



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Multimodal FTIR Microscopy-guided Acquisition and Interpretation  
of MALDI Mass Spectrometry Imaging Data**

Autor: Jan-Hinrich Rabe  
Institut / Klinik: Institut für Medizintechnologie  
Doktorvater: Prof. Dr. C. Hopf

Multimodale klinische Bildgebung stellt eine der bedeutendsten Entwicklung der letzten Jahrzehnte dar. Neben der Kombination komplementärer *in vivo* Sensoren in beispielsweise PET-MRI oder SPECT-CT sind auch *ex vivo* Analyseverfahren, welche eine genauere Beschreibung der Probe ermöglichen, in den Bereich der (prä)klinischen Diagnostik vorgedrungen. Eine der vielversprechendsten Techniken in diesem Zusammenhang stellt die bildgebende Massenspektrometrie dar, welche die Verteilungsmuster hunderter Biomoleküle oder Pharmazeutika semi-quantitativ erfasst. Dabei kommt das Verfahren ohne die Verwendung von markierten Substanzen aus und erlaubt eine höhere räumliche und spektrale Auflösung im Vergleich zu *in vivo* Sensoren. Allerdings unterliegt die Technik auch einigen wesentlichen Einschränkungen, da die Datenakquisition besonders bei der Verwendung von ultrahochoflösenden FTICR-Detektoren sehr langsam erfolgt. Die niedrige Durchsatzleistung und damit verbundene unhandliche Datenmenge erschwert somit die Analyse größerer Patientenkohorten, wodurch ein Bedarf an multimodalen Lösungsansätzen besteht. Ein geeignetes Verfahren in dieser Hinsicht stellt die Schwingungsspektroskopie (bsp. Infrarotspektroskopie) dar, welche räumliche Details vergleichsweise schnell erfasst; dabei allerdings keine Rückschlüsse auf die Verteilung bestimmter chemischer Substanzen ermöglicht.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein MATLAB-gestütztes Verfahren zur multimodalen Akquirierung von Infrarotspektroskopie- und Massenspektrometrie-Daten entwickelt und bewertet. Dabei werden räumliche Strukturen und Zellpopulationen innerhalb von Geweben mittels FTIR-basierter Clusteranalyse segmentiert. Anschließend kann die chemische Zusammensetzung einzelner Segmente zielgerichtet akquiriert und verglichen werden. Das entwickelte Verfahren funktioniert dabei unabhängig von konventioneller histopathologischer Gewebeannotation.

Ein wichtiger Faktor bei Mittelinfrarot- und Massenspektrometrie-Messungen auf Gewebe stellt die Zusammensetzung der verwendeten Objektträger-Beschichtung dar. Für die Bewertung der erhaltenen Spektren und der damit verbundenen Bildsegmentierung wurden deshalb Experimente auf Indiumzinnoxid, Silberzinnoxid und Gold durchgeführt und verglichen. Dabei konnte gezeigt werden, dass Infrarot- und Massenspektrometrie-Bilder von der gleichen Probe auf Gold mit hoher Qualität aufgenommen werden können. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass durch einfache Infrarotsegmentierung eine Identifizierung relevanter morphologischer Gehirnstrukturen möglich ist. Die erzielte räumliche Präzision und Auflösung der Infrarot-Segmente stellt dabei einen deutlichen Mehrwert gegenüber der direkten Segmentierung von Massenspektrometrie-Bildern dar. Darüber hinaus können Infrarotsegmente bereits vor der eigentlichen MS-Messung generiert werden.

Nach erfolgter Methodenentwicklung und Validierung konnte diese auf verschiedene diagnostische Studien angewendet werden. In einem ersten Anwendungsbeispiel konnten in Mäuse xenotransplantierte humane Glioblastomzellen mit erhöhter Präzision visualisiert werden. Darüber hinaus wurde eine im korrespondierenden H&E-Bild unauffällige, den Tumor-umschließende Struktur identifiziert. Durch den erfolgreichen Transfer der Infrarotsegmente in das Koordinatensystem von nachfolgend gemessenen MS-Bildern, konnten spezifische Markersignaturen automatisch extrahiert werden. Im Zuge dessen konnte die Authentizität Tumorstruktur sowie der zweiten Tumor-assoziierten Struktur durch spezifische Massen bekräftigt werden.

In einer weiteren Studie, wurde die entwickelte Methode für das automatische Screening von Markersignaturen in Niemann-Pick Typ C1 ähnlichen murinen Kleinhirnschnitten getestet. Dabei konnten regionsspezifische, im Gesamtdatensatz insignifikante Änderungen in der Lipidzusammensetzung automatisiert und Annotations-unabhängig erfasst werden.

In einer weiteren Infrarotspektroskopie-Studie an 89 kryokonservierten GIST Schnitten von 27 Patienten konnte eine schnelle und simultane Segmentierung aller Gewebeproben exemplarisch gezeigt werden. Dabei wurden farbkodierte Bilder aller Proben generiert, in denen gleiche Farben für eine spektrale Ähnlichkeit stehen. Durch den Abgleich der erhaltenen Farbcodes mit histopathologisch annotierten Folgeschnitten konnten zwei der fünf dargestellten Farbgruppen mit dem Auftreten von Tumorzellen assoziiert werden. Die anderen Gruppen repräsentierten Fibrosen, Nekrosen und weitere nicht-tumoröse Gewebeanteile.

Abschließend wurde die Struktur-gerichtete Akquisition von ultrahochauflösenden FTICR-MS Bildern gezeigt, welche auf Basis von Mittelinfrarotbildern der identischen Gewebeprobe abgeleitet wurden. Indem die zeitaufwändige MS-Messung ausschließlich auf kleinere Strukturen von Interesse (wie beispielsweise die Körnerzell-Schicht der Cornu Ammonis) gerichtet wurde, konnte eine Zeit- und Datensparnis von bis zu 97.8% gegenüber der vollständigen Messung erreicht werden. Damit ist ein großer Schritt hin zur Implementierung von ultrahochauflösender Massenspektrometrie im klinischen Umfeld erfolgt.