

Pieneläin PET/TT-analysointiohjelmiston  
päivittäminen ja validointi

Pro Gradu  
Turun yliopisto  
Fysiikka  
2025  
Fil. yo. Lenni Sibelius  
Tarkastajat:  
Dos. Matti Murtomaa  
FT Maria Jaakkola

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck-järjestelmällä

TURUN YLIOPISTO  
Fysiikan ja tähtitieteen laitos

**Sibelius, Lenni** Pieneläin PET/TT-analysointiohjelmiston päivittäminen ja validointi

Pro Gradu, 47 s.  
Fysiikka  
Huhtikuu 2025

---

SAPP-ohjelmisto (eng. Small Animal Brain PET/CT-pipeline) kehitettiin vuonna 2018 automatisoimaan pieneläinten positroniemissiotomografia- (PET, eng. Positron Emission Tomography) ja tietokonekerroskuvien (TT, eng. Computed Tomography scan) käsittely. Tässä opinnäytetyössä SAPP-ohjelmisto päivitettiin käyttökelpoiseksi ja käsittelyä validoitiin hiiri- ja rottakuvilla. SAPP koostuu kolmesta moduulista, joista ensimmäinen esikäsittelee kuvat eli muun muassa rajaa eläinten päät, kohdistaa TT- ja PET-kuvat sekä sovittaa atlakset, joiden ROI-alueista (eng. Region of Interest) tehdään toisessa moduulissa analyysit. Kolmas moduuli tekee parametrisen PET-kuvan, joka mahdollistaa kuvankäsittelyn kehittämisen tilavuusalkio-pohjaiseksi.

Ensimmäisestä moduulista korjattiin laaduntarkastustiedosto, joka kirjoitti itsensä päälle ja sisälsi asetteluongelmia. Ensimmäinen moduuli päivitettiin toimimaan sekä Windows- että Linux-käyttöjärjestelmällä, ja sen rajausalgoritmia päivitettiin rajaamaan kuvauslaitteiston ympäröivät osat pois kuvasta. SAPP-ohjelmistoa validoitiin analysoimalla sillä hiiren ja rotan aivoalueita. Saatuja semikvantitatiivisia radioaktiivisuuden mittausrvoja verrattiin prekliinisen tutkijan manuaalisesti piirrettiin ROI-alueisiin, joista analysoitiin samat aivoalueet. Molemmissa tapauksissa SAPP-ohjelmiston laskemat arvot seurasivat hyvin manuaalisia arvoja. Hiiren tapauksessa SAPP-ohjelmiston tekemät arvot olivat usein hieman matalampia pienten ROI-alueiden takia. Rotalla SAPP-ohjelmiston saamat arvot seurasivat hiirtä paremmin manuaalisia arvoja muutamaa poikkeusta lukuun ottamatta. SAPP saatiin toimimaan ja sen kehittäminen vastaamaan tutkijoiden toiveita voi jatkua.

Asiasanat: SAPP, koe-eläin, automatisointi

# Sisällys

<b>Johdanto</b>	<b>1</b>
<b>1 Teoriaa ja taustaa</b>	<b>2</b>
1.1 Lääketieteellinen kuvantaminen . . . . .	2
1.1.1 Positroniemissiotomografia . . . . .	3
1.1.2 Tietokonekerroskuvaus . . . . .	7
1.1.3 Koe-eläinten käyttö PET- ja TT-kuvantamisessa . . . . .	11
1.2 Kuvien analysointi . . . . .	12
1.2.1 Neuroanatominen analyysi atlaksilla . . . . .	12
1.2.2 ROI-analyysi . . . . .	13
<b>2 Menetelmät</b>	<b>14</b>
2.1 Data . . . . .	14
2.2 Toteutusalue . . . . .	16
2.2.1 MATLAB . . . . .	16
2.2.2 SPM . . . . .	17
2.2.3 Carimas . . . . .	17
2.3 SAPP-ohjelmiston rakenne . . . . .	17
2.3.1 Moduuli 1: Kuvien esikäsittely . . . . .	19
2.3.1.1 Rajaus . . . . .	19
2.3.1.2 TT- ja PET-kuvien kohdistaminen . . . . .	22
2.3.1.3 Atlas sovitus . . . . .	23
2.3.1.4 Aivojen avaruudellinen normalisaatio . . . . .	26
2.3.1.5 Esikäsittelyn virheiden määristys ja manuaalien kor-	
jaus . . . . .	26
2.3.2 Moduuli 2: Kuvien analysointi . . . . .	27

2.3.3	Moduuli 3: Parametriset PET-kuvat . . . . .	28
2.3.4	Graafinen käyttöliittymä . . . . .	28
<b>3</b>	<b>Tulokset</b>	<b>29</b>
3.1	SAPP-ohjelmiston korjaus . . . . .	29
3.1.1	Laaduntarkastustiedosto . . . . .	29
3.1.2	Käyttöjärjestelmä . . . . .	30
3.1.3	Rajaus ja x-koordinaatin määrittäminen algoritmilla . . . . .	30
3.2	Validointi . . . . .	35
3.2.1	Hiiri . . . . .	36
3.2.2	Rotta . . . . .	39
<b>4</b>	<b>Pohdinta</b>	<b>42</b>
<b>5</b>	<b>Yhteenveto ja johtopäätökset</b>	<b>44</b>
<b>6</b>	<b>Kiitokset</b>	<b>45</b>

## Johdanto

Eläinkokeet ovat iso osa lääketieteen kehitystä, joten niiden laatu on eettisten kysymysten rinnalla tärkeää. SAPP-ohjelmisto (eng. Small Animal Brain PET/CT-pipeline) on kehitetty automatisoimaan pieneläinten positroniemissiotomografia- (PET, eng. Positron Emission Tomography) ja tietokonekerroskuvien (TT, eng. Computed Tomography scan) käsittelyä. PET-kuvat visualisoivat käytetyn merkkiaineen mukaan erilaisia biologisia prosesseja ja TT-kuvat puolestaan anatomisia rakenteita. Yleensä molemmat kuvat otetaan samasta kohdasta ja yhdistetään, jolloin nähdään, mitä merkkiaineelle tapahtuu ja missä. SAPP-ohjelmiston on kehittänyt vuonna 2018 Turun PET-keskukselle Pro gradu -tutkielmana Diana Bocancea. [1]

SAPP laskee otetusta kuvasta automaattisesti kullekin aivoalueelle erikseen PET-merkkiaineen kertymisen ajan funktiona. Se nopeuttaa tutkimusaineiston käsittelyä ja analysointia, vähentää inhimillisiä virheitä ja tekee tuloksista vertailtavia eri tutkijoiden välillä, koska tutkijan ei tarvitse esimerkiksi manuaalisesti piirtää aivoalueita, vaan kaikki kuvat käsitellään samalla tavalla.

Aineiston käsittelyä standardisoidaan SAPP-ohjelmistolla niin, että kokemuksen riippumatta tutkijat pystyvät käyttämään sitä käyttöliittymän kautta ja saamaan vertailtavia tuloksia. Algoritmi rajaa ja analysoi aina samalla tavalla, mutta se voi myös epäonnistua, jos eläimen pää ei esimerkiksi ole aivan oletetussa asennossa tai koodi ei toimi oikein. Tutkijan on edelleen siis tutkittava tuloksia kriittisesti ja tiedettävä, millaisia tulosten pitäisi todennäköisesti olla. Alkuperäisessä validoinnissa [1] rotilla SAPP onnistuu noin 75% ajasta analyysissä, ja hiirillä hieman paremmin.

SAPP on kehitetty toimimaan MATLAB-ohjelmistossa [2] ja se automatisoi kuvan esikäsittelyn ja atlas pohjaisen aivoalueiden analyysin. Atlakset ovat kartastoja aivoista, joissa on eroteltu eri aivoalueet. Niissä on usein käytetty montaa aivokuvaa, joista on otettu keskiarvo yksittäisten eroavaisuuksien suodattamiseksi. TT-kuva an-

taa SAPP-ohjelmistolle anatomisen pohjan, johon voidaan asettaa aivoalueiden atlakset, jotta tiedetään, missä on PET:in mukaan aktiivisuutta. Kuvat pitää ensin kuitenkin orientoida atlasien mukaan, jotta molemmat ovat samassa asennossa, kun kuvat analysoidaan. Jyrsijöillä aivot ovat keskenään rakenteeltaan samanlaisia, joten niitä on mahdollista vertailla keskenään lajinsisäisesti. SAPP-ohjelmistossa on yksinkertainen graafinen käyttöliittymä, jotta tutkija voi käyttää sitä hakemalla oikean tiedoston tietokoneelta ja valitsemalla halutut parametrit.

SAPP on ollut tärkeä työkalu prekliinisessä tutkimuksessa, mutta ohjelmisto on vanhentunut eikä sitä voi enää käyttää. Sen korjaamiselle on ollut paljon kysyntää, ja Essi Kerola aloitti sen päivittämisen kesällä 2024. Tässä opinnäytetyössä SAPP-ohjelmisto päivitettiin käyttökelpoiseksi ja ohjelmisto validoitiin hiiri- ja rottakuvilla.

# 1 Teoriaa ja taustaa

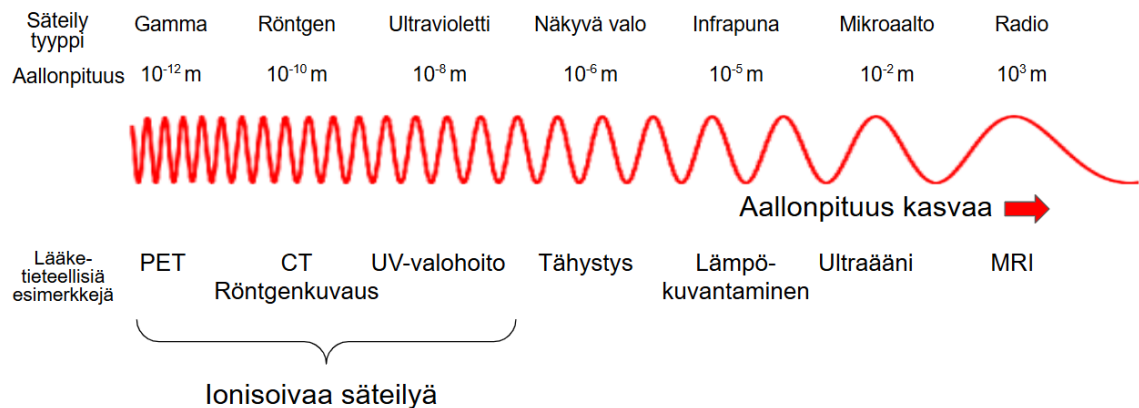
## 1.1 Lääketieteellinen kuvantaminen

Lääketieteellisen kuvantamisen tavoite on tutkia kehon sairauksia ja vammoja tarkkoilla rakenne- ja toimintakuvilla. Niistä voidaan tehdä diagnoosi tai poissulkea vaihtoehtoja ja näin auttaa hoidossa. Kehon fyysistä ja kemiallista rakennetta selvitetään esimerkiksi tutkimalla, paljonko eri kehonosat magnetisoituvat, johtavat sähköä, emissoivat tai läpäisevät säteilyä, sekä mikä niiden opasiteetti tai heijastavuus on.

Näiden ominaisuuksien muutoksia ajan kuluessa voidaan visualisoida dynaamisilla kuvilla eli tulokset kertovat kehon muutoksista ajan funktiona. Tällöin kohteesta otetaan yhden kuvan sijaan monta. Tuloksista voidaan analysoida esimerkiksi kudosten alkuainekoostumus, elektronitiheys sekä veren tilavuus ja virtaus. Ominaisuuksista muodostetaan anatomisia kuvia muun muassa magneettikuvantamisel-

la, jossa hyödynnetään eri kudosten magnetisoitumistasoja. PET-kuvat visualisoivat rakenteiden sijaan kehon eri funktionaalisia prosesseja käytetyn merkkiaineen mukaan. [3]

Kuvassa 1 näkyy, miten lääketieteellistä kuvantamista ja hoitoa tehdään koko sähkömagneettisella spektrillä. Ionisoiva säteily on suurenergistä säteilyä, joka pystyy muuttamaan kudoksen molekyyli­rakennetta ja sähkövarausta. Gamma-, röntgen- ja ultraviolettisäteily ovat ionisoivaa säteilyä, eli niiden käyttö vaurioittaa kuvattavaa aluetta, koska se rikkoo kudoksen rakennetta molekyyli­tasolla. Ionisoimaton säteily tuottaa lähinnä lämpöä eikä aiheuta haittaa. Eri säteilymuotoja voidaan käyttää yhdessä, jotta saadaan kokonaisvaltaisempi kuva. PET:in kanssa voi yhdistää esimerkiksi magneettikuvauksen, jolloin käytetään sekä gammasäteilyä että radioaaltoja.



Kuva 1: Esimerkkejä sähkömagneettisen säteilyn spektrin käyttöstä lääketieteellisessä kuvantamisessa.

### 1.1.1 Positroniemissiotomografia

PET-kuvaus on kuvantamismenetelmä, jossa käytetään lyhytikäisiä radioisotooppeja mittaamaan esimerkiksi veren läpivirtausta ja metabolista aktiivisuutta soluissa. Se pystyy tutkimaan molekyyli­tasolla tapahtuvia muutoksia ennen kuin anatomisia muutoksia pystytään huomaamaan.

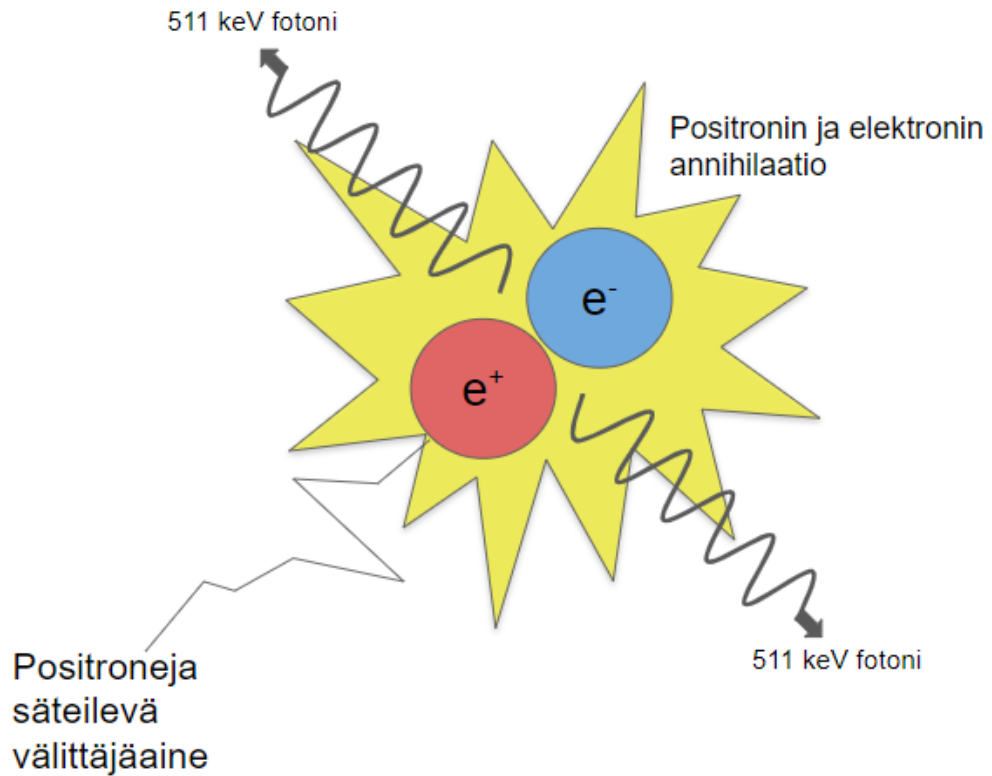
Radioaktiivinen merkkiaine on epävakaata ja säteilee potilaan sisällä saavuttaakseen vakauden, ja tässä reaktiossa merkkiaineen protoni muuttuu neutroniksi sekä positroniksi. Se on elektronin antihäukkanen eli sillä on sama massa kuin elektronilla, mutta sen varaus on positiivinen. Positroni liikkuu kehossa muutaman millimetrin törmäillen muihin atomeihin menettäen liike-energiänsä. Pysähtyessään se yhdistyy lähellä olevan elektronin kanssa, jolloin molemmat annihiloituvat ja syntyy kaksi fotonia, joiden energiat ovat 511 keV, mikä vastaa alkuperäisten partikkelien lepomassaa  $m_e = 0,511 \frac{\text{MeV}}{c^2}$ . Massan ja energian ekvivalenssi on helppo varmistaa Einsteinin tunnetuimmalla kaavalla 1 [4]. Elektronilla ja positronilla on sama massa  $m = 9,10938356 \cdot 10^{-31} \text{kg}$  ja valonnopeus  $c$  tunnetaan.

$$\begin{aligned}
 E &= mc^2 & (1) \\
 &= 9,10938356 \cdot 10^{-31} \text{kg} \cdot \left(299792458 \frac{\text{m}}{\text{s}}\right)^2 \\
 &= 8,18710565 \cdot 10^{-14} \text{J}
 \end{aligned}$$

Muutetaan joulet elektronivolteiksi, kun tiedetään, että  $1 \text{ eV} = 1,602 \cdot 10^{-19} \text{ J}$ .

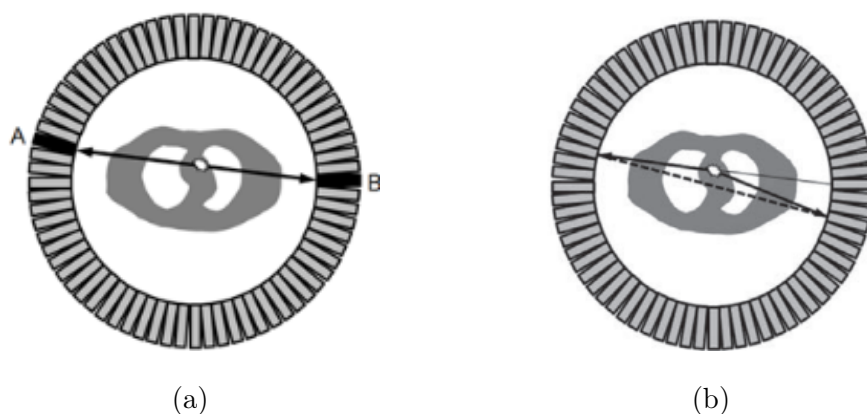
$$8,18710565 \cdot 10^{-14} \text{J} \cdot \frac{1 \text{ eV}}{1,602 \cdot 10^{-19} \text{J}} = 511055,284 \text{ eV} \approx 511 \text{ keV}$$

Partikkelin koko massa siis muuttuu energiaksi, ja koska ne ovat paikoillaan annihilaatiossa, niillä ei ole liike-energiaa. Annihilaatiossa ne säteilevät teoriassa täsmälleen eri suuntiin kuten kuvassa 2.



Kuva 2: Piirroskuva annihilaatiosta, jossa punainen pallo on positroni ( $e^+$ ), joka emittoituu kehoon saatetusta radioaktiivisesta merkkiaineesta. Sininen pallo on kehossa oleva elektroni ( $e^-$ ), johon positroni osuu, jolloin tapahtuu niiden annihilaatio. Siitä syntyy kaksi fotonia, jotka säteilevät vastakkaisiin suuntiin energioilla, mitkä vastaavat alkuperäisten partikkelien lepomassaa.

Potilasta ympäröivät detektorit ottavat vastaan annihilaatioista syntyneet fotonit. Tietokone laskee niiden saapumisajan ja energian perusteella yhdestä annihilaatiosta syntyneet fotonit, koska ne saapuvat vastakkaisille detektoreille korkeintaan muutaman nanosekunnin erolla, kuten kuvassa 3a. Fotonit voidaan tällöin olettaa pariaksi, eli oikeaksi tapahtumaksi, joka pystytään erottamaan muusta säteilystä.



Kuva 3: (a) Annihilaatiosta syntyneet fotonit saavat aikaan kaksi havaintotapahtumaa A ja B vastakkaisilla puolilla detektoria. (b) Annihilaatiosta syntyneet fotonit eivät aina emitoi täsmälleen vastasuuntiin, mikä huonontaa resoluutiota. Kuvat lähteestä [5].

Teoriassa annihilaatiossa fotonit lähtevät täsmälleen vastakkaisiin suuntiin, mutta positroni ei aina menetä kaikkea liike-energiaansa ennen annihilaatiota, jolloin käyttämätön momentti aiheuttaa noin  $\pm 0,25^\circ$  poikkeaman. Tämä ei ole ongelma esimerkiksi pienissä hiirille tehdyissä PET-laitteissa, joissa detektoriympyrän halkaisija on noin 15 cm, mutta koko kehoa kuvaavilla humaanelaitteilla halkaisija on noin 90 cm ja fotoni voi osua kokonaan väärään detektoriin kuten kuvassa 3b.

Kahdesta eri annihilaatiosta syntyneet fotonit voidaan myös virheellisesti määrittää pariiksi, jos ne sattumalta saapuvat kahdelle vastakkaiselle detektorille samaan aikaan. Fotoni voi myöskin sirota jo kehon sisällä ja muuttaa suuntaansa, jolloin tietokone määrittää annihilaation tapahtumispaikan mahdollisesti väärin.

Fotonit voivat silti vaimentua kehossa, vaikka ne eivät muuttaisi suuntaansa. Oikeita parinmuodostuksia on siis tehtävä myös fotoneilla, joiden energia ei ole täsmälleen 511 keV, joten PET-laitteet hyväksyvät fotoneita isommassa energiaikkunassa 511 keV ympärillä. Annihilaatiotapahtuma voi jäädä myös kokonaan lukematta, jos fotoni vaimenee niin paljon, että se jää kehoon. Fotoni voi myöskin kulkea detektorin läpi aiheuttamatta signaalia.

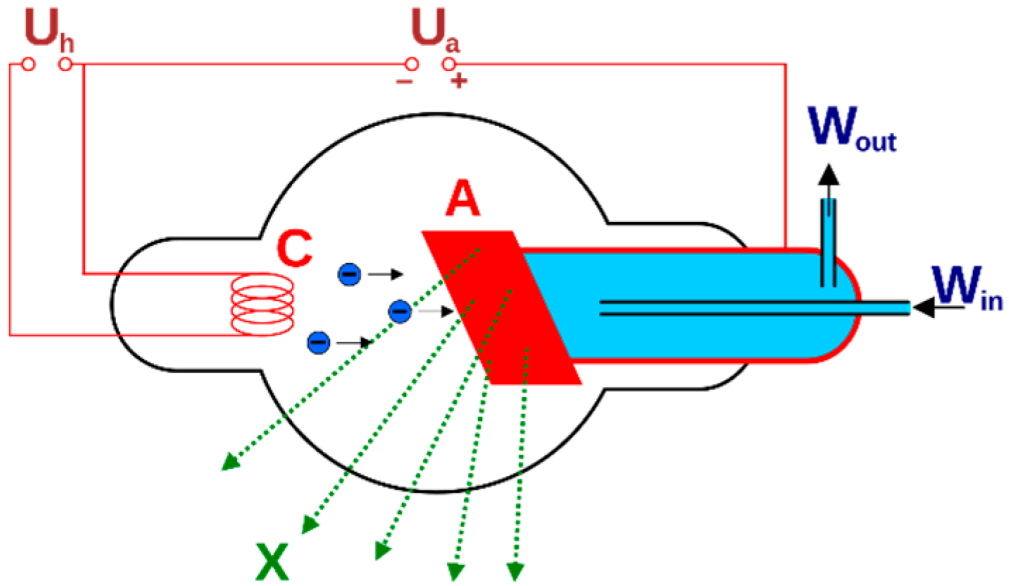
Säteilyä ei myöskään tapahdu pelkästään PET-laitteen keskiosassa, vaan lähempänä laitteen toista reunaa, jolloin pitemmän matkan kulkenut fotoni menettää enemmän energiaa. Se myös saapuu hieman myöhemmin, jolloin fotoneita ei välttämättä havaittaisi pariksi, joten aikaikkuna parinhavaitsemiselle ei voi olla liian pieni. Yleensä se on noin 12 ns, mutta jos oletetaan 90 cm halkaisijaa ja valonnopeus on  $3 \cdot 10^8 \frac{\text{m}}{\text{s}}$ , suurin mahdollinen ero fotonien saapumisella on noin 3 ns.

Merkkiainetta ei saa olla liikaa, koska detektorit ylisaturoituvat ja virheelliset parinmuodostukset lisääntyvät. Detektoreilla on myös hukka-aika havaitsemisen jälkeen, jolloin ne eivät voi tehdä heti uutta havaintoa. Liiallinen säteily lisää hukattujen havaintojen määrää. Mittausaika ja potilaan kyky olla paikoillaan rajoittavat myös resoluutiota. Tämä PET-kuvantamisen yhteenveto perustuu D.L. Baileyn ja kollegoiden kirjaan [5] .

### 1.1.2 Tietokonekerroskuvaus

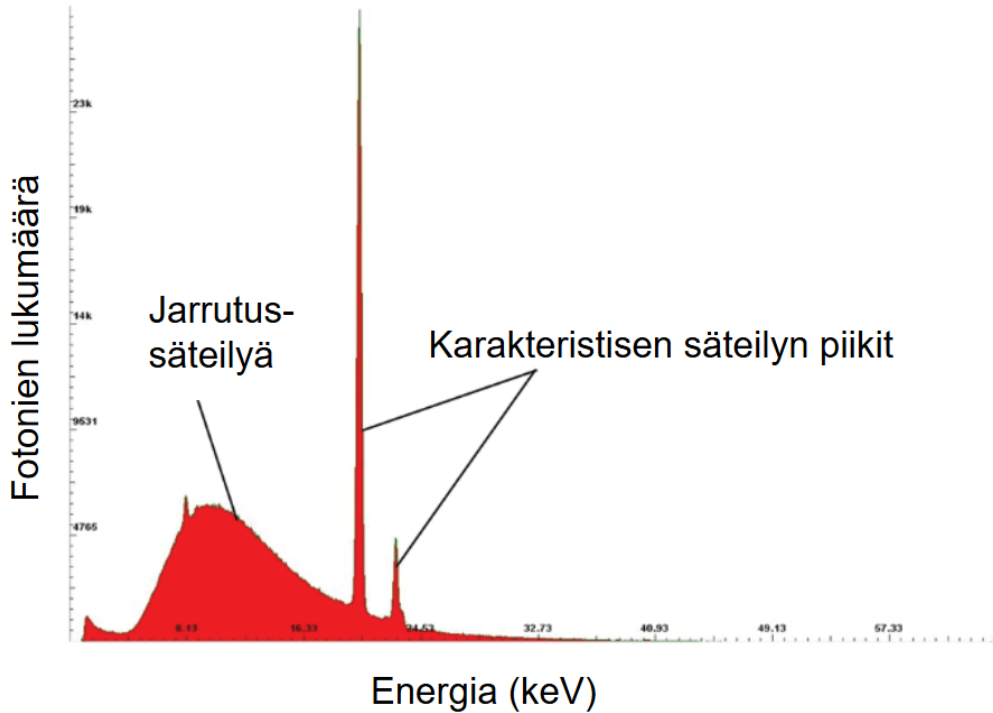
TT-kuvaus perustuu röntgensäteiden eritasoiseen vaimentumiseen erilaisissa kudoksissa riippuen kudoksen tiheydestä ja mistä alkuaineista se on koostunut. Röntgenputki liikkuu kuvattavan kehonosan ympäri ja osittain absorboituneet röntgensäteet saapuvat detektoreihin monesta eri kulmasta. Kuva-aineisto työstetään tietokoneella, jolloin saadaan kerroksittaisia kuvia, jotka muodostavat 3D-kuvan, kun ne asetetaan päällekkäin.

Röntgenputken perusosat on esitetty kuvassa 4. Potentiaalierolla  $U_a$  kiihdytetyt elektronit on merkitty sinisinä partikkeleina. Ne lähtevät hehkukatodilta C ja törmäävät anodiin A. Elektronit hidastuvat nopeasti anodin atomien sähkökentässä lähettäen sähkömagneettista säteilyä, jota kutsutaan jarrutus säteilyksi. Elektronien iskeytyminen anodiin tuottaa kuitenkin paljon lämpöä, minkä takia sitä jäähdytetään vedellä.



Kuva 4: Röntgenputken perusosat A: anodi, C: hehkukatodi, X: röntgensäteet,  $U_h$ : hehkujännite ja  $U_a$ : kiihdytysjännite,  $W_{in}$  ja  $W_{out}$ : vesijäähdyttimen lämpövuoto. Potentiaaliero kiihdyttää sinisellä merkityt elektronit katodilta anodille, jolloin vapautuu jarrutussäteilyä, sekä lämpöä. Kuva lähteestä [6].

Elektroni voi törmätessään myös iskeä anodissa atomista sisäkuoren elektronin irti eli ionisoida sen. Ulommalta kuorelta putoaa elektroni täyttämään tyhjän tilan, jolloin vapautuu energiaa sähkömagneettisena säteilynä. Tämän säteilyn energia on sama kuin elektronikuorten välinen energiaero ja sitä kutsutaan ominaissäteilyksi eli karakteristiseksi säteilyksi. Jokaisella alkuaineella on elektronien ominaiset energiatasot, joten aineen pystyy tunnistamaan sen ominaissäteilyspektristä. Röntgenspektrissä ominaissäteily erottuu intensiteettihiikkinä jatkuvasta jarrutussäteilystä, jota syntyy kun elektroni luovuttaa vain osan energiastaan törmätessään anodin atomiin. Lähteestä [7] saadussa kuvassa 5 näkyy taustasäteilystä erottuvat karakteristisen säteilyn hiikit. Spektrin anodimateriaalina käytettiin metallista alkuainetta volframia.



Kuva 5: Röntgensäteilyn spektri volframista tehdystä anodista. Jarrutussäteilystä erottuu aineen ominais säteilyä eli karakteristista säteilyä. Kuva suomennettu lähteestä [7].

Jatkuvan jarrutussäteilyn spektrin approksimaatio röntgenputkessa saadaan Kramersin lailla eli kaavalla 2. Kaavoissa käytetyt suureet ja yksiköt on koottu taulukkoon I. Kramersin laki annetaan yleensä säteilyn intensiteetin  $I$ , eli fotonien lukumäärän, jakautumana säteilyn aallonpituutta  $\lambda$  vastaan.

$$I_0(\lambda)d\lambda = K \left( \frac{\lambda}{\lambda_{\min}} - 1 \right) \frac{1}{\lambda^2} d\lambda \quad (2)$$

Jossa  $I_0(\lambda)d\lambda$  on säteilyn intensiteetti aallonpituuden pituuden välillä  $d\lambda$ ,  $K$  on vakio, joka riippuu anodin atomiluvusta,  $\lambda_{\min}$  on lyhin säteilty aallonpituus ja  $\lambda$  on aallonpituus välin  $d\lambda$  keskellä. [8] [9]

Röntgenspektrissä pienin mahdollinen aallonpituus eli  $\lambda_{\min}$  saadaan silloin, kun fotonilla on suurin mahdollinen energia, eli kun elektroni antaa koko liike-energiansa

yhdelle fotonille.

$$\begin{aligned}
 E_{kin} &= eU_a \\
 hf_{\max} &= eU_a \\
 f_{\max} &= \frac{eU_a}{h}
 \end{aligned}$$

$E_{kin}$  on kiihdytettyjen elektronien saama liike-energia,  $e$  on elektronin varaus,  $U_a$  on potentiaaliero röntgenputken katodin ja anodin välillä,  $h$  on Planckin vakio ja  $f_{\max}$  on taajuuden maksimiarvo. Sitä voidaan kuvata myös  $f_{\max} = \frac{c}{\lambda_{\min}}$  jolloin saadaan Duane Huntin kaava 3, joka kuvaa aallonpituuden minimiä.

$$\lambda_{\min} = \frac{hc}{eU_a} \quad (3)$$

Jossa  $c$  on valonnopeus. Aallonpituuden maksimi on suurin piirtein 1,5-kertainen sen minimiin nähden, mutta riippuu myös jännitteestä sekä atomiluvusta. [9]

Taulukko I: Suureet ja niiden yksiköt

Suure	Selitys	Yksikkö
Säteilyn intensiteetti	$I_0$	[-]
Aallonpituus	$\lambda$	[nm]
Vakio	$K$	[-]
Kineettinen energia	$E_{kin}$	[J]
Elektronin varaus	$e$	[C]
Potentiaali	$U_a$	[V]
Planckin vakio	$h$	[Js]
Taajuus	$f$	[Hz]
Valon nopeus	$c$	$\left[\frac{m}{s}\right]$

### 1.1.3 Koe-eläinten käyttö PET- ja TT-kuvantamisessa

Ihmisten ja eläinten, varsinkin nisäkkäiden, fysiologiset prosessit ovat monimutkaisia, mutta samankaltaisia. Samankaltaisuuksien ansiosta koe-eläimillä voidaan tehdä kokeita, jotka edistävät sekä ihmisten että eläinten sairauksien hoitoa ja ehkäisemistä. Koe-eläinten käyttöä valvoo ja kontrolloi EU-lainsäädäntö ja alueelliset hallintovirastot Suomessa. Siihen vaikuttaa myös yleinen mielipide ja tutkimus vaihtoehtoisille tavoille tehdä sama tutkimus. Lainsäädäntö vaatii useimmissa maissa kohteemaan koe-eläimiä hyvin, mutta myös vastakkaisesti testaamaan eläimillä ennen uusien lääkkeiden antamista ihmisille.

Eläinkokeissa painotetaan 3R:n sääntöä, joka tulee englanninkielisistä sanoista reduction, refinement ja replacement. Eläimiä pyritään siis käyttämään mahdollisimman vähän, niiden hoito ja toimenpiteet tehdään mahdollisimman hyvin kohtuullisissa rajoissa tuottamatta ylimääräistä kipua tai kärsimystä. Koe-eläimiä ei tulisi myöskään käyttää, jos koe-asetelma on mahdollista korvata esimerkiksi kudosviljelyn avulla.

Lääkeaineiden kehitys ja turvallisuus on kasvanut valtavasti viime vuosikymmenien aikana eläinmallien ansiosta. Niillä on suuri merkitys kokeellisessa tutkimuksessa, kun etsitään rokotteita ja lääkkeitä, jotka hoitaisivat tai jopa parantaisivat esimerkiksi AIDS:in ja Parkinsonin taudin [10]. Tässä opinnäytetyössä käytettiin jo olemassa olevia kuvia rotista ja hiiristä, eikä sitä varten tehty uusia kokeita.

PET- ja TT-laitteiden toimintaperiaatteiden takia kuvat onnistuvat vain, jos kuvattavat eläimet ovat paikoillaan, joten ne on nukutettu ja anestesiaa pidetään koko kuvauksen ajan, jotta ne pysyisivät paikoillaan ilman stressiä aiheuttavaa pakottamista. *In vivo* -kuvantaminen mahdollistaa myös sen, että sairauden kehityksen tarkkailemiseen tarvitaan vähemmän eläimiä, kun samoja eläimiä voidaan kuvantaa toistuvasti. Ilman tätä mahdollisuutta koe-eläimiä pitäisi olla moninkertainen määrä, koska osa jouduttaisiin lopettamaan kokeen edetessä, jotta saataisiin

dataa myös kokeen ajalta, eikä pelkästään loppuvaiheessa. [11]

## 1.2 Kuvien analysointi

Lääketieteellisten kuvien tulkinta vaatii kuvattavan kohteen rakenteiden analysointia, ja tutkimusten tulosten pitää olla toistettavia ja vertailtavia, jotta ne olisivat luotettavia. Siksi on tärkeää, että kokeita ja analysointia standardisoidaan ja validoidaan. Koe-eläimistä otettuihin kuviin ja tuloksiin vaikuttavat myös vaikeammin määritellyt muuttujat, kuten anestesian määrä ja käyttö, eläinten käsittely ja miten dataa saadaan ja käsitellään.

### 1.2.1 Neuroanatominen analyysi atlaksilla

Atlakset koostuvat useista kolmiulotteisista kuvista, jotka muodostavat keskiarvoisen standardisoidun kuvan esimerkiksi aivoista. Ihmisille ja koe-eläimille on monia atlaksia esimerkiksi eri sairauksia varten, ja niitä on saatavilla kirjoina tai digitaalisesti.

Yksittäisen kuvan taustakohinaan saattaa hukkua tiettyjä signaaleja, mutta monesta kuvasta yhdistetty keskiarvoinen malli paljastaa herkemmin nämä heikommatkin signaalit, jos ne toistuvat lajin sisällä. Atlaksia käytetään aivokuvien analysoinnissa, koska voimakkaat poikkeavat signaalit yksittäisestä kuvasta näkyvät selkeästi verrattaessa atlakseen. Atlakset eroavat toisistaan muun muassa kuvauksen kohteen iän, sukupuolen, aivojen puoliskojen epäsymmetrian, anatomisen vastaavuuden ja aivojen avaruudellisen normalisointimenetelmän (eng. spatial normalization) perusteella. Kaikki atlakset eivät ole keskenään yhteensopivia, mutta eri atlaksia vertailemalla saadaan tietoa eri laboratorioissa käytettävistä kuvantamismalleista ympäri maailmaa. Atlaksissa säilyy tietoa lajin keskiarvoista ja vaihtelusta anatomisissa ja fysiologisissa muuttujissa iän ja sairauksien mukaan. [12]

### 1.2.2 ROI-analyysi

ROI-analyysiä (eng. Region Of Interest) käytetään prekliinisissä PET-kuvissa mitaamaan radioaktiivisen merkkiaineen aktiivisuutta aivojen eri osissa. PET-kuvat ovat kolmiulotteisia, joten teknisesti terminä ROI on väärin, koska se viittaa kaksiulotteiseen alueeseen. Oikeampi termi olisi VOI (eng. Volume Of Interest), joka kuvastaa paremmin esimerkiksi aivojen eri osien tilavuuksia, mutta tästä käytetään selkeyden ja termien vakiintumisen vuoksi vanhaa merkintää.

ROI:t voidaan piirtää käsin tai käyttää atlaksien valmiita tai muokattuja pohjia. Näiltä määritetyiltä anatomisilta alueilta mitataan PET-merkkiaineen aktiivisuutta mega Becquerelleissa (MBq). Vertailtavuuden vuoksi alueista määritetään standardoitu ottoarvo (SUV, eng. Standardized Uptake Values) sekä kudospiltilitraa kohti injektoitu annos (ID, eng. Injected Dose). SUV on isotooppilääketieteessä käytetty termi, jota käytetään paljon PET-kuvantamisessa. Epätavalliset SUV-arvot ilmentävät muutoksia aineenvaihdunnallisessa aktiivisuudessa ja auttavat löytämään esimerkiksi kasvaimia.

SUV on suhde ROI-alueen keskiarvoisen aktiivisuuden eli periaatteessa aktiivisuustiheyden ( $\frac{\text{MBq}}{\text{ml}}$ ) ja koko kehoon injektoidun annoksen välillä (MBq), kun kuvattavan paino (g) otetaan huomioon kertomalla se. SUV esitetään usein yksiköttömänä, koska saatu arvo on  $\frac{\text{g}}{\text{ml}}$  ja kehon keskiarvoinen tiheys on  $1 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$ , jolloin saatu arvo supistuu yksiköttömäksi ja on karkea arvio merkkiaineen imeytymisestä.

$\frac{\%ID}{\text{ml}}$  on toinen PET-kuvantamisessa käytetty määritelmä kuvaamaan ROI-alueiden aktiivisuutta. Se on suhde ROI-alueen keskiarvoisen aktiivisuuden ( $\frac{\text{MBq}}{\text{ml}}$ ) ja kehoon injektoidun annoksen välillä (MBq), mutta se ei ota huomioon kehon painoa tai tilavuutta niin kuin SUV. Se esitetään injektoidun annoksen prosenttiosuutena yhdessä millilitrassa tai grammassa kudosta.

Kaava 4 kuvaa, miten SUV-arvot lasketaan, ja kaava 5 kuvaa  $\frac{\%ID}{\text{g}}$  arvoja.  $\frac{\%ID}{\text{g}}$  voidaan myös merkitä  $\frac{\%ID}{\text{ml}}$  lähteestä riippuen.

$$\text{SUV} = \frac{\text{Keskiarvoinen ROI-aktiivisuus}(\frac{\text{MBq}}{\text{ml}})}{\text{Injektoitu annos (MBq)/Paino(g)}} \quad (4)$$

$$\frac{\%ID}{g} = \frac{\text{Keskiarvoinen ROI-aktiivisuus}(\frac{\text{MBq}}{\text{ml}})}{\text{Injektoitu annos (MBq)}} \cdot 100\% \quad (5)$$

Molempia käytetään tutkimaan keskiarvoista ROI-aktiivisuutta, kun se muuttuu ajan kanssa merkkiaineen kerääntyessä eri alueille. SUV ottaa huomioon kohteen massan, mutta sillä on myös monia ongelmia, koska se ei esimerkiksi ota huomioon lihas- ja rasvakudoksen jakautumista, merkkiaineen vaihtelevaa kertymää tai kuinka kauan eri kuvaukset kestävät. Nämä semikvantitatiiviset menetelmät antavat vertailukelpoisia tuloksia, mutta ovat kuitenkin arvioituja. [11]

## 2 Menetelmät

### 2.1 Data

SAPP-ohjelmistolla tutkittiin hiirten ja rottien PET- ja TT-kuvia, jotka olivat DICOM-tiedostomuodossa (Digital Imaging and Communications in Medicine). Kuvissa oli joko yksi tai kaksi eläintä rinnakkain. Taulukossa II ja III on esitetty SAPP-ohjelmiston tarvitseman Info.xlsx-tiedoston sisältö. Annokset on merkitty bequerelleissa, painot grammoissa ja mittausajanjaksot (eng. Time frame) sekunneissa. Kaikki käytetyt PET-kuvat ovat dynaamisia, eli aktiivisuuden muutosta tutkitaan ajan funktiona. Mittausajanjaksot kuvaavat, miten dynaaminen kuva on otettu. PET-kuvaus on aloitettu sillä hetkellä, kun merkkiaine on injektoitu, ja esimerkiksi kuvassa P102949 on ensin otettu kuusi kymmenen sekunnin mittausajanjaksoa, sitten neljä yhden minuutin mittausajanjaksoa ja niin edelleen. Alussa merkkiaineen konsentraatio muuttuu eniten, koska se on silloin aktiivisimmillaan ja alkaa levitä

verenkierrassa. Lopussa konsentraatio kehossa on tasaisempi ja merkkiaineen aktiivisuus on matalampi, joten mittausajanjaksot ovat pitempiä. Mittausajanjakson sisällä merkkiaineen pitää hajota tarpeeksi, jotta saadaan tarpeeksi datapisteitä, eli luotettava tulos aktiivisuudesta. Liian lyhyt mittausajanjakso johtaa kohinaan, mutta liian pitkä ajanjakso aiheuttaa myös virheellisen tuloksen, koska siinä menetetään informaatiota. Mittausajanjaksojen pituus ja määrä vaihtelevat eri tutkimusten välillä käytetyn merkkiaineen ja kuvattavan kohteen mukaan.

Taulukko II: SAPP-ohjelmistolla tutkittu data

Kuva	Laji	Puoli	Annos (MBq)	Paino (g)
P102949	Rotta	Oikea	33	270
P102949	Rotta	Vasen	32	244,1
P131960	Hiiri	Oikea	4,3	37,7
P131960	Hiiri	Vasen	3,7	33
P131962	Hiiri	Oikea	4,4	36,3
P131962	Hiiri	Vasen	4,5	34,6
P100292	Hiiri	Oikea	7,96	45,90
P100292	Hiiri	Vasen	7,87	44,90
ae3127	Hiiri	Oikea	2,36	38,50
ae3127	Hiiri	Vasen	1,59	41,60
P131512	Rotta	Oikea	16,86	234,2
P131512	Rotta	Vasen	20,71	237,3

Taulukko III: Mittausajanjaksot eri kuvissa sekä käytetty merkkiaine

Kuva	Mittausajanjaksot (s)	Merkkiaine
P102949	6x10, 4x60, 5x300, 9x600	Ei tiedossa
P131960	6x10, 4x60, 5x300, 3x600	[18F]RVA
P131962	6x10, 4x60, 5x300, 3x600	[18F]RVA
P100292	30x10, 15x60, 4x300, 2x600	[18F]FDG
ae3127	5x60, 5x300	[18F]FMPEP-d <sub>2</sub>
P131512	30x10, 15x60, 4x300, 2x600, 3x1200	[18F]FPATPP

Merkkiaineet ovat PET-kuvaamisessa käytettyjä fluoripohjaisia radiolääkkeitä. Erilaisissa mittauksissa tarvitaan erilaisia merkkiaineita, koska niissä tutkitaan eri asioita. Esimerkiksi 18F-fluorideoksiglukoosi eli FDG on glukoosin johdannainen, jolloin se kerääntyy sokeria käyttäviin kudoksiin, kuten syöpäkasvaimiin.

## 2.2 Toteutuslusta

### 2.2.1 MATLAB

MATLAB [2] on tietokoneohjelmisto ja ohjelmointikieli, jota käytetään monilla aloilla sekä akatemiassa että teollisuudessa. Sillä voi käsitellä matriiseja, funktioita, toteuttaa algoritmeja, luoda käyttöliittymiä ja visualisoida dataa. SAPP on tehty MATLAB:issa, koska sitä käytetään usein lääketieteellisessä tutkimuksessa ja siinä on monia funktioita ja työkaluja kuvien prosessointia varten. Alkuperäinen SAPP on kehitetty MATLAB:in versiolla R2016b (versio 9.1) [1] ja päivittäessä siitä käytettiin versiota R2024b (versio 24.2).

### 2.2.2 SPM

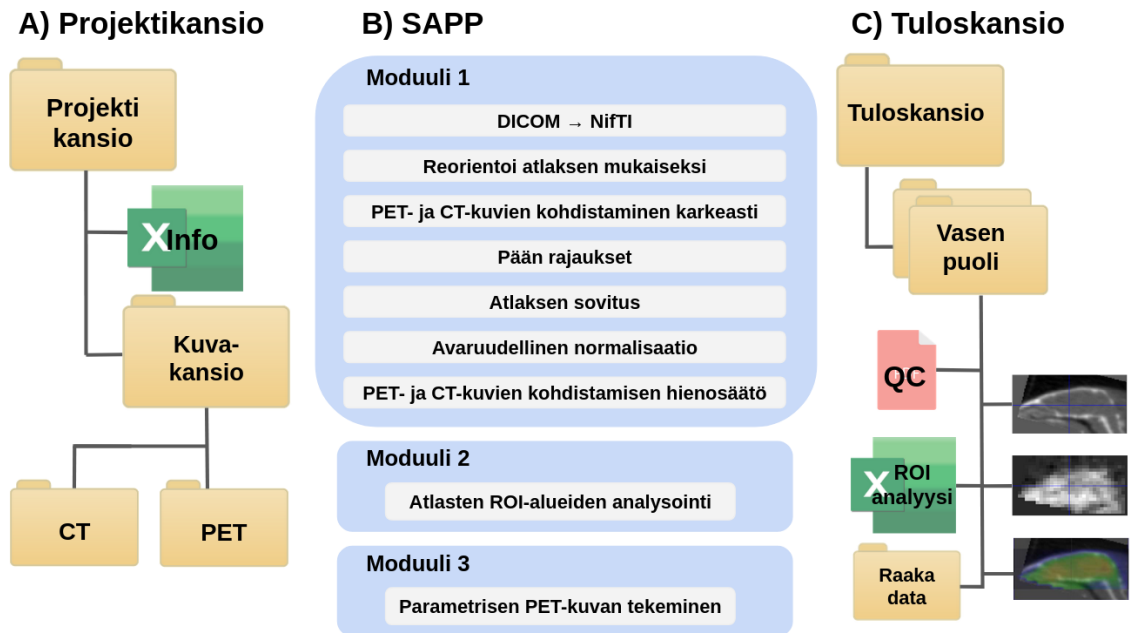
SPM-valmisohjelmistoa (eng. Statistical parametric mapping) [13] käytetään laajasti aivokuvantamisessa käytettävän datan käsittelyssä. SPM:ää käytetään MATLAB:ssa ja se sisältää monia funktioita ja aliohjelmia sekä kuva- että tilastoanalyysissä. SPM on tärkeä osa SAPP-ohjelmiston rakennetta ja analyysia, ja päivittämisen aikana SPM:stä käytettiin versioita 12 ja 25.

### 2.2.3 Carimas

Carimas [14] on Turun PET-keskuksessa lääketieteellisten kuvien käsittelyyn kehitetty visualisointi- ja analysointiohjelmisto, jota käytetään SAPP-ohjelmiston käsittelemien kuvien avaamisessa ja ongelmanratkaisussa. Se ei ole osa SAPP-ohjelmiston analyysia, mutta sillä voidaan esimerkiksi tarkistaa, onko SAPP asettanut TT- ja PET-kuvat kohdakkain.

## 2.3 SAPP-ohjelmiston rakenne

SAPP vaatii tiedot tietyssä tiedostorakenteessa toimiakseen, ja kuvat DICOM-tyyppisinä. Kuvassa voi olla joko kaksi eläintä rinnakkain tai yksi keskellä. Kuvassa 6A on esitetty projektikansion rakenne, jossa sen sisällä on kuvakansio sekä Excel-tiedosto Info.xls, jossa on koe-eläinten tunnistetiedot, paino ja injektoitu merkkiaineannos. Kuvakansion sisällä on TT- ja PET-kansiot, joissa koe-eläinten kuva on DICOM-tyyppisinä, eli ne sisältävät satoja kuvaleikkeitä yksittäisinä kuvina, joita SAPP käy läpi. Tulokansion rakenne on esitetty C-kohdassa. Jokaisella eläimellä on oma kansio, joka sisältää laaduntarkastustiedoston, ROI-analyysin tulokset, alkuperäisen kuva-aineiston, rajatut ja käänneilyt TT- ja PET-kuvat sekä parametrin PET-kuvan eli normalisoidun PET-kuvan, jonka pikselit sisältävät lasketut SUV ja  $\frac{\%ID}{g}$  kudosaarvot  $\frac{Bq}{ml}$ :n sijaan.



Kuva 6: SAPP-ohjelmiston tiedostorakenne. A) Projektikansion sisällä on Excel-tiedosto koe-eläinten tiedoille ja kuvakansio, joissa on TT- ja PET-kuvat DICOM-tyyppisinä. B) Ensimmäisessä moduulissa SAPP muuttaa DICOM-tiedostot NifTI-tyyppisiksi, jonka jälkeen se reorientoi kuvat atlaksen mukaiseksi, yhdistää PET- ja TT-kuvat päällekkäin karkeasti ja rajaa päät. Seuraavaksi se sovittaa atlakset ja tekee avaruudellisen normalisaation ja hienosäätää PET- ja TT-kuvien kohdistamista. Toisessa moduulissa SAPP analysoi atlasen asettamat ROI:t ja kolmannessa moduulissa tekee parametrinen PET-kuvan. C) Lopuksi tulokansiossa on oma alakansio erikseen rajatuille vasemman ja oikean puolisen koe-eläimen päälle. Alakansiossa on laaduntarkastustiedosto (QC), ROI-analyysin tulokset, raaka data, rajatut ja käännetyt TT- ja PET- kuvat sekä parametrinen PET-kuva.

SAPP-ohjelmiston voi suorittaa kerralla alusta loppuun, mutta se on mahdollista suorittaa kolmessa eri osassa eli moduulissa. Kuvan 6 B-kohdassa on esitetty, mitä SAPP-ohjelmiston kolme eri moduulia tekevät. Ensimmäisen moduulin nimi on kuvien esikäsittely (eng. Pre-process datasets) ja siinä kuvat esikäsitellään eli valmistetaan analysointiin. Toinen moduuli on rajattujen kuvien eli koe-eläinten päi-

den analysointi (eng. Analyze subjects). Kolmas moduuli on parametristen kuvien muodostaminen (eng. Compute parametric PET images).

### 2.3.1 Moduuli 1: Kuvien esikäsittely

Ensimmäistä moduulia varten käyttöliittymässä annetaan parametreiksi datasettien sijainti, onko kyseessä hiiri vai rotta, ja rotan tapauksessa valitaan vielä, käytetäänkö Sprague-Dawley vai Fischer-lajin rotilla tehtyä atlasia.

SAPP-ohjelmiston käyttämä avaruudellinen normalisaatiomenetelmä vaikuttaa atlaksen ja kuvien yhteenasettamiseen. Käyttöliittymässä valitaan myös, millaista kohdistusta halutaan käyttää. Joustamattomassa kohdistuksessa (eng. rigid alignment) vain translaatiot ja rotaatiot ovat sallittuja TT-kuvan muuttamisessa atlakseen sopivammaksi. Affinikohdistuksessa (eng. affine alignment) kuvaa voidaan kääntää, venyttää ja skaalata, eli se on vapaampi kuin joustamaton kohdistus. Tässä projektissa käytettiin vain affinikohdistusta.

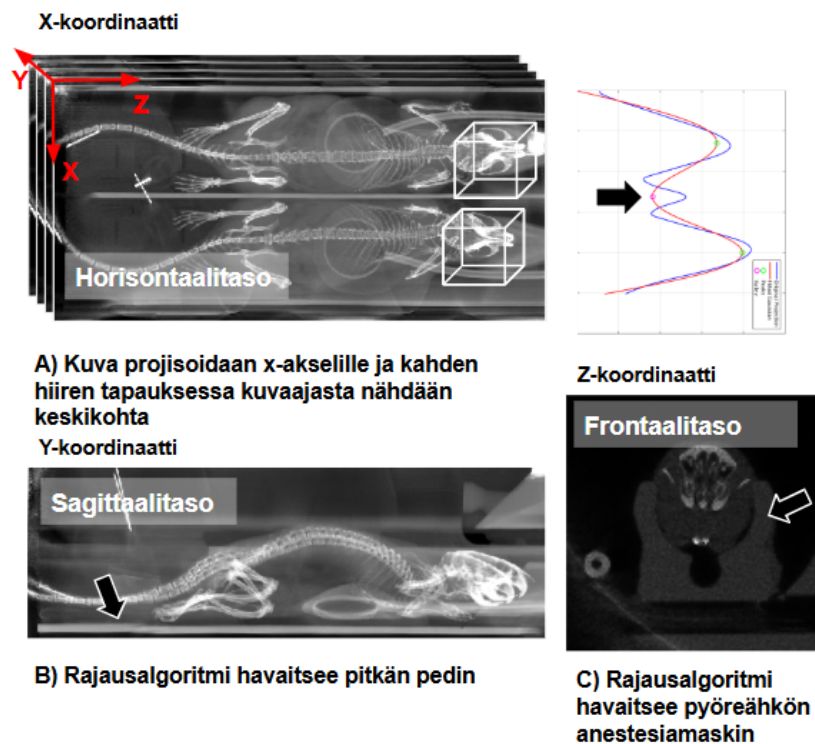
Parametrit ja tarvittavat ohjeet saatuaan SAPP muuttaa DICOM-tyyppiset kuvat yhdeksi NifTI-tiedostoksi ja pääkoodissa (`sapp_main.m`) jatkaa PET- ja TT-kuvien kohdistamiseen, mutta esikäsittelyn pääkoodissa (`sapp_main_preprocess.m`) se reorientoi kuvat atlaksen mukaiseksi tässä välissä. PET- ja TT-kuvat asetetaan päällekkäin eli kohdistetaan niin, että anatomisesta TT-kuvasta pystyy näkemään, missä PET-kuvan aktiivisuus on, ja niitä on mahdollista kohdella yhtenä kuvana. Käytännössä SAPP ei aina onnistu siinä, eli toinen kuva ei ole aivan kohdallaan. Sen takia ne asetetaan ensin karkeasti päällekkäin ja hienosäätö tapahtuu pään rajauksen jälkeen.

#### 2.3.1.1 Rajaus

Koe-eläimen pää rajataan algoritmilla, joka käyttää anestesiaamaskia ja alustaa rajauksessa kuten kuvassa 7 näkyy. Kokeesta riippuen kuvassa voi olla joko yksi tai

kaksi eläintä, ja jälkimmäisessä tapauksessa molempien päät pitää rajata erikseen. TT-kuva projisoidaan x-akselille yksiulotteiseksi käyräksi, jolla on yhden kuvattavan tapauksessa yksi huippu ja kahdella syntyy kaksi huippua. X-koordinaatiksi, joka erottaa kaksi eläintä toisistaan, valitaan tällöin kahden huipun välistä pienin arvo.

Y-koordinaatti saadaan alustasta, jolla koe-eläin makaa kuvauksen ajan. Sagittaalitasossa alusta näyttää vaakasuoralta, ja algoritmi havaitsee sen ja asettaa koordinaatin. Z-koordinaatti saadaan anestesiaamaskista, joka näkyy frontaalitasossa (eng. Coronal view) ympyränmuotoisena kuviona, jonka algoritmi havaitsee.



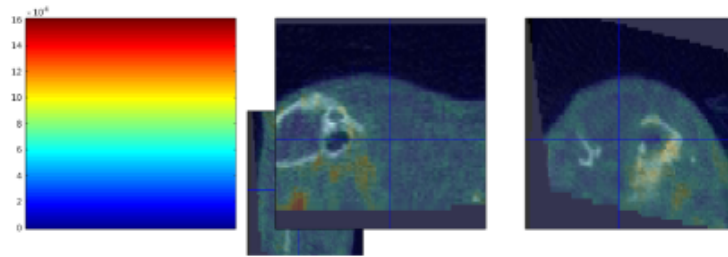
Kuva 7: Rajausalgoritmin toimintaperiaate A) Koe-eläimen pään rajaava algoritmi saa x-koordinaatin projisoimalla kuvan yksiulotteisesti x-akselille. B) Sagittaalitasossa peti näkyy pitkänä vaakasuorana viivana, jonka algoritmi havaitsee ja asettaa y-akseliksi. C) Frontaalitasossa anestesiaamaski näkyy ympyränmuotoisena kuviona, jonka rajausalgoritmi havaitsee ja asettaa z-koordinaatin sen mukaan.

Esikäsittelyn alussa pitää määrittää parametrina, kuvataanko hiiriä vai rottia. Koordinaatit löydettyään algoritmi leikkaa TT-kuvista kuution, jonka tahkon sivun pituus on hiirien tapauksessa noin 22 mm ja rotilla 44 mm. PET-kuvissa kuvamatriisin koko on erilainen, joten koordinaatit, jotka perustuvat TT-kuviin, pitää muuttaa vastaaviin tilavuusalkioihin (eng. voxel) alla olevalla kaavalla 6.

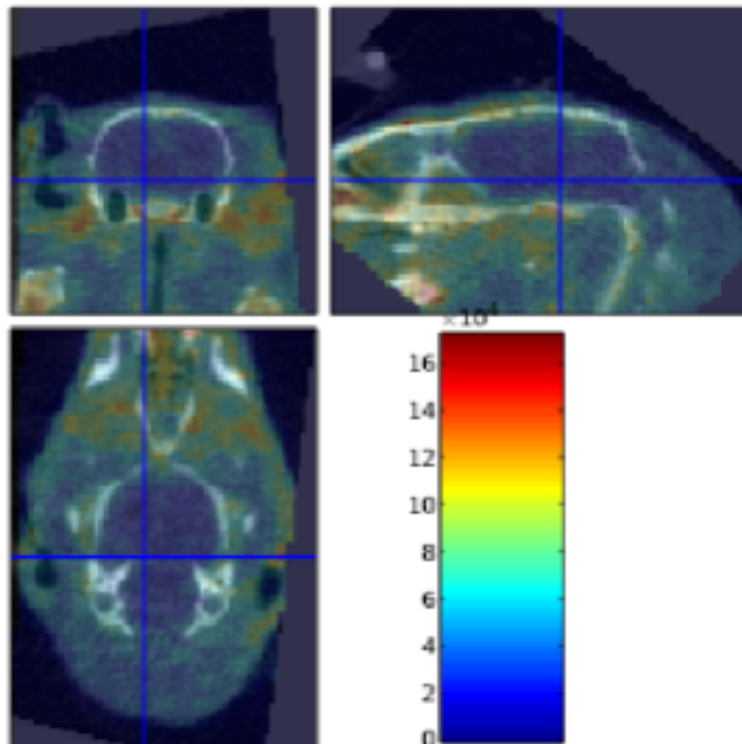
$$XYZ_{PET} = M_{PET}^{-1} \cdot M_{TT} \cdot XYZ_{TT} \quad (6)$$

TT-kuviin perustuvat koordinaatit ( $XYZ_{TT}$ ) skaalataan, kierretään tai peilataan affiinikuvauksella matriiseilla ( $M_{TT}$ ). Arvot muutetaan vastaaviin PET:ssä ( $XYZ_{PET}$ ) kertomalla PET:in käänteismatriisilla ( $M_{PET}^{-1}$ ).

Epäonnistuneessa rajauksessa algoritmi ei löytänyt kuvattavan päätä, eli se voi olla kokonaan tai osittain rajauksen ulkopuolella, kuten kuvassa 8a. Koodi asetti myös skaalaus pilarin yhdeksi kuvaksi, jolloin oikea kolmas kuva jäi keskimmäisen alle. Se korjattiin, ja kuvassa 8b näkyy kaikki kuvat, sekä onnistunut rajausta kolmesta eri suunnasta.



(a) Epäonnistunut rajausta ja kuvien asettelu



(b) Onnistunut rajausta ja kuvien asettelu

Kuva 8: Kuvakaappauksia kuvan P102949 oikean puolisen rotan laaduntarkastuskansiosta (a) Epäonnistunut pään rajausta ja ote laaduntarkastustiedostosta ennen kuin asettelu korjattiin (b) Onnistunut pään rajausta laaduntarkastustiedoston asettelyn korjaamisen jälkeen

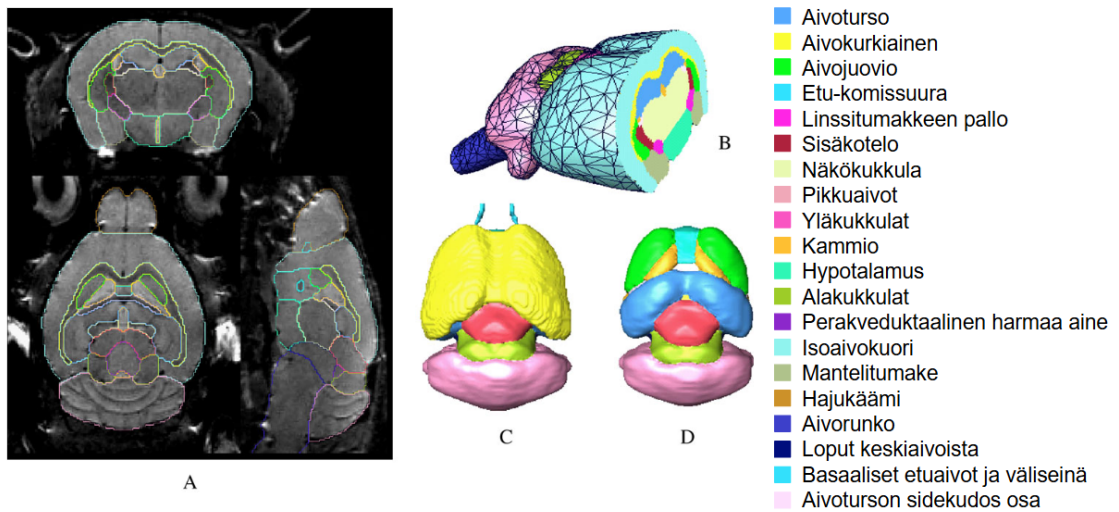
### 2.3.1.2 TT- ja PET-kuvien kohdistaminen

Ennen rajausta PET- ja TT-kuvat kohdistettiin karkeasti, jotta ne olisivat päällekkäin ja niitä voitaisiin kohdella yhtenä kuvana. Rajauksen jälkeen tapahtuu koh-

distuksen hienosäätö. Dynaamisella PET-kuvalla otetaan kaikista aikapisteistä keskiarvo, jotta saadaan paras mahdollinen kohdistus TT-kuvan kanssa.

### 2.3.1.3 Atlas sovitus

Käytetyt atlakset ovat avoimesta lähdekoodista ja koostuvat  $T_2$ -painotetuista MRI-kuvista, sekä aivojen tärkeimpiä anatomisia alueita vastaavista ROI-alueista. Hii-riatlaksena käytettiin lähteen [15] atlasista ja se koostuu yleisimmän koehiirikan-  
nan (C57BL/6J) kahdestatoista täysikasvuudesta uroshiirestä. Kuvat otettiin *in vivo* magneettiresonanssimikroskoopilla (MRM). SAPP-ohjelmistoa varten ROI:ta myös muutettiin, nimettiin uudelleen ja pienennettiin 5 % eli analyysivaiheessa ei saada täsmälleen kuvan 9 ROI:ta. Sama tehtiin myös rottien atlakselle. [16]

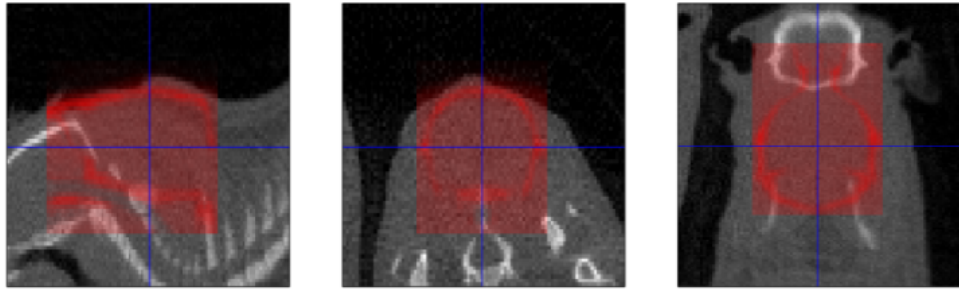


Kuva 9: (A) Hiiren aivojen frontaali-, horisontaali- ja sagittaalitasot kolmiulotteisessa *in vivo* MRI-kuvassa. Aivojen eri alueet on rajattu eri värisillä viivoilla. (B) Rekonstruoitu kolmiulotteinen poikkileikattu kuva atlaksesta (C) Aivojen syvemmät osat. Kuvasta poistettu näkyvistä neokorteksi, hajukäämi ja aivorunko. (D) Aivojen eri osia. Kuvasta poistettu aivokurkiainen ja etu-kommissuura. Kuva suomen-  
nnettu lähteestä [15]

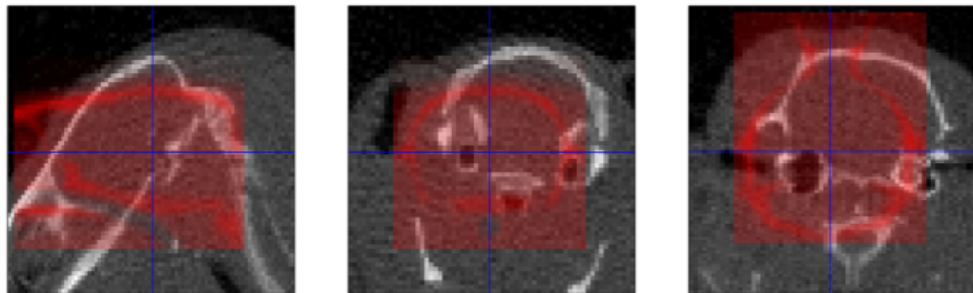
Rotta-atlaksena käytettiin lähteen [17] atlasista ja se koostuu täysikasvuista

Sprague-Dawley -linjan urosrotista. ROI:sta tehtiin kaksi eri versiota, joista ensimmäisessä ROI:t nimettiin erikseen vasemmalle ja oikealle aivopuoliskolle ja toisessa vasenta ja oikeanpuolista ROI-aluetta ei erotettu nimillä. Vasemman ja oikean puolen erottavalla ROI-ryhmällä alueita on 55 ja toisella ryhmällä 30. ROI-alueita on enemmän kuin hiirellä, koska rotan aivot ovat suuremmat ja ne jaetaan useampiin anatomisiin alueisiin.

Rajauksen jälkeen SAPP asettaa punaisen referenssikuvan TT-kuvan päälle kuten kuvassa 10. Ylempänä on visualisoitu epäonnistunut sovitus, kun pään automaattinen rajaus on virheellinen ja alempana onnistunut sovitus, kun käyttäjä on tehnyt rajauksen SAPP-ohjelmistolla manuaalisesti. Epäonnistuneessa sovituksessa TT-kuvaa ei saada sovitettua referenssiin kääntämällä tai siirtämällä, koska osa päästä on rajautunut pois, mutta onnistuneessa alustavassa sovituksessa se on mahdollista. Vasemman puoleinen kuva saadaan sopimaan referenssiin kääntämällä kuvaa noin  $45^\circ$  myötäpäivään. Keskimmaisessä ja oikean puoliosassa riittää siirtäminen, mutta epäonnistuneessa sovituksessa näkyy, että keskimmaisessä ei näy kallon luita ja oikean puoliosassa osa päästä on rajautunut pois.



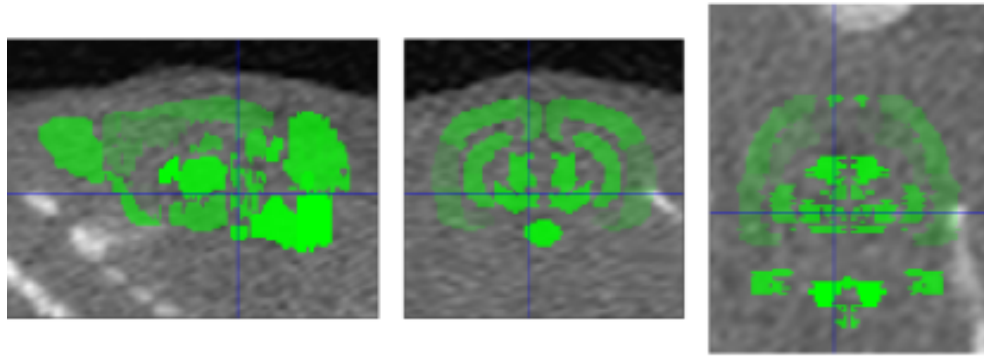
(a) Epäonnistunut alustava sovitus



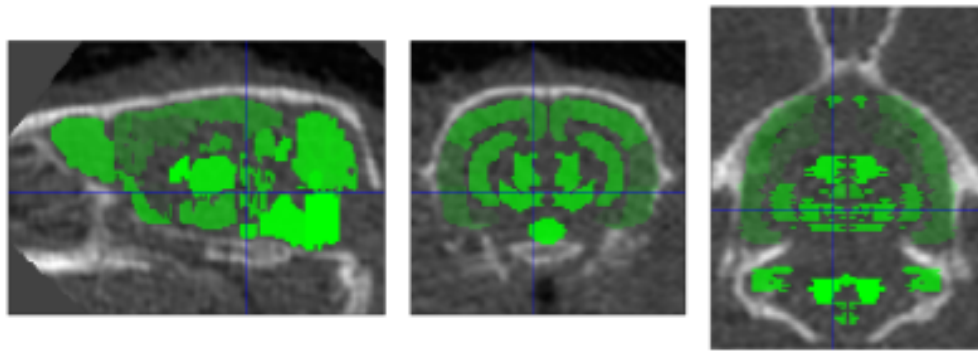
(b) Onnistunut alustava sovitus

Kuva 10: Kuvakaappauksia kuvan P102949 vasemman puolisen rotan laaduntarkastuskansiosta. (a) Kuvassa oikean ja punaisen referenssi TT-kuvan karkea kohdistaminen ei ole onnistunut. (b) Kuvassa rotan aivot on rajattu manuaalisesti ja referenssi TT-on osunut tarpeeksi lähelle oikeaa, jotta SAPP pystyy kohdistamaan atlatset myöhemmin oikein kääntämällä tai siirtämällä TT-kuvaa.

Atlasten sovitus ei onnistu, jos referenssikuvankaan asettaminen ei ole onnistunut. Kuvassa 11 näkyy rotan epäonnistunut ja onnistunut atlassovitus. Onnistuneessa kuvassa rotan pää on rajattu SAPP-ohjelmistolla manuaalisesti.



(a) Epäonnistunut atlas sovitus



(b) Onnistunut atlassovitus

Kuva 11: Kuvakaappauksia kuvan P102949 vasemman puolisen rotan laaduntarkastuskansiosta. (a) Epäonnistunut sovitus neuroanatomisiin atlaskuviin (b) Onnistunut sovitus neuroanatomisiin atlaksiin

#### 2.3.1.4 Aivojen avaruudellinen normalisaatio

Viimeinen vaihe ensimmäisessä moduulissa on aivojen avaruudellinen normalisaatio, eli PET- ja TT-kuvat skaalataan atlaksiin. Kaikki aivot eivät ole lajinkaan sisällä täsmälleen saman kokoisia ja muotoisia, joten tämä vaihe tekee kaikista samaan atlakseen skaalatuista aivoista saman kokoisia, jolloin tulokset ovat vertailukelpoisia.

#### 2.3.1.5 Esikäsittelyn virheiden määristys ja manuaalien korjaus

Esikäsittelyn on mentävä oikein, jotta seuraavat moduulit toimisivat, joten SAPP-ohjelmiston käyttömanuaalissa [16] on monta vianmäärittystapaa. SAPP printtaa vir-

helogin, johon kirjataan virheilmoitukset, jos koodi ei esimerkiksi löytänyt Info.xls-tiedostoa. Jos SAPP ei tunnista yksittäistä kuvaa DICOM-tiedostoissa, tai jokin menee vikaan, se jättää sen väliin ja menee seuraavaan. DICOM-tiedostot pitää esimerkiksi olla nimetty oikein. Jos virhelogista ei selviä ongelmaa, kannattaa tarkistaa, että lukeeko kuvien ja eläinten nimet ja tiedot Info.xls:ssä oikein.

Kuvia voi myös avata SPM:llä ja Carimaksella ja tarkistaa, että ne eivät ole esimerkiksi korruptoituneita. Esikäsittelyn lopputulosten kansiossa on myös laadun-tarkastuskansio, johon on kerätty kuvia eri prosessin vaiheista, jotta ongelman määrittäminen olisi helpompaa. Kuvissa 8 ja 11 on otteita epäonnistuneesta ja onnistuneesta rajauksesta sekä atlassovituksista.

Rajaamisen ja esikäsittelyn voi tehdä irrallaan toisistaan moduulivalikon työkaluriviltä. Sillä voi selvittää, oliko ongelmana vain koordinaattien löytäminen vai onko esikäsittelyssä jotain muuta vialla. Atlassovituksen epäonnistuminen voi jhtua siitä, että alkuperäinen arvaus ei ollut tarpeeksi lähellä, jolloin kuvaa voi yrittää kääntää SPM:llä atlakseen sopivammaksi. PET- ja TT-kuvat voi asettaa paremmin kohdikkain Carimaksella, jos ne eivät ole tarpeeksi hyvin päällekkäin. Koe-eläin voi myös olla huonosti anestesiaamaskissa, jolloin algoritmi ei rajaa päätä oikein.

### 2.3.2 Moduuli 2: Kuvien analysointi

Toinen moduuli tekee kuvien analysoinnin (eng. Analyze Subjects) PET-kuvan atlas-karttojen rajaamalla ROI-alueilla. Niistä lasketaan annos millilitroissa ( $\frac{\text{Bq}}{\text{ml}}$ ), SUV:it, ja  $\frac{\%ID}{g}$  normalisoituna kaavoilla 4 ja 5. Tarvittavat tiedot löytyvät Info.xlsx-tiedostosta. Dynaamisessa PET:ssä voidaan laskea tietyn aikavälin keskiarvot.

Toisessa moduulissa annetaan parametreiksi ensimmäisen moduulin tulokansion sijainti, sekä laji. Se määrittää, mitä ROI-alueita käytetään analyysissä. Rotan tapauksessa pitää valita myös, käytetäänkö aivopuoliskot yhdistäviä vai erottavia ROI-alueita, vai molempia. Käyttöliittymässä voi valita yhden tai useamman referenssia-

luen, joiden arvoihin muita verrataan. Dynaamisten PET-kuvien ROI-analyysien tuloksista pystyy ottamaan keskiarvon tietyistä mittausajanjaksoista.

Tuloksena SAPP tekee Excel-tiedoston, jossa on eri välilehdillä  $\frac{Bq}{ml}$ , SUV, ja  $\frac{\%ID}{g}$  arvot jokaiselle eri aivoaluetta kuvaavalle ROI-alueelle. Osa saaduista kuvan P100292 oikeanpuolisen hiiren SUV-arvoista on esitetty graafisesti kuvassa 15 vaaleammalla ja ohuemmalla viivalla.

### 2.3.3 Moduuli 3: Parametriset PET-kuvat

Kolmannessa moduulissa lasketaan parametrinen PET-kuva (eng. Compute parametric PET images), joka yhdessä ROI-analyysin ja normalisoitujen kuvien kanssa mahdollistaa tilavuusalkiokohtaiseen analyysiin (eng. Voxel-wise analysis) kehittämisen osaksi SAPP-ohjelmistoa. Parametrinen kuva saadaan, kun ensimmäisen moduulin lopussa tehdyn normalisoidun PET-kuvan pikseleihin sisällytetään lasketut SUV ja  $\frac{\%ID}{g}$  kudosarvot alkuperäisten mitattujen arvojen ( $\frac{Bq}{ml}$ ) sijaan. Kuvat normalisoidaan joka eläimen kohdalla niiden massan ja injektoidun annoksen suhteen. Parametreiksi tätä moduulia varten annetaan tuloskansio sekä laji. Parametrisen kuvan tyyppiä (eng. parametric image type) pitää valita joko suhde haluttuun referenssialueeseen, SUV tai  $\frac{\%ID}{g}$ . Laji vaikuttaa, mitä atlasia käytetään, jos lasketaan tulosten suhde referenssialueeseen.

Yksittäinen parametrinen staattinen kuva (eng. single parametric static frame) saadaan, kun dynaamisesta kuvasta valitaan yksi tai useampi aikapiste. Näin saadaan staattinen kuvaus tietyistä hetkeistä dynaamisessa kuvassa.

### 2.3.4 Graafinen käyttöliittymä

SAPP-ohjelmiston käyttöliittymä (eng. Graphical User Interface, GUI) helpottaa tutkijan tehtävää, koska se nopeuttaa kuvien prosessointia ja mahdollistaa haluttujen parametrien valitsemisen ilman koodin käsittelyä. Tutkijan, joka käyttää ohjel-

maa, pitää valita tiedostot ja kertoa, onko kyseessä hiirien vai rottien kuvia ja mitä muita parametreja haluaa käyttää kuvien käsittelyssä. Käyttöliittymä kehitettiin käyttämällä GUIDE-työkalua (eng. GUI development environment) MATLAB:ssa. Käyttöliittymä on kehitetty yhteistyössä prekliinisten tutkijoiden kanssa [1].

## 3 Tulokset

### 3.1 SAPP-ohjelmiston korjaus

Osa korjausta vaativista asioista on todennäköisesti toiminut ennen, mutta esimerkiksi eri käyttöjärjestelmän tai vanhentuneiden ohjelmistojen takia jotkut SAPP-ohjelmiston perusasiatkaan eivät onnistu. Tämän opinnäytetyön yhteydessä tehtiin jatkossa SAPP-ohjelmiston kanssa työskenteleviä varten englanniksi yksityiskohtainen käyttöohje, jossa neuvotaan, miten sen kanssa kannattaa aloittaa.

#### 3.1.1 Laaduntarkastustiedosto

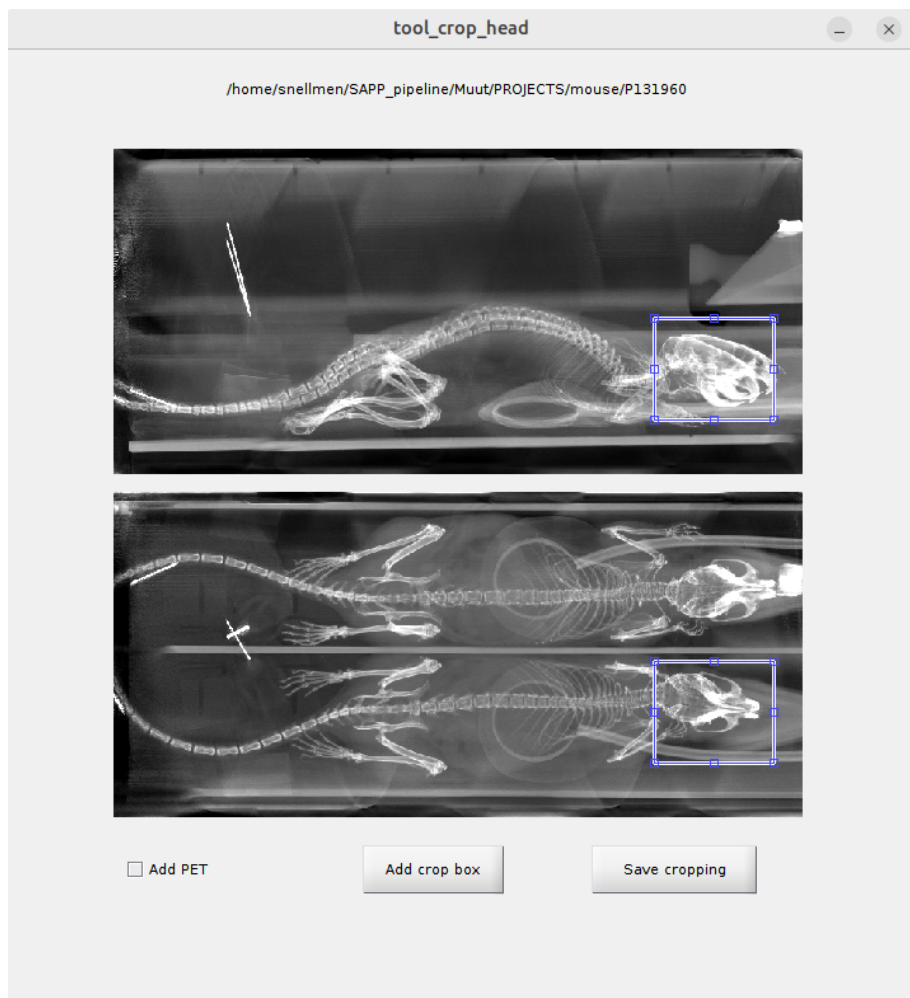
SAPP tekee ensimmäisessä moduulissa tuloksansioon laaduntarkastus- eli QC-tiedoston (eng. Quality Control), jossa on kuvia esikäsittelyn eri vaiheista. Tiedosto kirjoitti itsensä päälle niin, että aina kun tiedostoon lisättäisiin mitään, lisäämisen sijaan se teki uuden tiedoston samalla nimellä, jolloin vanha poistettiin. Koodi korjattiin niin, että jos tiedosto on jo olemassa, se kirjoittaa siihen uuden sivun. SAPP-manuaalissa viitattiin, että tiedosto olisi ennenkin ollut useamman sivun mittainen eli ongelma on todennäköisesti syntynyt SAPP-ohjelmiston käytön aikana. Visualisoinnin eri osat menivät päällekkäin, kuten kuvassa 8a näkyy. Taitto korjattiin ja kaikki osat näkyvät nyt ongelmitta.

### 3.1.2 Käyttöjärjestelmä

SAPP-ohjelmistoa päivitettiin ensin Linux-ympäristössä, jolloin Excelin sijaan käytettiin LibreOfficea, mutta koodi ei suostunut avaamaan sitä. Tuloksia yritettiin ottaa csv-tiedostona, mutta lopulta päädyttiin Windowsiin, koska SAPP-ohjelmistoa on lopuksi tarkoitus käyttää Windows-pohjaisella koneella ja alkuperäinen versio SAPP-ohjelmistosta on myös tehty sillä. Ongelmia käyttöjärjestelmien välillä oli muun muassa kauttaviivojen eri suunnat. Ensimmäinen moduuli tehtiin toimivaksi sekä Linuxilla että Windowsilla, mutta toinen ja kolmas vaihe toimivat vain Excelillä.

### 3.1.3 Rajaus ja x-koordinaatin määrittäminen algoritmilla

SAPP-ohjelmistoa testattiin aluksi pelkästään rotan kuvilla, joita SAPP ei osannut automaattisesti rajata oikein. Atlakset eivät tällöin osu kohdilleen, ja analysointi ei onnistu, kuten näkyy kuvissa 10a ja 11a. Manuaalisesti rajaus toimi niin, että avataan haluttu NifTI-tiedosto ja piirretään ensin ylempään kuvaan neliö, jossa rajauksen sisällä on eläimen koko pää, kuten kuvassa 12.

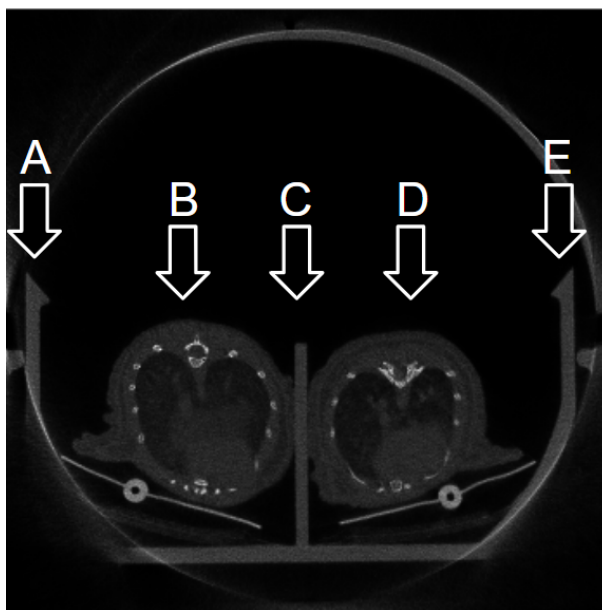


Kuva 12: Kuvakaappaus SAPP-ohjelmiston rajaustyökalusta, kuvassa kuvan P131960 hiiret

Rajattava alue ilmestyy myös alempaan kuvaan, mutta sitä ei kannata raahata vaan siirtää laatikon reunoja, koska muuten rajausalueet eivät vastaa toisiaan. Jos kuvassa on monta eläintä, rajattu kuva pitää tallentaa oikealla nimellä ja ohjelma sulkea ja avata uudestaan ennen seuraavan pään rajaamista.

Todennäköinen syy näiden rottakuvien huonolle menestykselle on, että ainakin toisen rotan kuono on huonosti anestesiaamaskissa. SAPP ei aseta erikseen kummallekin omaa z-koordinaattia, josta rajata, vaan molemmilla on sama. Tällöin osa rotan päästä jää rajauksen ulkopuolelle, kuten näkyy kuvassa 10. Manuaalisesti tämänkin rotan rajaaminen onnistui.

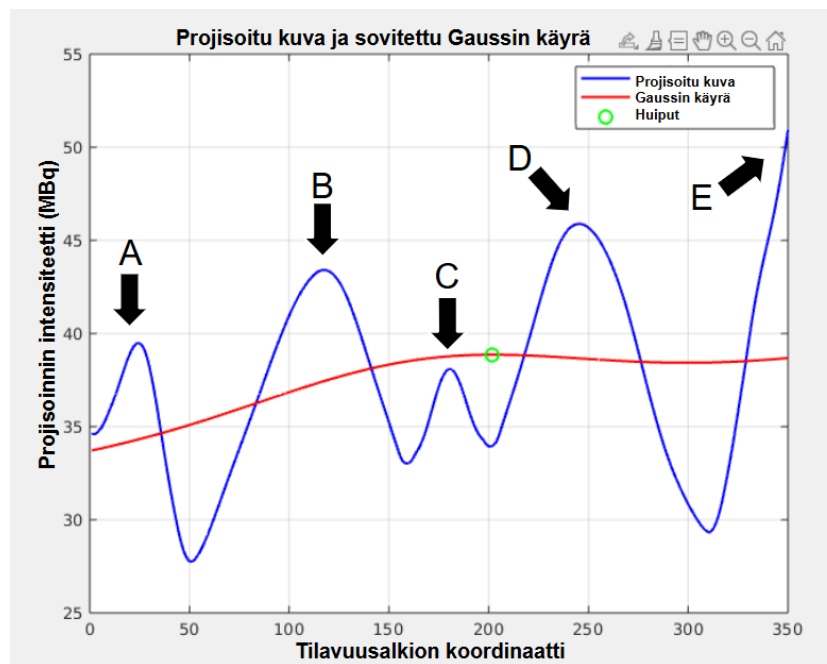
Ensimmäisessä moduulissa SAPP-ohjelmiston pitäisi pystyä toimimaan erilaisen kuvien kanssa ja määrittämään, kuinka monta koe-eläintä niissä on. Jos niitä on kaksi, algoritmi määrittää x-koordinaatin, mistä kuva pitää leikata, jotta kaksi päätä rajataan erikseen. Yhden eläimen tapauksessa ei tarvitse tehdä mitään. Kolmiulotteinen kuva projisoidaan x-akselille, jolloin siihen muodostuu kuvaaja TT-kuvan mukaan. Kuvassa 13 on esimerkki kuvan P131960 hiirien yhdestä TT-kuvan DICOM-kuvasta frontaalitasossa. Kuvaan on merkitty kohdat, jotka luovat vahvimmat signaalit x-akselille, eli tässä tapauksessa vaakatasoon, projisoitaessa. Yläosassa olevasta kaaresta tulee myös kohinaa, mutta se on niin pientä, ettei se vaikuta projisoinnissa.



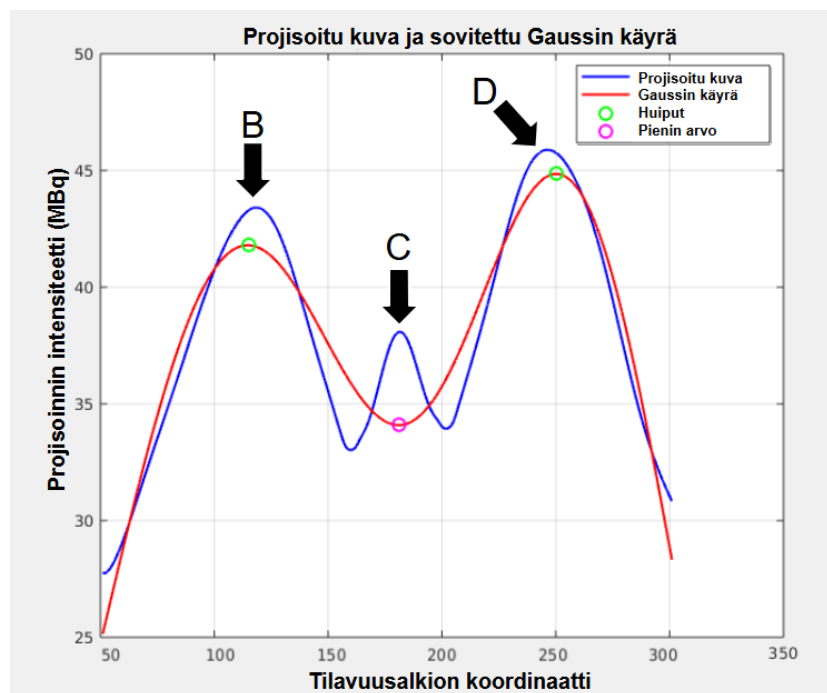
Kuva 13: DICOM-tiedosto eli yksittäinen kuvaleike kuvan P131960 hiirien TT-kuvasta frontaalitasossa. Kuvaan on merkitty kohdat, jotka luovat vahvimmat signaalit x-akselille, eli tässä tapauksessa vaakatasoon, projisoitaessa.

Hiiristä pitäisi muodostua kaksi huippua, ja yhden hiiren tapauksessa yksi, kun kuvat projisoidaan x-akselille. Kahdella hiirellä x-akselin rajauskoodinaatti määritetään kahden huipun välisellä pienimmällä arvolla. Kuvassa 14a kuva 13 on projisoitu x-akselille ja algoritmi on löytänyt hiiret B ja D, mutta myös kuvassa näkyvät

mittauslaitteiston rakenteet A, C ja E. Sovitettu gaussinkäyrä ei toimi, ja algoritmi lukee, että kuvassa olisi vain yksi eläin, jolloin x-koordinaatin määrittäminen oikein ei onnistu. Ongelma ratkaistiin rajaamalla kummaltakin puolelta kuvaa 50 tilavuusalkiota, jolloin rakenteet A ja E rajautuvat pois ja oikeat huiput B ja D löytyvät ja algoritmi onnistuu löytämään Gaussinkäyrästä huippujen välisen pienimmän arvon, jota käytetään kaksi eläintä erottavana x-koordinaattina, kuten kuvassa 14b näkyy.



(a) Epäonnistunut Gaussin käyrän sovitus



(b) Onnistunut Gaussin käyrän sovitus

Kuva 14: Koe-eläimen x-koordinaatin määrittämiseksi sen TT-kuva projisoidaan x-akselille ja siihen sovitetaan Gaussin käyrä, jolloin löydetään kahden eläimen tapauksessa matalin arvo kahden huipun välillä eli x-koordinaatti, josta kuva ja eläimet rajataan erilleen. Kuvaan on merkitty kuvan 13 tuottamat signaalit. (a) Epäonnistunut projisointi. (b) Onnistunut projisointi.

## 3.2 Validointi

SAPP-ohjelmistolla käsiteltiin monia eri kuvia sen kehittämisen aikana. Kuvan P100292 oikean puolisen hiiren sekä kuvan P131512 vasemman puolisen rotan SUV-arvoja vertailtiin prekliinisen tutkijan käsin piirtämiin ROI-alueisiin. Nämä aktiivisuuskäyrät ovat kuvissa 15 ja 16. Rotan kuvaus alkaa, kun merkkiaine injektoidaan, ja hiiren kuvaus alkaa muutaman sadasosa-sekunnin injektion jälkeen. Sen takia hiiren SUV-arvot eivät ala nolasta.

Aktiivisuus nousee alussa ja on ensimmäisten sekuntien ajan korkeimmillaan, koska merkkiaine on juuri injektoitu ja se on silloin aktiivisimmillaan. Merkkiaine ei ole vielä levinnyt joka puolelle kehoa, vaan kulkee vasta verenkierrossa ja ajan kuluessa merkkiaineen konsentraatio tasaantuu eri puolille kehoa. Aktiivisuuskäyrissä ollaan usein kiinnostuneita siitä, kuinka nopeasti ja mihin kehon osaan aktiivisuus kerääntyy. Sydämen aktiivisuuskäyrä nousee nopeasti, koska sinne merkkiaine kulkeutuu verenkierron kautta ennen kuin se imeytyy esimerkiksi aivoihin. Alussa käytetään lyhyempiä mittausajanjaksoja, jotta saataisiin nämä nopeasti tapahtuvat muutokset talteen, mutta se voi johtaa myös kohinaan. Kohina ilmenee kuvaajissa piikkeinä.

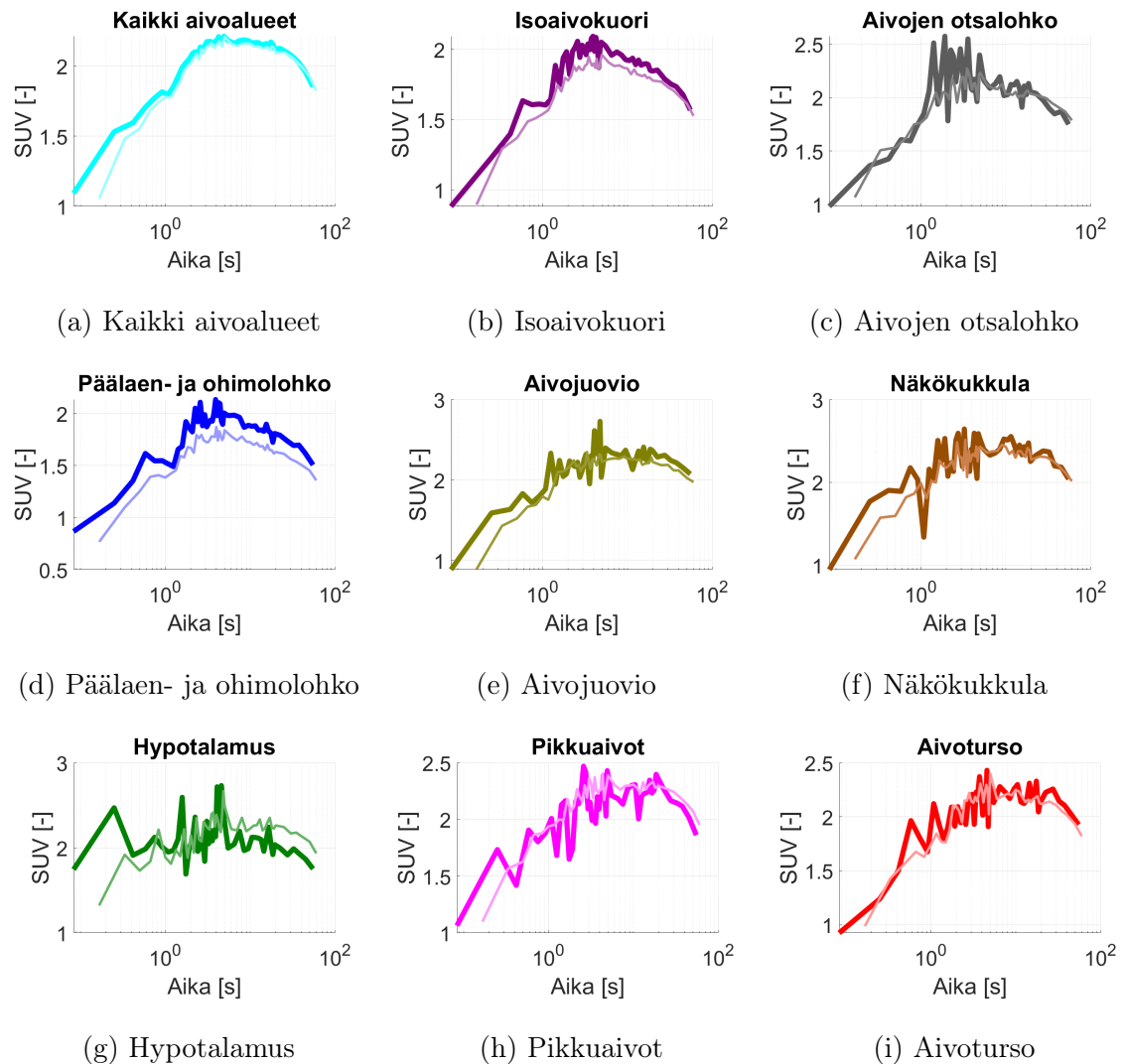
Hiiren ja rotan tuloksia ei voi vertailla toisiinsa, koska lajien välillä on liikaa eroja. Lisäksi eri henkilöt ovat tehneet manuaalisen aivoalueiden piirtämisen. Osalle SAPP-ohjelmiston tekemistä arvoista ei löytynyt manuaalisesti piirrettyä vastaparia, mutta taulukossa IV on esitetty kummallakin eläimellä vertailut aivoalueet sekä niiden englanninkieliset termit.

Taulukko IV: Aivoalueet joissa vertailtiin SAPP-ohjelmiston tuottamia ja manuaalisesti tehtyjä SUV-arvoja toisiinsa

Aivoalueiden nimet	Englanninkielinen nimi	Hiiri	Rotta
Kaikki aivoalueet	Whole Brain	x	x
Isoaivokuori	Neo Cortex	x	x
Aivojen otsalohko	Frontal Cortex/Frontal lobe	x	
Päälaen- ja ohimolohko	Pariteo-temporal Cortex	x	
Aivojuovio	Striatum	x	
Näkökukkula	Thalamus	x	x
Hypotalamus	Hypothalamus	x	x
Aivosilta	Pons		x
Ydinjatke	Medulla		x
Mantelitumake	Amygdala		x
Keskiaivot	Midbrain		x
Pihtipoimu	Cingulate cortex		x
Pikkuaivot	Cerebellum	x	x
Aivoturso	Hippocampus	x	x

### 3.2.1 Hiiri

Kuvassa 15 on kuvan P100292 oikean puolisen hiiren SUV-arvot jokaisessa taulukkoon IV hiirelle merkityssä aivoalueessa ajan funktiona. Aivoalueissa on merkitty manuaalisesti saadut arvot paksummalla ja tummemmalla viivalla ja SAPP-ohjelmiston tekemät ohuemmalla ja vaaleammalla viivalla. Kuvien aika-akseli on logaritminen, koska sillä on helpompi tarkastella SAPP-ohjelmiston ja manuaalisesti tehtyjen kuvaajien eroja.



Kuva 15: Kuvan P100292 oikean puolisen hiiren SUV arvot taulukon IV aivoalueissa manuaalisesti sekä SAPP-ohjelmistolla tutkittuina. Manuaalisesti saadut arvot on merkitty tummemmalla ja paksummalla viivalla ja SAPP-ohjelmiston tekemät arvot ohuemmalla ja vaaleammalla.

Kuvassa 15a on keskiarvo kaikkien aivoalueiden SUV-arvoista ja SAPP on saanut hyvin samanlaisia tuloksia manuaalisesti käsitellyn kuvan kanssa. Kuvassa 15b SAPP-ohjelmiston arvot isoaiivokuorella ovat selkeästi noin 0,1 SUV:ia alempana koko ajan, paitsi aivan lopussa. SAPP-ohjelmiston arvot ovat myös tasaisemmat, eikä niissä ole yhtä paljon hajontaa eli piikkikkyyttä kuin manuaalisissa. Kuvassa 15c

SAPP-ohjelmiston arvot aivojen otsalohkosta seuraavat hyvin manuaalisesti saatujen arvojen muotoja, mutta manuaalisesti tehdyissä arvoissa on paljon kohinaa. Kuvassa 15d päälaen- ja ohimolohkon SAPP-ohjelmiston arvot ovat selkeästi 0,5-1 SUV:ia pienempiä kuin manuaalisesti saadut arvot. Kuvassa 15e SAPP-ohjelmiston arvot aivojuoviossa ovat samankaltaisia manuaalisten kanssa. Manuaalisissa arvoissa on enemmän kohinaa. Kuvassa 15f SAPP-ohjelmiston arvot näkökukkulassa seuraavat hyvin manuaalisia. Alussa manuaalisissa arvoissa on paljon kohinaa, joka näkyy myös SAPP-ohjelmiston arvoissa, mutta paljon pienempänä. Kuvassa 15g hypotalamuksessa molemmilla kuvaajilla esiintyy paljon kohinaa, eikä kuvaaja muistuta onnistunutta aktiivisuuskäyrää. Kuvassa 15h SAPP-ohjelmiston arvot vastaavat pikkuaivoissa hyvin manuaalisesti saatuja arvoja, vaikka kummassakin on kohinaa. Kuvassa 15i SAPP-ohjelmiston ja manuaaliset aivoturson arvot sopivat hyvin yhteen. Manuaalisissa arvoissa on enemmän hajontaa, mutta ne ovat silti muodoiltaan hyvin samankaltaisia.

Hiiren aivot ovat pienet ja PET-laitteiston kyky saada tarkkoja ja vertailukelpoisia tuloksia on koetuksella pienten ROI-alueiden kanssa. Muutamankin pikselin heitto sekä käsin piirrettynä että atlassovituksessa aiheuttaa kohinaa tai aiheettoman signaalin. Pikkuaivoja 15h ja hypotalamusta 15g lukuun ottamatta SAPP-ohjelmiston saamat arvot ovat alempana kuin manuaalisesti tehdyt. Aivoalueiden ROI:ta on pienennetty malliatlaksesta viisi prosenttia, jotta välttyttäisiin osumasta kallon luihin. Tämä voi kuitenkin haitata oikean signaalin saantia ja on todennäköinen syy sille, että SAPP-ohjelmiston saamat arvot ovat manuaalisia pienemmät. Pienikin prosentuaalinen vähentäminen jo valmiiksi pienestä alueesta vaikuttaa paljon. Rajatumpi atlassovitus ei myöskään ota niin herkästi virheellisiä signaaleja, minkä takia SAPP-ohjelmiston tekemissä kuvaajissa ei ole yhtä paljon kohinaa.

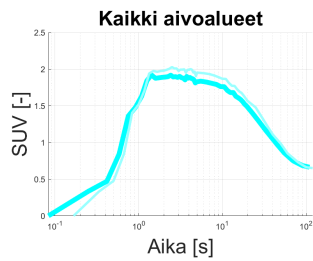
On tärkeää yrittää löytää tasapaino, jossa kohina on vähäistä, mutta informaatiota olisi mahdollisimman paljon. Kuvassa 15a on vähiten kohinaa ja se näyttää

parhaimmalta aktiivisuuskäyrältä, mutta se on keskiarvo kaikkien aivoalueiden arvoista, jolloin menetetään informaatiota. Yksittäisten aivoalueiden kuvaajissa on enemmän kohinaa, mutta niistä voitaisiin tehdä tutkimusta määrittämällä ajanhetki, jolloin aktiivisuus on korkeimmillaan ja kuinka nopeasti se laskee.

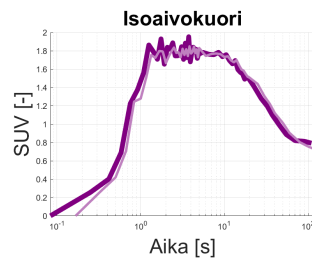
SAPP seuraa hyvin kaikkia manuaalisia arvoja ja sitä voidaan käyttää tutkimuksessa. Tulosten parantamiseksi olisi kannattavaa tarkastella, onko malliatlasten pienentäminen viidellä prosentilla kannattavaa. On mahdollista, että kuvaajien kohina kasvaisi liikaa virheellisten signaalien määrän kasvaessa. Hiirien ROI-alueita voisi myös muokata ja yhdistää lisää, koska selvästi ainakin hypotalamuksesta 15g on vaikea saada kunnollisia arvoja sekä käsin että SAPP-ohjelmistolla.

### **3.2.2 Rotta**

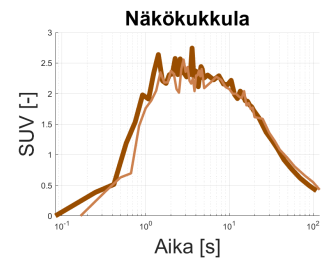
Kuvassa 16 on kuvan P131512 vasemmanpuolisen rotan SUV-arvot jokaisessa taulukkoon IV rotalle merkityssä aivoalueessa ajan funktiona. Aivoalueissa on merkitty manuaalisesti saadut arvot paksummalla ja tummemmalla viivalla ja SAPP-ohjelmiston tekemät ohuemmalla ja vaaleammalla viivalla. Kuvien aika-akseli on logaritminen, koska sillä on helpompi tarkastella SAPP-ohjelmiston ja manuaalisesti tehtyjen kuvaajien eroja.



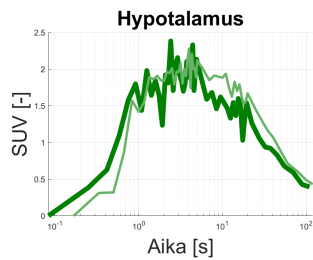
(a) Kaikki aivoalueet



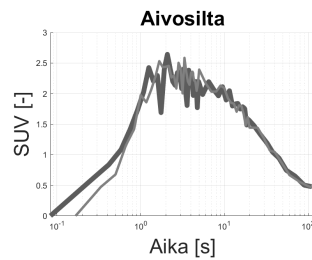
(b) Isoivokuori



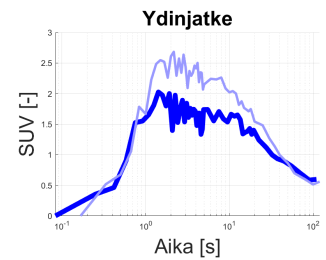
(c) Näkökukkula



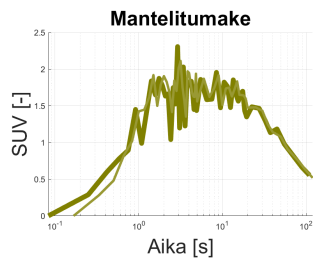
(d) Hypotalamus



(e) Aivosilta



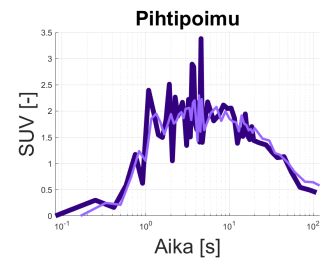
(f) Ydinjatke



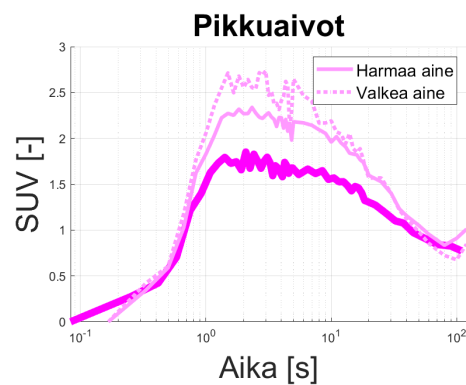
(g) Mantelitumake



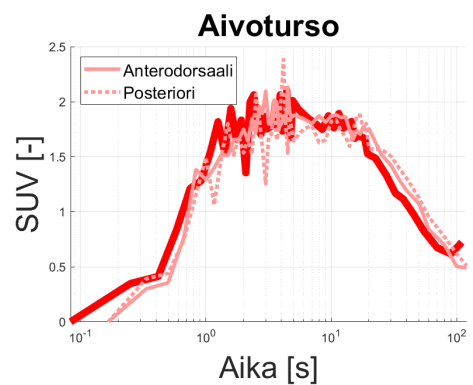
(h) Keskiaivot



(i) Pihtipoimu



(j) Pikkuaivot



(k) Aivoturso

Kuva 16: Kuvan P131512 vasemman puolisen rotan SUV-arvot taulukon IV aivoalueissa manuaalisesti sekä SAPP-ohjelmistolla tutkittuina. Manuaalisesti saadut arvot on merkitty tummemmalla ja paksummalla viivalla ja SAPP-ohjelmiston tekemät arvot ohuemmalla ja vaaleammalla. Kuvassa 16j on merkitty erikseen valkea ja harmaa aine ja kuvassa 16k aivoturso eri orientaatioista.

Kuvassa 16a on keskiarvo kaikkien aivoalueiden SUV-arvoista ja SAPP on saanut hyvin samanlaisia tuloksia manuaalisesti käsitellyn kuvan kanssa. SAPP-ohjelmiston arvot ovat noin 0,2 SUV:ia korkeammalla, mutta tämä voidaan olettaa osittain kuvien 16f ja 16j syyksi, koska niissä arvot ovat selvästi manuaalisesti tehtyjä korkeammalla, mutta kaikki muut seuraavat manuaalisia hyvin. Kuvassa 16b SAPP-ohjelmiston arvot isoaivokuorella seuraavat hyvin manuaalisia. SAPP-ohjelmiston arvoilla on vähemmän kohinaa. Kuvassa 16c SAPP-ohjelmiston arvot näkökukkulassa vastaavat suuruusluokaltaan hyvin manuaalisia. Kohinaa esiintyy yhtä paljon kummallakin. Kuvassa 16d sekä SAPP-ohjelmistolla että manuaalisesti lasketuilla hypotalamuksen arvoilla on paljon kohinaa, mutta SAPP-ohjelmistolla vähemmän. SAPP kuitenkin seuraa manuaalisia arvoja hyvin suuruusluokaltaan. Kuvassa 16e SAPP seuraa hyvin aivosillan manuaalisia arvoja ja sillä esiintyy hieman vähemmän kohinaa. Kuvassa 16f SAPP seuraa manuaalisesti lasketun ydinjatkeen kuvaajan muotoja hyvin, mutta on selvästi 1 SUV:ia korkeammalla. Kahden kuvaajan välillä on selvä ero suuruusluokassa. Kuvassa 16g SAPP-ohjelmiston ja manuaalisesti lasketut arvot ovat hyvin kohdikkain mantelitumakkeessa. SAPP-ohjelmistolla on vähemmän kohinaa. Kuvassa 16h SAPP seuraa äärimmäisen hyvin keskiaivoissa manuaalisesti laskettuja arvoja. Kuvassa 16i pihtipoimussa on paljon kohinaa molemmilla tehdyissä arvoissa, SAPP-ohjelmiston arvoilla kuitenkin vähemmän ja kuvaajan muoto vastaa hyvin manuaalista.

Kuvassa 16j on esitetty manuaalisesti tehdyt arvot sekä SAPP-ohjelmiston lasketut arvot pikkuaivojen valkeassa ja harmaassa aineessa. Harmaasta aineesta saatu signaali on esitetty yhtenäisenä vaaleampana ja ohuempana viivana ja sen arvo on lähempänä manuaalisesti laskettua, mutta silti 1 SUV:ia korkeammalla manuaalisiin arvoihin verrattuna. Valkeasta aineesta saatu signaali on esitetty ohuempana ja vaaleana pisteviivana ja sen arvot ovat tuplasti korkeammalla kuin harmaan aineen eli 2 SUV:ia korkeammalla manuaalisiin nähden. Kuvassa 16k on esitetty manuaalisesti

tehdyt arvot sekä SAPP-ohjelmiston laskemat arvot aivotursossa eri orientaatioissa piirrettyinä. Yhtenäisellä vaalealla ja ohuemmalla viivalla on merkitty aivoturson ROI-analyysi anterodorsaali puolelta piirrettynä ja vaaleana ja ohuella pisteviivala posteriori puolelta piirrettynä. Molemmat seuraavat manuaalisesti tehtyjä arvoja hyvin ja kaikilla kohinaa suurin piirtein saman verran.

Rotan aivot ovat suuremmat, joten niihin on helpompi saada ROI:t piirrettyä oikein, ja PET-laitteiston tarkkuus on parempi ja luotettavampi. Viiden prosentin pienentäminen ei vaikuta enää niin paljon, että se tekisi SAPP-arvoista huomattavasti matalampia manuaalisiin verrattuna. Tämän takia SAPP-ohjelmiston arvot seurasivat manuaalisia arvoja paremmin rotilla kuin hiirillä.

Isoaivokuori 16f ja keskiaivot 16h olivat äärimmäisen hyvin manuaalisten arvojen mukaisia. SAPP kykeni tutkimaan näitä isompia aivoalueita hyvin, mutta se epäonnistui ydinjatkeen 16f ja pikkuaivojen 16j kohdalla. On kyseenalaista, miten manuaalisesti tehty kuvaaja pikkuaivoista on moninkertaisesti pienempi kuin SAPP-ohjelmiston laskemat arvot pikkuaivoille, kun se on vielä jakanut alueen harmaaseen ja valkeaan.

Rotankin tapauksessa on tärkeää löytää tasapaino informaation tarkkuuden ja kohinan välillä. Rotalla on helpompi saada tarkempia tuloksia, mutta ROI-alueita voisi muokata ja yhdistellä, jotta vältytään virhesignaaleilta liian pienten ROI-alueiden takia.

## 4 Pohdinta

SAPP-ohjelmiston työstäminen aloitettiin Linux-pohjaisella koneella ja kuvilla, joita SAPP ei osannut rajata ja käsitellä itsenäisesti. Toisaalta tämä oli hyvä, koska se kannusti jo heti alussa tutustumaan, miten SAPP ajetaan pala palalta. Laaduntarkastustiedoston korjaaminen oli alussa tärkein tehtävä, koska siitä pystyi näkemään, miten ensimmäinen moduuli toimii. Osa ongelmista oli pieniä ja hankalia löytää,

esimerkiksi DICOM-tiedostoilta saattoi puuttua tietoja, joita SAPP ei periaatteessa tarvitse, mutta ei silti toimi ilman niitä. Jos DICOM-tiedostolla ei ollut otsikkoa (eng. header) sen analysoiminen ei onnistunut, joten se korjattiin niin, että koodi asettaa otsikoksi "CT", jos sillä ei jo ole otsikkoa.

SAPP-ohjelmistoa pitäisi kehittää vastaamaan paremmin prekliinisten tutkijoiden toiveita. Kolmas moduuli tekee parametrisen PET-kuvan tilavuusalkiokohtaista analyysia varten, mutta sitä ei ole vielä tehty SAPP-ohjelmistoon. Koko SAPP-ohjelmistossa on myös edelleen korjattavana perusasioita, jotka jäävät tämän opin näytetyön ulkopuolelle.

NifTI-tyyppiset kuvat ovat korvanneet DICOM-tyyppiset, eikä niitä enää käytetä. SAPP-ohjelmistossa on toiminto, joka tarkistaa, ovatko NifTI-tiedostot jo olemassa, mutta jos SAPP ei ole itse muuttanut DICOM-tiedostoja jokaisen analyysikerroksen alussa, analysointi ei onnistu. Ongelmaa yritettiin ratkaista käyttämällä SPM:n sijaan MRICron [18] kuvankatseluohjelmaa, joka kykeni DICOM-NifTI-muutokseen, mutta se ei auttanut. MRICron jätettiin kuitenkin vaihtoehtoiseksi tavaksi tehdä DICOM-NifTI -muutos, koska se tekee laajemman tiedostokansion, jossa näkyy muun muassa tiedostotyypit.

SAPP olisi paljon tehokkaampi, jos sillä pystyisi analysoimaan monta kuvaa projektikansiosta. Alkuperäisissä ohjeissa [1] [16] annetaan ymmärtää, että SAPP on kyennyt käsittelemään monta kuvaa kerralla, jos kaikki ovat samaa lajia ja niille käytetään samoja parametrejä, mutta nyt se suorittaa analyysin väärin ja vain ensimmäiselle kansiolle. Ongelman voisi korjata muuttamalla tiedostorakennetta niin, että SAPP osaisi käydä kansio kerrallaan kuvia läpi, mutta se vaatisi todennäköisesti korjauksia kaikissa koodin osissa. Tämä jää kehitysideaksi SAPP-ohjelmiston kanssa seuraavaksi työskentelevälle.

SAPP myös luottaa usein tiedostorakenteen olevan tietynlainen, esimerkiksi alussa se oletti, että tietty kansio, jota se tarvitsee, on esimerkiksi neljäs alakansio. Jos

SAPP-ohjelmiston kanssa työskentelee eri koneella, se voidaan tallentaa eri paikkaan. Ongelma korjattiin useassa kohdassa niin, että SAPP etsii tietorakenteen polusta oikean nimiset tiedostot ja kansiot, jos se ei ole oletetussa kohdassa.

Rajaustyökalua korjattiin myös yhden hiirikuvan perusteella rajaamaan reunoi-  
ta hieman enemmän, mutta se voi myös olla haitaksi, kun analysoidaan kuvia, joissa on esimerkiksi rottia tai työskennellään kokonaan eri PET-laitteen kanssa ottamien kuvien kanssa, jolloin koelaitteistoa ei välttämättä näy ja kuva on jo valmiiksi tiukasti rajattu.

SAPP-ohjelmiston tekemiä analysointeja validoitiin vertailemalla SUV-arvoja manuaalisesti tutkijan piirtämien ROI-alueiden sekä SAPP-ohjelmiston atlasien aset-  
tamien alueiden välillä. SUV ottaa huomioon kohteen massan, mutta ei lihas- ja rasvakudoksen jakautumista, miten merkkiaine on kertynyt, tai kuinka kauan eri kuvaukset ovat kestäneet. Tutkimusmenetelmät ovat semikvantitatiivisia tuloksia, joita voidaan vertailla, mutta pitää muistaa, että ne ovat arvioituja.

## 5 Yhteenveto ja johtopäätökset

Tämän opinnäytetyön yhteydessä SAPP-ohjelmistossa korjattiin seuraavat asiat.

- (a) Laaduntarkastustiedoston luomisen ja visuaalisen asettelun ongelmat
- (b) Ensimmäisen moduulin käyttö Linux- ja Windows-käyttöjärjestelmissä
- (c) Kahden koe-eläimen välisen rajan tunnistaminen

Lisäksi tulokset validoitiin sekä hiirellä että rotalla vertailemalla automaattisesti erotettuja eri aivoalueiden aktiivisuuskäyriä manuaalisesti käsin erotettuihin.

Perusosat SAPP-ohjelmistosta saatiin toimimaan ja monen vuoden tauon jäl-  
keen se onnistuu pieneläinten analysoinnissa, mutta laaja validointi monella erilai-  
sella projektilla olisi kannattavaa tehdä tulevaisuudessa. Prekliinisen tutkimuksen

nopeuttamiseksi ja analysoidun datan vertailtavuuden parantamiseksi on tärkeää, että SAPP saadaan toimivana asennettua Turun prekliinisen tutkimuslaboratorion analysointitietokoneelle.

## 6 Kiitokset

Tämän opinnäytetyön toteuttamisessa auttoivat monet henkilöt. Maria Jaakkola toimi ohjaajana Turun PET-keskuksen puolelta, ja Matti Murtomaa toimi ohjaajana fysiikan ja tähtitieteen laitokselta. PET-keskuksen puolelta myös Jarmo Teuvo ja Riku Klén edesauttoivat projektin valmistumista. Jatta Helin toimi kytköksenä prekliinisen tutkimuksen puolelle, johon SAPP-ohjelmisto tullaan asentamaan, ja antoi käytettäväksi kuvat P100292 ja ae3127. Kuvan P102949 antoi Anna Roivanen, kuvat P131960 ja P131962 Xiang-Guo Li ja kuvan P131512 Anna Kirjavainen. Essi Kerola aloitti SAPP-ohjelmiston päivittämisen kesällä 2024 ja antoi hyvät ohjeet ja lähtökohdan aloittaa.

## Viitteet

- [1] Bocancea, D.-I. Computational pipeline for small animal brain PET/CT image analysis. **2018**,
- [2] MATLAB(R2022a). 2022; <https://www.mathworks.com>.
- [3] Hendee, W. R.; Ritenour, E. R. *Medical Imaging Physics*; Wiley, 2002.
- [4] Lorentz, H. A. *The principle of relativity; a collection of original memoirs on the special and general theory of relativity*; London : Methuen amp; Co. ltd., 1923.
- [5] Bailey, D. L.; of Physicists in Medicine, A. A.; Agency, I. A. E. *Nuclear medicine physics : a handbook for teachers and students*; International Atomic Energy Agency, 2014.
- [6] Pandey, G.; Vora, A. Open Electronics for Medical Devices: State-of-Art and Unique Advantages. *Electronics* **2019**, *8*, 1256.
- [7] X-Ray Technology Oxford Instruments; Typical X-ray Spectra by Anode Material. <https://xray.oxinst.com/learning/view/article/typical-x-ray-spectra-by-anode-material>, Accessed: 2025-03-20.
- [8] Laguitton, D.; Parrish, W. Experimental spectral distribution versus Kramers' law for quantitative X-ray fluorescence by the fundamental parameters method. *X-Ray Spectrometry* **1977**, *6*, 201–203.
- [9] Grieken, R. V., Markowicz, A., Eds. *Handbook of X-Ray Spectrometry*; CRC Press, 2001.
- [10] Mukherjee, P.; Roy, S.; Ghosh, D.; Nandi, S. K. Role of animal models in biomedical research: a review. *Laboratory Animal Research* **2022**, *38*, 18.
- [11] Kuntner, C.; Stout, D. Quantitative preclinical PET imaging: opportunities and challenges. *Frontiers in Physics* **2014**, *2*.
- [12] Evans, A. C.; Janke, A. L.; Collins, D. L.; Baillet, S. Brain templates and atlases. *NeuroImage* **2012**, *62*, 911–922.
- [13] SPM25. 2025; <https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>.
- [14] Rainio, O.; Han, C.; Teuvo, J.; Nesterov, S. V.; Oikonen, V.; Piirola, S.; Laitinen, T.; Tähtäläinen, M.; Knuuti, J.; Klén, R. Carimas: An Extensive Medical Imaging Data Processing Tool for Research. *Journal of Digital Imaging* **2023**, *36*, 1885–1893.
- [15] Ma, Y.; Hof, P.; Grant, S.; Blackband, S.; Bennett, R.; Slatest, L.; McGuigan, M.; Benveniste, H. A three-dimensional digital atlas database of the adult C57BL/6J mouse brain by magnetic resonance microscopy. *Neuroscience* **2005**, *135*, 1203–1215.

- [16] Bocancea, D.-I. *SAPP User Manual*; Preclinical Imaging Laboratory, Turku PET Centre, 2018.
- [17] Schiffer, W. K.; Mirrione, M. M.; Biegon, A.; Alexoff, D. L.; Patel, V.; Dewey, S. L. Serial microPET measures of the metabolic reaction to a microdialysis probe implant. *Journal of Neuroscience Methods* **2006**, *155*, 272–284.
- [18] Rorden, C.; Brett, M. Stereotaxic Display of Brain Lesions. *Behavioural Neurology* **2000**, *12*.