 2011;46:697-704
119. Taroni P, Torricelli A, Spinelli L, Pifferi A, Arpaia F, Danesini G, Cubeddu R. Time-resolved optical mammography between 637 and 985 nm: clinical study on the detection and identification of breast lesions. *Physics in medicine and biology* 2005;50:2469-2488
120. Schnall MD, Blume J, Bluemke DA, DeAngelis GA, DeBruhl N, Harms S, Heywang-Kobrunner SH, Hylton N, Kuhl CK, Pisano ED, Causer P, Schnitt SJ, Thickman D, Stelling CB, Weatherall PT, Lehman C, Gatsonis CA. Diagnostic architectural and dynamic features at breast MR imaging: multicenter study. *Radiology* 2006;238:42-53
121. Caproni N, Marchisio F, Pecchi A, Canossi B, Battista R, D'Alimonte P, Torricelli P. Contrast-enhanced ultrasound in the characterisation of breast masses: utility of quantitative analysis in comparison with MRI. *Eur Radiol* 2009;20:1384-1395
122. Fallenberg EM, Dromain C, Diekmann F, Renz DM, Amer H, Ingold-Heppner B, Neumann AU, Winzer KJ, Bick U, Hamm B, Engelken F. Contrast-enhanced spectral mammography: Does mammography provide additional clinical benefits or can some radiation exposure be avoided? *Breast cancer research and treatment* 2014;146:371-381
123. Schreiter NF, Volkwein N, Schneider P, Maurer MH, Piper S, Schmitz C, Poellinger A. Optical imaging of breast cancer using hemodynamic changes induced by valsalva maneuver. *Rofo* 2013;185:358-366
124. Obrig H, Wolf T, Doge C, Hulsing JJ, Dirnagl U, Villringer A. Cerebral oxygenation changes during motor and somatosensory stimulation in humans, as measured by near-infrared spectroscopy. *Adv Exp Med Biol* 1996;388:219-224
125. Reuter E, Jorke D. [1st experiences with the indocyanine green (Wofaverdine) test as a liver function test]. *Zeitschrift fur die gesamte innere Medizin und ihre Grenzgebiete* 1966;21:Suppl:180-182

126. Fritsche PL, Flipsen E. Evaluating new retinal imaging techniques. *Archives of ophthalmology* 1999;117:846-847
127. Kamisaka K, Yatsuji Y, Yamada H, Kameda H. The binding of indocyanine green and other organic anions to serum proteins in liver diseases. *Clin Chim Acta* 1974;53:255-264
128. Landsman ML, Kwant G, Mook GA, Zijlstra WG. Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. *J Appl Physiol* 1976;40:575-583
129. Barbour RLG, H.L.; Pei, Y.; Zhong, S.; Schmitz, C.H. Optical tomographic imaging of dynamic features of dense-scattering media. *J Optical Society of America* 2001;18:3018-3036
130. Schneider P, Piper S, Schmitz CH, Schreiter NF, Volkwein N, Ludemann L, Malzahn U, Poellinger A. Fast 3D Near-infrared breast imaging using indocyanine green for detection and characterization of breast lesions. *Rofo* 2011;183:956-963
131. Byrne C, Schairer C, Wolfe J, Parekh N, Salane M, Brinton LA, Hoover R, Haile R. Mammographic features and breast cancer risk: effects with time, age, and menopause status. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1622-1629
132. Mandelson MT, Oestreicher N, Porter PL, White D, Finder CA, Taplin SH, White E. Breast density as a predictor of mammographic detection: comparison of interval- and screen-detected cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1081-1087
133. van Gils CH, Otten JD, Hendriks JH, Holland R, Straatman H, Verbeek AL. High mammographic breast density and its implications for the early detection of breast cancer. *J Med Screen* 1999;6:200-204
134. Warner E, Messersmith H, Causer P, Eisen A, Shumak R, Plewes D. Systematic review: using magnetic resonance imaging to screen women at high risk for breast cancer. *Ann Intern Med* 2008;148:671-679
135. Li YJ, Yang L, Xia Q, Wen G. [Hemodynamic changes in benign and malignant breast tumors and the mechanism]. *Nan fang yi ke da xue xue bao = Journal of Southern Medical University* 2009;29:1557-1560
136. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8
137. Tsutsui S, Kume M, Era S. Prognostic value of microvessel density in invasive ductal carcinoma of the breast. *Breast cancer (Tokyo, Japan)* 2003;10:312-319
138. Martinez AM, Medina CJ, Bustos C, Hernandez JA. Assessment of breast lesions using Doppler with contrast agents. *European journal of gynaecological oncology* 2003;24:527-530

-
139. Meinhold-Heerlein I, Maass N. Neue molekulare Ansätze in Therapie und Diagnostik. In: Jonat W, Maass N, eds. Mammakarzinom - aktuelle Diagnostik und Therapie. 2nd ed. Bremen, Germany: UNI-MED, 2005:139.
140. Fox SB, Generali DG, Harris AL. Breast tumour angiogenesis. *Breast Cancer Res* 2007;9:216
141. Nagy JA, Dvorak HF. Heterogeneity of the tumor vasculature: the need for new tumor blood vessel type-specific targets. *Clin Exp Metastasis* 2012;29:657-662
142. Sohn C, Blohmer JU, Hamper U. Sonographic Evaluation of Blood Flow in Breast Masses. In: Sohn C, Blohmer JU, Hamper U, eds. *Breast Ultrasound: A Systematic Approach to Technique and Image Interpretation*. 1st ed. Stuttgart, Germany: Thieme, 1999:104.
143. LeCarpentier GL, Roubidoux MA, Fowlkes JB, Krucker JF, Hunt KA, Paramagul C, Johnson TD, Thorson NJ, Engle KD, Carson PL. Suspicious breast lesions: assessment of 3D Doppler US indexes for classification in a test population and fourfold cross-validation scheme. *Radiology* 2008;249:463-470
144. Madjar H, E.B. M. Doppler Ultrasound. In: Madjar H, E.B. M, eds. *Practice of Breast Ultrasound: Techniques, Findings, Differential Diagnosis*. 2nd ed. Stuttgart, Germany: Thieme, 2008:247.
145. Ozdemir A, Ozdemir H, Maral I, Konus O, Yucel S, Isik S. Differential diagnosis of solid breast lesions: contribution of Doppler studies to mammography and gray scale imaging. *J Ultrasound Med* 2001;20:1091-1101; quiz 1102
146. Kuhl CK, Traber F, Gieseke J, Drahanowsky W, Morakkabati-Spitz N, Willinek W, von Falkenhausen M, Manka C, Schild HH. Whole-body high-field-strength (3.0-T) MR imaging in clinical practice. Part II. Technical considerations and clinical applications. *Radiology* 2008;247:16-35
147. Fowler PA, Casey CE, Cameron GG, Foster MA, Knight CH. Cyclic changes in composition and volume of the breast during the menstrual cycle, measured by magnetic resonance imaging. *Br J Obstet Gynaecol* 1990;97:595-602
148. Graham SJ, Stanchev PL, Lloyd-Smith JO, Bronskill MJ, Plewes DB. Changes in fibroglandular volume and water content of breast tissue during the menstrual cycle observed by MR imaging at 1.5 T. *J Magn Reson Imaging* 1995;5:695-701
149. Boetes C, Barentsz JO, Mus RD, van der Sluis RF, van Erning LJ, Hendriks JH, Holland R, Ruys SH. MR characterization of suspicious breast lesions with a gadolinium-enhanced TurboFLASH subtraction technique. *Radiology* 1994;193:777-781
150. Froeling V, Diekmann F, Renz DM, Fallenberg EM, Steffen IG, Diekmann S, Lawaczek R, Schmitzberger FF. Correlation of contrast agent kinetics between iodinated contrast-enhanced spectral tomosynthesis and gadolinium-enhanced MRI of breast lesions. *Eur Radiol* 2013;23:1528-1536

151. Huber S, Helbich T, Kettenbach J, Dock W, Zuna I, Delorme S. Effects of a microbubble contrast agent on breast tumors: computer-assisted quantitative assessment with color Doppler US--early experience. *Radiology* 1998;208:485-489
152. Kettenbach J, Helbich TH, Huber S, Zuna I, Dock W. Computer-assisted quantitative assessment of power Doppler US: effects of microbubble contrast agent in the differentiation of breast tumors. *European journal of radiology* 2005;53:238-244
153. Menna S, Di Virgilio MR, Burke P. [Ultrasonography contrast media Levovist and power Doppler in the study of the breast. Methodology, vascular morphology and automatic enhancement quantification with wash-in and wash-out curves]. *La Radiologia medica* 1999;97:472-478
154. Hu Q, Wang XY, Zhu SY, Kang LK, Xiao YJ, Zheng HY. Meta-analysis of contrast-enhanced ultrasound for the differentiation of benign and malignant breast lesions. *Acta radiologica* 2014;
155. Ntziachristos V, Chance B. Probing physiology and molecular function using optical imaging: applications to breast cancer. *Breast Cancer Res* 2001;3:41-46
156. Poellinger A, Martin JC, Ponder SL, Freund T, Hamm B, Bick U, Diekmann F. Near-infrared laser computed tomography of the breast first clinical experience. *Academic radiology* 2008;15:1545-1553
157. Shah N, Cerussi A, Eker C, Espinoza J, Butler J, Fishkin J, Hornung R, Tromberg B. Noninvasive functional optical spectroscopy of human breast tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001;98:4420-4425
158. Pogue BW, Jiang S, Dehghani H, Kogel C, Soho S, Srinivasan S, Song X, Tosteson TD, Poplack SP, Paulsen KD. Characterization of hemoglobin, water, and NIR scattering in breast tissue: analysis of intersubject variability and menstrual cycle changes. *J Biomed Opt* 2004;9:541-552
159. Potten CS, Watson RJ, Williams GT, Tickle S, Roberts SA, Harris M, Howell A. The effect of age and menstrual cycle upon proliferative activity of the normal human breast. *Br J Cancer* 1988;58:163-170
160. Going JJ, Anderson TJ, Battersby S, MacIntyre CC. Proliferative and secretory activity in human breast during natural and artificial menstrual cycles. *Am J Pathol* 1988;130:193-204
161. Durduran T, Choe R, Culver JP, Zubkov L, Holboke MJ, Giammarco J, Chance B, Yodh AG. Bulk optical properties of healthy female breast tissue. *Physics in medicine and biology* 2002;47:2847-2861
162. Al Abdi R, Schmitz CH. A dual-mode simultaneous bilateral optical imaging system for breast cancer detection (Conference Paper). New York, NY: Biomedical Optics (BIOMED) Topical Meeting and Tabletop Exhibit, 26-28 March, 2010

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Jährliche Neuerkrankungen und Sterbefälle sowie altersstandardisierte Inzidenz- und Mortalitätsrate für das Mammakarzinom in Deutschland.....	7
Abbildung 2: Schematische Darstellung zur diffusen Lichtpropagation im Gewebe	20
Abbildung 3: Schematische Darstellung des NIR-Imagers	35
Abbildung 4: Ansicht Patientenliege Kopfende	36
Abbildung 5: Unteransicht Patientenliege	36
Abbildung 6: Indocyaningrün: Molekulare Struktur und Absorptionsspektren in Plasma in Abhängigkeit von der Konzentration.....	38
Abbildung 7: Graphische Erläuterung des Parameters ‚Peakamplitude‘ (PA)	40
Abbildung 8: Graphische Erläuterung des Parameters ‚Time to Peak‘ (TTP).....	41
Abbildung 9: Bildschirmfoto der entwickelten ‚Volumeslider‘-Software zur Visualisierung der optischen 3D-Mammographie-Datensätze	42
Abbildung 10: Darstellung der verwendeten Vierfeldertafel	45
Abbildung 11: Quantitative Zusammensetzung des Patientenkollektivs bezüglich der Dichtebefunde des Brustdrüsengewebes nach BI-RADS Kriterien.....	48
Abbildung 12: Zeitintensitätskurven aller rekonstruierten Voxel für die linke Brust einer 77 jährigen Patientin mit einem 19 mm metaplastischen Karzinom (Fall 6).	49
Abbildung 13: Vergleich der Zeitintensitätskurven (TICs) von malignem Tumorgewebe und tumorfreiem Brustgewebe für Fall 6	50
Abbildung 14: Time to Peak-basierte Amplitudenanalyse für 22 Patientinnen.....	53

Abbildung 15: Darstellung der PTA-Kurven der Time to Peak-basierten Amplitudenanalyse für Fall 1 - 3	54
Abbildung 16: Vergleich der ermittelten Sensitivitäten und Spezifitäten für Brustdrüsen verschiedener Gewebisdichte	55
Abbildung 17: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 1	56
Abbildung 18: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 1	57
Abbildung 19: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 2	58
Abbildung 20: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 2	59
Abbildung 21: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 3	60
Abbildung 22: Sonographie für Fall 3	61
Abbildung 23: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 4	62
Abbildung 24: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 4	63
Abbildung 25: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 5	64
Abbildung 26: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 5	65
Abbildung 27: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 6	66
Abbildung 28: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 6	67
Abbildung 29: Ergebnisse der NIR-Bildgebung im Vergleich zur MRM für Fall 7	68
Abbildung 30: Sonographie und Röntgenmammographie für Fall 7	69

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Histopathologische Befunde, Läsionsgrößen und Detektionsraten für 22 untersuchte Brustdrüsen.	47
--	----

A Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Paul Schneider, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *„Kontrastmittelgestützte diffuse optische Tomographie (DOT) zur Bildgebung benigner und maligner Läsionen der weiblichen Brustdrüse“* 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 beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Paul Schneider hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Schneider P, Piper S, Schmitz CH, Schreiter NF, Volkwein N, Ludemann L, Malzahn U, Poellinger A. Fast 3D Near-infrared breast imaging using indocyanine green for detection and characterization of breast lesions. Rofo 2011;183:956-963.

Beitrag im Einzelnen: gemeinsame Gestaltung der Arbeitshypothese und der experimentellen Methodik, eigenständige Konstruktion der Untersuchungsanlage, gemeinsame Durchführung der optischen Messungen, maßgebliche Auswertung und Diskussion der Ergebnisse, eigenständige Gestaltung und Verfassung der Veröffentlichungsschrift.

Schreiter NF, Volkwein N, **Schneider P**, Maurer MH, Piper S, Schmitz C, Poellinger A. Optical imaging of breast cancer using hemodynamic changes induced by valsalva maneuver. Rofo 2013;185:358-366.

Beitrag im Einzelnen: gemeinsame Gestaltung der Arbeitshypothese und der experimentellen Methodik, gemeinsame Durchführung der optischen Messungen, gemeinsame Auswertung, gemeinsame Gestaltung und Verfassung der Veröffentlichungsschrift.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

B Lebenslauf

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

C Publikationsliste

1. **Schneider P**, Piper S, Schmitz CH, Schreiter NF, Volkwein N, Ludemann L, Malzahn U, Poellinger A. Fast 3D Near-infrared breast imaging using indocyanine green for detection and characterization of breast lesions. *Rofo* 2011;183:956-963.
2. Schreiter NF, Volkwein N, **Schneider P**, Maurer MH, Piper S, Schmitz C, Poellinger A. Optical imaging of breast cancer using hemodynamic changes induced by valsalva maneuver. *Rofo* 2013;185:358-366.

D Danksagung

Bei meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. med. Alexander Pöllinger, möchte ich mich für die freundliche Überlassung des Themas und seine intensive Unterstützung in jeder Phase der Arbeit bedanken. Die stets konstruktive Kritik bei der Betreuung habe ich sehr geschätzt. Für die Möglichkeit der Präsentation der Forschungsarbeit beim 91. Deutschen Röntgenkongress und die Unterstützung bei der gemeinsamen Publikation der Ergebnisse möchte ich mich an dieser Stelle herzlich bedanken.

Herrn Prof. Dr. med. Bernd Hamm danke ich hiermit für die Möglichkeit der Durchführung des Projektes in seiner radiologischen Abteilung und die großzügige Bereitstellung nötiger Ressourcen.

Ganz besonderer Dank geht an Frau Dr. rer. nat. Sophie Piper. Mit ihrer methodischen Beratung zur Datenauswertung und ihrer intensiven Hilfe bei der Softwareprogrammierung hat sie maßgeblich zum Fortgang der Arbeit beigetragen. Auch für die herzliche Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe möchte ich mich an dieser Stelle ausdrücklich bedanken.

Herrn Dr. rer. nat. Christoph Schmitz danke ich für die Bereitstellung des Imagers und die freundliche technische Unterstützung während des Projektes.

Bei Herrn PD Dr. rer. nat. Lutz Lüdemann möchte ich mich insbesondere für die wissenschaftliche Beratung bei der Auswertung der Tumorperfusion bedanken.

Für seine kompetente Hilfe bei der statistischen Auswertung der Arbeit danke ich auch Herrn Dr. rer. nat. Uwe Malzahn.

Roland Strauß möchte ich für die Bereitstellung seiner Werkstatt und Geräte beim Umbau der Untersuchungsfläche herzlich danken.

Meinen Eltern danke ich, dass sie mich stets in allen Belangen unterstützt und gefördert haben. Meiner Freundin und unseren beiden Kindern gilt besonderer Dank für ihre großartige Geduld bei der Entstehung dieser Schrift.