Aus dem Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Gerald Antoch

Frühdiagnose von Osteonekrosen bei Kindern mit akuter lymphoblastischer Leukämie und lymphoblastischem Lymphom unter antileukämischer Therapie mittels Diffusion und Perfusion in der MRT

- Ergebnisse der OPAL-Studie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

> vorgelegt von Katharina Weil 2022

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nicolaj Klöcker

Erstgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Gerald Antoch

Zweitgutachter: Priv.-Doz. Dr. med. Hans-Jürgen Laws

"Wir sind mit dem Unsichtbaren näher verbunden als mit dem Sichtbaren"

Novalis

Ein Abstract zu den Inhalten dieser Arbeit wurde veröffentlicht:

Weil, K., Wittsack, H.-J., Laws, H.-J., Antoch, G., Schaper, J., Klee, D., (2019), Frühdiagnose von Osteonekrosen bei Kindern mit ALL und LBL unter antileukämischer Therapie mittels Diffusion und Perfusion im MRT – Ergebnisse der OPAL-Studie, *RöFo*, (191(S 02)) 139 [1]

I. Zusammenfassung

Bei Kindern und Jugendlichen mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) und lymphoblastischem Lymphom (LBL) stellen aseptische Osteonekrosen (ON) eine häufige und schwerwiegende Nebenwirkung der antileukämischen Therapie dar. Da sie klinisch oftmals erst spät in einem weit fortgeschrittenen Stadium bemerkt werden, das in der Regel irreversibel ist und daher eine langfristige Beeinträchtigung der Lebensqualität zur Folge hat, ist die frühzeitige Erfassung von ON besonders wichtig.

Im Rahmen der prospektiven, multizentrischen, deutschlandweiten OPAL-Studie (Osteonekrosen bei pädiatrischen Patienten mit <u>ALL</u> und LBL) wurde u.a. die Wertigkeit von MRT-Untersuchungen für die Frühdiagnose von ON geprüft. Ziel dieser Arbeit war es, mithilfe der Bestimmung von Diffusions- und Perfusionsanteilen, gewonnen aus der diffusionsgewichteten MRT (DWI), eine prospektive Aussage zur Entstehung und Entwicklung von ON treffen zu können.

Dafür erfolgte eine retrospektive Analyse aller zwischen 2013 und 2018 in die OPAL-Studie inkludierten Patienten mit mindestens drei DWI-Untersuchungen der Knie innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 12 Monaten. Bei diesen 19 Patienten wurden in Apparent diffusion coefficient maps (ADC-Karten), generiert aus einer bi-exponentiellen DWI-Analyse durch das Intravoxel incoherent motion (IVIM) Modell, Messungen der Diffusionsund Perfusionsanteile durch Regions of interest (ROIs) für Regionen mit ON und solche ohne ON an der Dia-, Meta- und Epiphyse am distalen Femur sowie der proximalen Tibia zum Diagnosezeitpunkt und nach 6, 9 und 12 Monaten unter antileukämischer Therapie durchgeführt und retrospektiv verglichen.

In der Ausgangsuntersuchung konnten in den Regionen späterer ON noch keine signifikanten Unterschiede in der Diffusion und Perfusion im Vergleich zu den anderen analysierten Regionen ohne spätere ON nachgewiesen werden. Bei der Analyse der Folgeuntersuchungen zeigte sich jedoch nach 9 Monaten in der bi-exponentiellen ADC-Karte der Diffusion ein signifikanter Unterschied zwischen Regionen mit und ohne ON, während die klassische mono-exponentielle ADC-Karte erst nach 12 Monaten signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen aufwies. Damit bietet das bi-exponentielle IVIM Modell dem mono-exponentiellen Modell gegenüber enorme Vorteile in der Frühdiagnose von ON, allerdings konnten nach 9 Monaten auch in der nicht-diffusionsbasierten Bildgebung der MRT ON detektiert werden.

Vor diesem Hintergrund ist daher eine prospektive Aussage zur Entstehung von ON mit den hier durchgeführten Analysen nicht möglich.

II. Summary

In children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and lymphoblastic lymphoma (LBL), aseptic osteonecrosis (ON) is a frequent and serious side effect of antileukemic therapy. Since they are often detected clinically late at a far advanced stage, which is usually irreversible and therefore results in long-term impairment of quality of life, the early detection of ON is particularly important.

The prospective, multicenter, nationwide OPAL trial (Osteonecrosis in Pediatric Patients with <u>ALL</u> and LBL) evaluated the value of MRI examinations for the early diagnosis of ON. The aim of this study was to determine diffusion and perfusion fractions obtained from diffusion-weighted MRI (DWI) in order to prospectively predict the development of ON.

For this purpose, a retrospective analysis of all patients included in the OPAL trial between 2013 and 2018 with at least three DWI examinations of the knees within the observation period of 12 months was performed. In these 19 patients, apparent diffusion coefficient maps (ADC maps) generated from bi-exponential DWI analysis by the intravoxel incoherent motion (IVIM) model were used, to measure diffusion and perfusion fractions by regions of interest (ROIs) for regions with ON and those without ON at the dia-, meta-, and epiphysis at the distal femur and proximal tibia at time of diagnosis and after 6, 9, and 12 months of antileukemic therapy and to retrospectively compare them.

In the initial examination, no significant differences in diffusion and perfusion could yet be detected in the regions of later ON compared with the other analyzed regions without later ON. However, analysis of follow-up examinations revealed a significant difference between regions with and without ON after 9 months in the bi-exponential ADC map of diffusion, whereas the classic mono-exponential ADC map showed significant differences between the two groups only after 12 months. Thus, the bi-exponential IVIM model offers tremendous advantages over the mono-exponential model in the early diagnosis of ON, but ON could also be detected in nondiffusion-based MRI imaging after 9 months.

Hence, against this background, a prospective statement on the development of ON is not possible with the analyses performed here.

III. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADC, ADC _{slow}	Apparent diffusion coefficient, echter Diffusionskoeffizient
ADC*, ADC _{fast}	Pseudodiffusionskoeffizient
ADC-map	ADC-Karte
AIEOP	Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica
ALL	akute lymphoblastische Leukämie
ALL-BFM	Behandlungsprotokoll "ALL-Berlin-Frankfurt-Münster-
	Studiengruppe"
ARCO	Association Research Circulation Osseous
b	b-Wert, (technische Parameter wie Gradientenstärke,
	Gradientendauer, Diffusionszeit etc.)
biADCd	bi-exponentielle ADC-Karte der Diffusion
biADCp	bi-exponentielle ADC-Karte der Perfusion
biFP	bi-exponentielle ADC-Karte der Perfusionsfraktion
CoALL	Behandlungsprotokoll "Cooperative ALL-Studie"
DWI	Diffusion weighted imaging
Fp	Perfusionsfraktion
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IR	Inversion recovery
IVIM	Intravoxel incoherent motion
LBL	lymphoblastisches Lymphom
u	leukämische Infiltrationen
mm	Millimeter
mm²/s	Quadratmillimeter pro Sekunde
ms	Millisekunden
monoADC	mono-exponentielle ADC-Karte
MRI	Magnetic resonance imaging
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
NHL-BFM	Behandlungsprotokoll "NHL- Berlin-Frankfurt-Münster-
	Studiengruppe"
NMR	Nuklear magnetic resonance

ON	Osteonekrosen
OPAL	Osteonekrosen bei pädiatrischen Patienten mit ALL und LBL
р	p-Wert, Signifikanzwert
R ²	Bestimmtheitsmaß, Anpassungsgüte (goodness of fit)
ROI	Region of interest
s/mm²	Sekunden pro Quadratmillimeter
SI	Signalintensität
STIR	Short tau inversion recovery
т	Tesla
T1	T1-gewichtetes Bild
Т2	T2-gewichtetes Bild
TE	Time to echo, Echozeit
TR	Time to repetition, Repetitionszeit, Wiederholungszeit
TSE	Turbo spin echo
WBC	White blood cells
Z	Z-Wert (Wilcoxon-Test)

IV. Inhaltsverzeichnis

1.	. Einleitung	1	
	1.1 Hintergrund	1	
	1.2 Bisherige Erkenntnisse und aktuelle Studienlage	2	
	1.2.1 Bisherige Erkenntnisse	2	
	1.2.2 Aktuelle Studienlage: Die OPAL-Studie	4	
	1.3 Grundlagenkenntnisse	7	
	1.3.1 Magnetresonanztomographie	7	
	1.3.2 Diffusionsbildgebung	9	
	1.3.2.1 Diffusion weighted imaging (DWI)	9	
	1.3.2.2 Apparent diffusion coefficient (ADC), b-Wert und ADC-Karten	12	
	1.3.2.3 Intravoxel incoherent motion (IVIM)	13	
	1.4 Ziele der Arbeit	17	
2.	. Material und Methoden	19	
	2.1 Patientenkollektiv	19	
	2.1.1 Die OPAL-Studie und deren Genehmigung (Ethikvotum)	19	
	2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien	19	
	2.2 Bildmaterial/Datenerhebung	22	
	2.2.1 Erstellung der MRT-Aufnahmen	22	
	2.2.2 Erstellung der ADC-Karten	22	
	2.3 Bildanalyse/Datenauswertung	25	
	2.4 Dokumentation und statistische Analyse	27	
3.	3. Ergebnisse		
	3.1 Patientenkollektiv	28	
	3.2 Deskriptive Analyse	30	
	3.3 Statistische Analyse mittels Wilcoxon-Test und graphischer Darstellung	32	
	3.3.1 Vergleich der Untersuchungszeitpunkte 0 und 12 Monate	33	
	3.3.2 Vergleich der Untersuchungszeitpunkte 0, 6, 9 und 12 Monate	36	
4.	Diskussion	39	
	4.1 Übersicht über die durchgeführte Arbeit	39	
	4.2 Interpretation der Ergebnisse und Einordnung in die aktuelle wissenschaftliche Literatu	ur . 40	
	4.2.1 Klassische Bildgebung und Diffusion weighted imaging (DWI)	40	
	4.2.2 Intravoxel incoherent motion (IVIM)	47	
	4.3 Limitationen der Studie und Ausblick	53	
	4.4 Schlussfolgerung	58	
5.	. Literatur- und Quellenverzeichnis	59	

1. Einleitung

1.1 Hintergrund

Das Überleben von Kindern und Jugendlichen, die an akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) oder lymphoblastischem Lymphom (LBL) erkranken, hat sich durch die fortschreitende Entwicklung einer Polychemotherapie in den letzten Jahren enorm verbessert [2]. Inzwischen können mehr als 90% aller Kinder mit ALL oder LBL geheilt werden. Sie werden damit zu Langzeit-Überlebenden der Erkrankung [2-5]. Diese hohe Überlebensrate bedingt jedoch ein hohes Risiko für langfristige Nebenwirkungen und Spätfolgen durch die antileukämische Therapie [6, 7].

Bei Kindern mit ALL und LBL stellen aseptische Osteonekrosen (ON) mit einer Inzidenz von 1.6 - 17.6 % je nach Studienkohorte und Behandlungsprotokoll [8-21] eine sehr häufige und schwerwiegende Nebenwirkung der antileukämischen Therapie dar [2, 3, 22, 23]. Sie können an verschiedenen Knochen und Gelenken, vorzugsweise der unteren Extremität [22], auftreten und sind häufig für sehr lange Zeit asymptomatisch oder präsentieren sich nur mit milden oder unspezifischen Symptomen, sodass sie klinisch erst spät in einem weit fortgeschrittenen, zumeist irreversiblen Stadium bemerkt werden [6]. In diesen späten Krankheitsstadien sind jedoch aktuell noch keine kurativen Therapien verfügbar, weshalb ON mit einer erheblichen Morbidität insbesondere bezüglich Schmerzen und Immobilität einhergehen und häufig eine langfristige Beeinträchtigung der Lebensqualität zur Folge haben [2, 3, 23].

Um diesen schwerwiegenden Spätfolgen entgegenzuwirken, können zwei Strategien verfolgt werden: Zum einen kann eine Änderung der antileukämischen Therapie zu einer Reduktion der ON-Entstehung beitragen (Primärprävention). Dies birgt jedoch Risiken für die Beibehaltung der sehr guten Heilungsrate und des geringen Rückfallrisikos einer ALL bzw. eines LBL und muss daher gut überwacht und untersucht werden [2]. Alternativ kann eine frühe Detektion und Intervention über ein systematisches Screening verhindern, dass ON in späte Stadien fortschreiten, die mit Schmerzen und funktionellen Beeinträchtigungen verbunden sind (Sekundärprävention). Mit dieser Strategie könnte die ON-assoziierte Morbidität ohne das Risiko einer Beeinträchtigung der Leukämiekontrolle durch Therapieänderungen verringert werden [3]. Aus diesem Grund ist die frühzeitige Erfassung von ON im Sinne einer Sekundärprävention ein vordringliches Ziel in der Versorgung von Kindern und Jugendlichen mit ALL und LBL [6].

1.2 Bisherige Erkenntnisse und aktuelle Studienlage

1.2.1 Bisherige Erkenntnisse

Um ein systematisches Screening auf ON zu etablieren, wurden in verschiedenen Studien bislang unterschiedliche Ansätze verfolgt. Bisherige Studienergebnisse haben dabei gezeigt, dass eine detaillierte Anamnese und klinische Untersuchung alleine nicht in der Lage sind, unerkannte ON anhand klinischer Symptome frühzeitig zu entdecken [6]. Denn es ist schwierig, unspezifische Symptome wie Knochen- oder Muskelschmerzen und die Symptome der Leukämie selber sowie Nebenwirkungen der Therapie und ON auseinanderzuhalten [3]. Als systematische Screening-Methode erwies sich die MRT in vergangenen Studien als zielführendes Diagnostikum in der Frühdiagnose von bislang unerkannten ON bei Kindern und Jugendlichen mit ALL und LBL. Insbesondere erschien hierbei die Durchführung serieller MRT-Aufnahmen ein innovatives Vorgehen zu sein, um die ON-assoziierte Morbidität zu reduzieren [2].

Die erste prospektive MRT-Screening Studie wurde 1999 von Olaja et al. mit einer Inzidenz an ON von insgesamt 38% durchgeführt [3, 24]. Nur sechs von 24 Patienten, bei denen ON mittels MRT detektiert wurden, blieben am Ende der Studienperiode asymptomatisch [3]. Schon hier zeigte sich, dass ein frühes MRT-Screening erhebliche asymptomatische Läsionen bei Patienten identifiziert, die im weiteren Krankheitsverlauf symptomatische ON entwickeln [22].

Seither haben bis heute vor Initiierung der für diese Arbeit zugrunde liegenden OPAL-Studie (Osteonekrosen bei pädiatrischen Patienten mit ALL und LBL) sieben Studien über MRT-Screenings für Kinder mit ALL berichtet [14, 25-31]. Dabei unterschieden sich die Zeitpunkte der MRT-Untersuchungen zwischen Diagnose und Therapieende bzw. Ende des Follow-ups in den Studien deutlich [3]. In der Studie von Ribeiro et al. [25] wurde das Screening beispielsweise ein Jahr nach der Diagnose der ALL durchgeführt und bei Niinimäki et al. [26, 31] am Ende der Therapie, während bei Kaste et al. [27] ein serielles Screening nach 6,5 und 9 Monaten nach Diagnose sowie bei Abschluss der Therapie erfolgte und bei Kawedia et al. [14] nach Reinduktion I und II und nach Abschluss der Therapie [2]. Außerdem gab es neben den verschiedenen Zeitintervallen auch einen großen Unterschied in der Anzahl der MRTs sowie zwischen der radiologischen und klinischen Klassifikation von ON, wodurch die Vergleichbarkeit der Studien limitiert wird [3].

Die Anzahl der Patienten, die im Rahmen dieser Studien mit radiologischen ON diagnostiziert wurde, war mit einer Inzidenz von 15,5 – 71,8% sehr hoch [14, 25, 26, 31], wobei davon jedoch mit 35 – 73% ein erheblicher Anteil an Patienten bis zum Ende der Studie asymptomatisch blieb [2]. Es ergab sich insgesamt aber dennoch ein signifikanter Unterschied zwischen der Inzidenz von radiologisch detektierten (asymptomatischen) ON und klinisch symptomatischen ON [3, 14, 27, 28]. Somit konnte auch durch diese Studien gezeigt werden, dass es durch ein systematisches MRT-Screening möglich ist, beginnende ON vor ihrem Symptomatisch-Werden zu identifizieren. Die MRT als Diagnostikum liefert damit wie kein anderes Screening-Verfahren das Potential eines so frühzeitig möglichen Interventionsbeginns zur Verhinderung des Fortschreitens der ON in fortgeschrittene, irreversible Stadien.

In selbigen Studien konnte jedoch auch eine unvorhersehbare Entwicklung der ON beobachtet werden, sodass eine therapeutische Intervention im Verlauf teils nicht erforderlich war. In der Studie von Kawedia et al. [14] blieb die Mehrheit der ON (65%), die zunächst im Stadium I im Screening-MRT diagnostiziert wurden (bewertet mit den "National Cancer Institute Common Terminology Criteria of Adverse Events", deutsch "Allgemeine Terminologiekriterien von unerwünschten Ereignissen") während des Jahres im Follow-up unverändert, während sich 10% verbessert und 25% auf Stadium II bis IV verschlechtert haben. Das Ergebnis der ON mit anfänglichen Stadien II bis IV wurde nicht beschrieben [3]. Bei den von te Winkel et al. [28] berichteten ON-Läsionen symptomatischer Patienten präsentierten sich 50% der ON stabil, 25% rückläufig und 20% schritten fort. Es wurden keine Angaben dazu gemacht, ob symptomatische oder asymptomatische Läsionen mit größerer Wahrscheinlichkeit fortschreiten [3].

Mit einer kumulativen ON-Inzidenz von 71,8% hebt insbesondere die Studie von Kawedia et al. [14] den Bedarf an weiterer Forschung hervor, vor allem im Hinblick auf die Nachverfolgung, da der Verlauf der ON vorübergehend und reversibel sein kann und einige Veränderungen sich ohne Symptome beheben können. Auch bei Patienten mit Gelenkschmerzen und gelenknahen radiologischen Veränderungen bleibt der klinische Verlauf unvorhersehbar [2]. Es gilt also durch weitere Forschung insbesondere die Patienten herauszufiltern, die im Verlauf schwerwiegende symptomatische ON entwickeln werden. Kaste et al. [27] berichteten darüber hinaus, dass ausgedehnte ON des Femurkopfes bei Jugendlichen > 10 Jahren wahrscheinlicher als bei jüngeren Kindern sind. Während einige dieser ausgedehnten Läsionen spontan bei jüngeren Kindern verschwanden, war dies bei keinem Jugendlichen der Fall. Stattdessen benötigte die Hälfte dieser Jugendlichen später eine komplette Hüftendoprothetik [3]. Die Adoleszenz ist der am häufigsten identifizierte und bedeutendste Risikofaktor für die Entwicklung von ON [2, 17, 26, 32-34]. Da ein Alter > 10 Jahre alle anderen Therapie-bezogenen und Patienten-spezifischen Risikofaktoren dominiert, deutet dies darauf hin, dass die zugrunde liegende Pathophysiologie für die Entwicklung der ON wahrscheinlich altersspezifischen Faktoren zugeschrieben werden muss, die letztendlich die Knochenmorphologie und / oder den Stoffwechsel beeinflussen. Zu diesen altersspezifischen Faktoren könnten eine erhöhte Wachstumsrate und spezifische hormonelle Veränderungen in dieser Lebenszeit gehören [2, 35].

1.2.2 Aktuelle Studienlage: Die OPAL-Studie

Aufgrund der oben genannten Erkenntnisse und dem fortbestehenden Bedarf an weiterer Forschung wurde eine neue multizentrische Studie initiiert, welche versucht, die offen gebliebenen Fragen zu beantworten. In dieser OPAL-Studie (Osteonekrosen bei pädiatrischen Patienten mit <u>ALL</u> und LBL) wurden Kinder \geq 10 Jahre mit Diagnose einer ALL oder eines LBL mit einer Kombination aus MRT-Screening und symptom-orientierter Anamnese sowie Untersuchung zu definierten Zeitpunkten während der Behandlung evaluiert [2, 3].

Ein Ziel der Studie war es, den Anteil der Kinder zu bestimmen, der mit asymptomatischen ON in der MRT identifiziert werden kann und anschließend symptomatische ON entwickelt, um kritische Zeitpunkte in der ON-Entwicklung während der Therapie der ALL zu identifizieren und um den natürlichen Verlauf von asymptomatischen ON-Läsionen zu beschreiben, die nur durch die MRT identifiziert werden können. Diese Daten fehlen noch und sind für die spätere Bewertung von Interventionen obligatorisch, die darauf abzielen, das Fortschreiten der ON und Funktionsstörungen zu verhindern [2].

Auch die ersten Ergebnisse der OPAL-Studie zeigten wie vorausgegangene Untersuchungen einen unvorhersehbaren Verlauf asymptomatischer MRT-Läsionen, die von spontaner Regression über subklinische Persistenz bis zu rapider Progression reichen [3]. Es wurde beobachtet, dass besonders kniegelenksnahe Läsionen der Epiphyse sich häufig verschlimmern, während metaphysäre und diaphysäre Veränderungen für gewöhnlich keinen Schaden anrichten und öfter verschwinden, solange sie weit vom Gelenkspalt entfernt sind [3, 6].

Nur etwa die Hälfte der Patienten, die im Screening-MRT $ON \ge II$ (nach ARCO-Klassifikation) aufwiesen, entwickelten später symptomatische ON, wobei alle Patienten mit symptomatischen ON vorab Anzeichen asymptomatischer ON in der MRT zeigten. Schlussfolgernd ergab sich auch im Rahmen der OPAL-Studie, dass ein frühes MRT-Screening erhebliche asymptomatische Läsionen bei Kindern und Jugendlichen identifiziert, die im weiteren Krankheitsverlauf symptomatische ON entwickeln [6, 22].

Bei Betrachtung der MRT-Untersuchungen zum Diagnosezeitpunkt wurde deutlich, dass die überwiegende Anzahl der untersuchten Kinder (80%) radiologische leukämische Infiltrationen (LI) der Knochen aufweist [6]. Dies ließ die Überlegung zu, dass möglicherweise LI ein Indikator für sich später entwickelnde ON sein könnten. Die Analyse ergab jedoch, dass letztlich eine signifikant höhere Anzahl an Patienten ohne den initialen Nachweis radiologischer LI im betrachteten Zeitraum ON entwickelt (66,7% vs. 12,5%) [6, 22] und die ON-Entstehung daher unabhängig initialer radiologischer LI des Knochens auftritt. Daraus wurde geschlussfolgert, dass initiale radiologische LI der Knochen, detektiert durch eine einzelne MRT-Aufnahme zum Zeitpunkt der Diagnose, keine Kinder identifizieren können, die Hochrisikopatienten für die Entwicklung von asymptomatischen ON nach 6 Monaten unter Therapie oder symptomatischen ON in der gesamten Zeit der antileukämischen Behandlung sind [6, 22]. Die Rolle von LI des Knochens bei Kindern, die ON entwickeln, ist bislang unklar, da neben der antileukämischen Therapie auch die Leukämie selber die Entwicklung von ON begünstigen könnte [6, 36, 37]. Es wurden keine Unterschiede bei Kindern bzgl. Alter, Pubertätsstatus, weißen Blutkörperchen (WBC) oder Immunphänotyp der ALL beobachtet, die sich initial mit oder ohne LI der Knochen präsentierten. Die Daten verdeutlichen, dass das Auftreten von radiologischen LI nicht mit WBC, Immunphänotyp oder Blastenlevel im Knochenmark assoziiert ist und auch das Auftreten von ON daher keine Assoziation mit diesen Parametern zeigt [6, 15, 25, 38, 39].

Die bisherigen Erkenntnisse der OPAL-Studie erlauben die Schlussfolgerung, dass weder die klinische Präsentation noch die initiale radiologische Manifestation durch T1-gewichtete und Short tau inversion recovery (STIR-) Sequenzen in der MRT eine prospektive Aussage zum späteren Auftreten von ON möglich macht bzw. eine hinreichend präzise Prognose über deren Entwicklung erlaubt [3, 6]. Daher ist es dringend erforderlich, über die klassische Bildgebung hinaus andere Methoden in der MRT zu untersuchen, um eine frühzeitige Diagnose von ON zu ermöglichen.

Aus diesem Grund wurde als weiterer Ansatz zur Frühdetektion von ON im Rahmen der OPAL-Studie ein Fokus auf Veränderungen der Knochenstrukturen auf mikroskopischer Ebene gelegt. Möglicherweise zeigen Knochenareale bereits vor der Entstehung von Osteonekrosen erste Veränderungen in ihrer Diffusion oder Perfusion. Dieser Aspekt ist Bestandteil der hier vorliegenden Arbeit und wird in den folgenden Kapiteln genauer thematisiert.

1.3 Grundlagenkenntnisse

1.3.1 Magnetresonanztomographie

Die MRT hat in den vergangenen Jahrzehnten durch die zahlreichen Anwendungsgebiete in der medizinischen Diagnostik einen sehr hohen Stellenwert eingenommen. Sie ist als bildgebendes Verfahren besonders gut für die Darstellung von Weichteilen geeignet, aber auch Knochen und Gelenke können abgebildet werden.

Zur Bildgewinnung werden in der MRT starke Magnetfelder in Kombination mit magnetischen Wechselfeldern genutzt, die Wasserstoffprotonen im Körper anregen [40]. Da der menschliche Körper zu mehr als 60% aus Wasserstoffatomen besteht, ist dies in der klinischen MRT für die Bildgebung besonders günstig [41].

Dem Funktionsprinzip der MRT liegt die Kernspinresonanz (nuclear magnetic resonance, NMR) zugrunde: Das Proton als Atomkern des Wasserstoffatoms besitzt einen sogenannten Eigendrehimpuls ("Spin" oder auch "Kernspin"), d.h. es dreht sich um seine eigene Rotationsachse. Diese bewegte elektrische Ladung erzeugt ein magnetisches Dipolmoment. Wenn kein äußeres Magnetfeld vorhanden ist, sind die Protonen als magnetische Dipole im menschlichen Körper nicht geordnet, also zufällig ausgerichtet. Wird ein äußeres Magnetfeld angelegt, richten sich die Protonen parallel bzw. antiparallel entlang der Feldlinien des Magnetfeldes aus. Dabei nimmt ein größerer Teil die energetisch günstigere Parallelposition ein, sodass eine messbare Nettomagnetisierung (Längsmagnetisierung) entsteht. Durch das äußere Magnetfeld wird zudem die Präzessionsbewegung der Atomkerne angeregt, d.h. die Protonen kreisen neben der ohnehin bestehenden Eigenrotation in der Präzessionsfrequenz (auch als Larmorfrequenz bezeichnet) um die Longitudinalachse (Z-Achse) des Magnetfeldes (siehe Abbildung 1). [40, 41]



Abb. 1: **Physikalische Grundlagen der MRT** A) Physikalische Eigenschaften der Protonen B) Protonen ohne äußeres Magnetfeld C) Protonen in äußerem Magnetfeld (Abbildung modifiziert nach M. Reiser et al. [41])

Ein zusätzliches kurzfristiges Zuschalten eines Hochfrequenzimpulses führt zu einer Auslenkung der Nettomagnetisierung der Protonen aus der Longitudinalachse um einen bestimmten Winkel in eine energiereiche Position. Durch das Umklappen kreisen die Spins nun in der Transversalebene (XY-Ebene), wodurch eine messbare Quermagnetisierung induziert wird. Gleichzeitig wird durch den Hochfrequenzimpuls die Präzessionsbewegung angeglichen, d.h. die Protonen kreisen nun neben der gleichen Geschwindigkeit um ihre eigene Achse auch synchron in der gleichen Phasenlage ("in Phase"). [40, 41]

Nach dem Abschalten des Impulses kehren die Protonen in ihren Ausgangszustand zurück. Dieser Vorgang wird als Relaxation bezeichnet. Dabei finden zwei voneinander unabhängige Prozesse gleichzeitig statt, die für die Bilderzeugung ausschlaggebend sind: Die T1- und T2-Relaxation. Bei der T1-Relaxation erfolgt unter Energieabgabe an die Umgebung ("Gitter") die Rückkehr in die Längsmagnetisierung. Die transversale Quermagnetisierung nimmt ab, da die Vektoren in ihre ursprüngliche Lage (Z-Achse) zurückkippen. Die T1-Relaxation wird aufgrund der Energieabgabe an die Umgebung auch als Spin-Gitter-Relaxation bzw. durch die Rückkehr der Protonen in ihren Ausgangszustand als Längsrelaxation bezeichnet. Zeitgleich kommt es bei der T2-Relaxation zur sogenannten Dephasierung der Präzessionsbewegung, da die Protonen ihre Phasengleichheit verlieren ("out Phase"). Hierbei findet keine Energieabgabe an die Umgebung, sondern zwischen den Spins statt. Die T2-Relaxation wird daher als Spin-Spin-Relaxation oder Querrelaxation bezeichnet. Durch die Spin-Präzession wird das MR-Signal generiert, welches von der Spule aufgenommen werden kann. Da die verschiedenen Gewebearten des Körpers unterschiedliche Relaxationszeiten haben, entsteht ein Bildkontrast. [40, 41]

Weil es sich es sich nur um einen sehr kleinen magnetischen Impuls handelt, der von den Protonen bei der Relaxation ausgeht, werden sie für den Bildgebungsprozess mehrmals angeregt und die gemessenen Signale anschließend gemittelt. Eine Folge von mehreren Hochfrequenzimpulsen wird als Pulssequenz bezeichnet. Dabei spielen die Zeit zwischen zwei Anregungen (Repetitionszeit, TR) und die Zeit zwischen Anregung und Signalaufnahme (Echozeit, TE) als Sequenzparameter neben den Gewebeparametern (T1, T2 und der Protonendichte) für die Bildgebung bzw. den Bildkontrast eine wichtige Rolle. [41]

Die T1-gewichtete Sequenz zeichnet sich durch eine kurze Repetitions- und Echozeit aus. Dadurch stellt sich z.B. Fett mit einer sehr hohen Signalintensität dar und erscheint im Bild hell (hyperintens), während beispielsweise Wasser, Muskeln oder Knochen in dieser Sequenz ein niedriges Signal aufweisen und sich somit dunkel (hypointens) abbilden. Charakteristisch für die T2-gewichtete Sequenz sind eine längere Repetitions- und Echozeit und damit eine hohe Signalintensität für z.B. Fettgewebe und Wasser sowie eine niedrige Signalintensität für Muskelgewebe und Knochen. [41]

Die Signale bestimmter Gewebe, z.B. von Fett oder Wasser, können durch das Einfügen von Sättigungsimpulsen vor der eigentlichen Anregung der Protonen durch den Hochfrequenz-Impuls unterdrückt werden (inversion recovery). Dabei geht ein 180°-Impuls, der die Längsmagnetisierung in die entgegengesetzte Richtung (negative Z-Richtung) klappt, dem eigentlichen 90°-Impuls voraus, der für die Auslenkung der Protonen in die XY-Ebene verantwortlich ist. Die Zeit zwischen den beiden Impulsen wird Inversionszeit genannt. Sie bestimmt, von welchem Gewebe das Signal unterdrückt wird. Die Short tau inversion recovery (STIR-) Sequenz ist hierbei eine T1-abhängige Sequenz zur Suppression des Fettsignals. [40, 41]

1.3.2 Diffusionsbildgebung

1.3.2.1 Diffusion weighted imaging (DWI)

Die klinische MRT hat in den vergangenen Jahren eine ausgeprägte Weiterentwicklung durchlaufen. Nicht nur die technische Weiterentwicklung, die neue Dimensionen der Bildgebung ermöglicht (wie z.B. Echtzeit-MRT-Untersuchungen), sondern auch die Erweiterung Übertragung und bereits bestehender Methoden und Untersuchungsmöglichkeiten auf andere Anwendungsgebiete spielen eine große Rolle. Hervorzuheben ist hierbei vor allem die Diffusionsbildgebung, die Grundlage dieser Arbeit ist. Früher wurde sie in der klinischen MRT insbesondere zur Diagnostik der zerebralen Ischämie verwendet. Inzwischen hat sie ein sehr breites Indikationsspektrum, wobei vor allem onkologische und zunehmend auch entzündliche Erkrankungen zu den Haupteinsatzgebieten dieser Bildgebung gehören [42, 43].

Die diffusionsgewichtete Bildgebung wird auch zukünftig ein fortbestehender Bereich intensiver Forschung bleiben, denn sie ermöglicht Informationen, die mit anderen Methoden nicht oder nur in sehr begrenztem Umfang gewonnen werden können und besitzt damit ein großes Potential in der medizinischen Diagnostik [40].

Das Funktionsprinzip der diffusionsgewichteten Bildgebung basiert auf der Diffusion, welche den Ausgleich eines Konzentrationsgefälles von Flüssigkeiten, Gasen oder Festkörpern durch die Eigenbewegung (Brown'sche Molekularbewegung) der jeweils enthaltenen Teilchen bezeichnet. In einer Substanz ohne Konzentrationsgefälle wird die Teilchenbewegung Selbstdiffusion genannt [43, 44].

Wie bereits zuvor erwähnt, besteht der menschliche Körper zu einem überwiegenden Anteil aus Wassermolekülen. Diese können im menschlichen Körper jedoch nur zum Teil ungestört diffundieren, denn sie werden einerseits durch Körperbestanteile (wie z.B. Zellmembranen) an der freien Diffusion gehindert und andererseits findet über richtungsvorgebende Leitungsbahnen (wie z.B. Blut- und Lymphgefäße, aber auch Nervenfasern) ein Transport der Moleküle mit unterschiedlich hohen Geschwindigkeiten in ganz bestimmte Richtungen statt. Wenn die Diffusion der Teilchen durch solche Barrieren oder Richtungsvorgaben eingeschränkt wird, liegt eine gerichtete, anisotrope Diffusion vor [43]. Eine uneingeschränkte Beweglichkeit der Teilchen hingegen wird als isotrope Diffusion bezeichnet. Sie besteht zum Beispiel im Liquor der Hirnventrikel oder in der Gallenblase [40]. Durch die Messung entsprechender Diffusionseffekte in der MRT wird die Darstellung mikroskopischer Prozesse im Gewebe ermöglicht, sodass wichtige Rückschlüsse auf dessen Beschaffenheit und Architektur gezogen werden können [43, 45].

Für die Diffusionsbildgebung ist relevant, welche Strecke die Moleküle aufgrund der Wasserselbstdiffusion im menschlichen Körper mit der Zeit durchschnittlich zurücklegen, denn die Signalintensität eines Gewebes oder einer Körperflüssigkeit wird von der mittleren Distanz bestimmt, über die Wassermoleküle pro Zeiteinheit verschoben werden [40]. Die Diffusion weighted imaging (DWI-) Sequenz ist eine der T2-Wichtung sehr ähnliche Sequenz, die die Diffusion von Wassermolekülen erfasst. Hierbei werden starke Magnetfeldgradienten im Sinne eines Gradientenimpulspaares vor und nach einem 180°-Inversionsimpuls geschaltet. Der erste Gradientenimpuls führt zu einer Dephasierung der Spins. Sofern alle Spins zwischen erstem Impuls und Signalaufnahme am gleichen Ort bleiben, erfolgt durch den zweiten Gradientenimpuls eine vollständige Rephasierung. Findet jedoch in der Zwischenzeit ein Ortswechsel der Spins aufgrund von Diffusion statt, werden sie nur unvollständig rephasiert, was zu einem Signalabfall führt [43]. Der entstehende Signalverlust durch die Verschiebung der Wassermoleküle ist dabei umso größer, je schneller sie sich in der Richtung des vom MRT angelegten Gradientenfeldes bewegen. [40]

Wenn sich in einem stark diffusionsgewichteten Bild ein Gewebeabschnitt heller von seiner Umgebung abgrenzt, besteht in diesem Areal eine verlangsamte Wasserdiffusion. Eine mögliche Ursache für die stärkere Signalintensität könnte eine Zellschwellung (z.B. nach einem Apoplex) sein, denn durch den vergrößerten intrazellulären Wasseranteil wird die Wasserdiffusion innerhalb des eingeengten extrazellulären Raums eingeschränkt. Demzufolge kann auch eine dichte Neubildung von Zellen (z.B. ein Tumor oder eine Metastase) ursächlich für einen sehr hell erscheinenden Herd in der Diffusionsbildgebung sein. Andersherum ist davon auszugehen, dass sich nekrotisches Gewebe (und damit auch Osteonekrosen) in einem stark diffusionsgewichteten Bild dunkler von gesundem Gewebe kontrastiert, da hier ein vergrößerter Anteil des extrazellulären Raums existiert. [40]

Eine erhöhte Signalintensität in einem stark diffusionsgewichteten Bild muss aber nicht automatisch ein Hinweis auf eine pathologische Veränderung sein. Findet die im Körper aufgrund der anatomischen Strukturen gerichtete Diffusion nicht parallel sondern schräg oder sogar orthogonal zur angelegten Gradientenrichtung statt, diffundieren die Wassermoleküle entlang der Gradienten weniger weit und lassen das Bild damit heller erscheinen, als wenn die anatomischen Strukturen in Richtung des Gradientenfeldes verlaufen. Damit solche falsch-positiven Beurteilungen vermieden werden können, muss die Signalstärke in mindestens drei diffusionsgewichteten Aufnahmen mit senkrecht aufeinander ausgerichteten Gradientenimpulspaaren gemessen und der Wert gemittelt werden. Dieser stellt dann einen zuverlässigen Indikator für pathologische Veränderungen der Diffusion in anisotrop strukturierten Geweben dar. [40]

Eine weitere Problematik bei der Interpretation von Diffusionsbildern ist der T2-Durchschein-Effekt (T2-shine-through-Effekt) in Geweben mit langen T2-Relaxationszeiten. Flüssigkeiten und Gewebe mit schneller isotroper Diffusion, wie z.B. Liquor oder die Gallenblase und damit großem Signalabfall im Diffusionsbild, stellen sich im T2-gewichteten Vergleichsbild sehr hell dar und können in einem nur mäßig diffusionsgewichteten Bild trotz des großen Signalverlusts weiterhin hell kontrastiert sein. Bei der Beurteilung muss vermieden werden, solche Regionen fälschlicherweise mit einer verminderten Diffusion zu bewerten. Erst bei einer sehr starken Diffusionsgewichtung kann eine beobachtete Signalveränderung der Diffusion zugeschrieben werden. [40]

1.3.2.2 Apparent diffusion coefficient (ADC), b-Wert und ADC-Karten

Der Grad der Diffusion der Wassermoleküle im menschlichen Körper wird quantitativ mit einer Diffusionskonstanten, dem Apparent diffusion coefficient (ADC) erfasst, welcher umso größer ist, je weiter sich die Moleküle durchschnittlich verschieben. Er ist richtungsabhängig, d.h. der beobachtete Wert wird durch die Richtung des angelegten Gradientenfeldes beeinflusst [40]. Die Einheit des ADC beträgt Quadratmillimeter pro Sekunde (mm²/s) [43].

Neben dem richtungsabhängigen ADC-Wert des Gewebes hängt das gemessene Signal darüber hinaus von den technischen Parametern wie Gradientenstärke, Gradientendauer, Diffusionszeit etc. ab, mit denen eine Diffusionsgewichtung erstellt wird. Die technischen Parameter werden als b-Wert zusammengefasst [43]. Er bestimmt die Stärke der Signalabschwächung, die für eine gegebene Diffusionskonstante erwartet wird. Je grösser der b-Wert, desto stärker ist der durch Diffusion verursachte Signalverlust. Seine Einheit wird in Sekunden pro Quadratmillimeter (s/mm²) angegeben. Wenn eine Messung mit unterschiedlichen b-Werten bei gleichbleibender Gradientenrichtung wiederholt wird, kann der ADC quantitativ aus dem Verhältnis der Signalstärken bestimmt werden. [40]

Wird der ADC in unterschiedlichen Graustufen entsprechend seines (in der Regel über drei Richtungen gemittelten) Wertes pro Volumeneinheit (Voxel) abgebildet, handelt es sich um eine sogenannte ADC-Karte (ADC-map). Eine Gewebestruktur, die sich in der DWI von gesundem Gewebe hell abgrenzt (reduzierte Diffusion der Wassermoleküle), stellt sich in der dazugehörigen ADC-Karte dunkel dar (verringerte mittlere Diffusionskonstante), d.h. es liegt eine Kontrastumkehr vor. Die ADC-Karte bietet gegenüber der DWI den Vorteil, dass hier das Problem des T2-Durchschein-Effektes behoben wird, da der ADC ein quantitatives Maß für den diffusionsbedingten Signalabfall widerspiegelt. Damit erscheinen auch Flüssigkeiten mit einer langen T2-Relaxationszeit in der ADC-Karte so hell, wie es gemäß des Diffusionsverhaltens und damit verbundenen Signalverlustes erwartet werden kann, und nicht irrtümlich dunkel. Ein Nachteil der ADC-Karte gegenüber der DWI ist jedoch ein aufgrund der invertierten Signalintensitäten erschwerter Vergleich mit den Diffusionsbildern. Oft werden diffusionsgestörte Areale in der ADC-Karte dunkler als ihre Umgebung abgebildet, wodurch sie schlechter sichtbar sind, als wenn sie sich hell kontrastieren. [40]

Um eine bessere Beurteilung solcher Regionen zu ermöglichen, eignen sich exponentielle ADC-Karten. Sie eliminieren ebenfalls das Problem der T2-Abhängigkeit, bieten aber gleichzeitig einen ähnlichen Kontrast wie Diffusionsbilder, d.h. je langsamer die Diffusion von Wassermolekülen, desto heller die Darstellung der betroffenen Region [40, 46].

Neben der Diffusion beeinflussen auch andere Effekte das Signal der DWI [43]. Insbesondere Signalunterschiede zwischen Bildern, von denen mindestens eines mit kleinem b-Wert aufgenommen wurde, sind stark abhängig von weiteren Bewegungen der Wassermoleküle, die nicht mit der Diffusion zusammenhängen. Zu diesen Bewegungen zählt vor allem die Mikroperfusion, also die Gewebedurchblutung im fein strukturierten Kapillarbett, die bedeutend schneller als die Diffusionsbewegung ist [40].

1.3.2.3 Intravoxel incoherent motion (IVIM)

Mitte der 1980er Jahre prägten Denis Le Bihan et al. [47, 48] den Begriff Intravoxel incoherent motion (IVIM), um die mikroskopische Bewegung von Wassermolekülen innerhalb eines Voxels zu beschreiben. Bei Verwendung starker Gradientenimpulse (hohe b-Werte) während der MR-Signalgenerierung sind IVIM-induzierte Signalverluste hauptsächlich auf Diffusion, also die Brown'sche Molekularbewegung von Wassermolekülen, zurückzuführen. Werden jedoch schwächere Gradienten (niedrige b-Werte) geschaltet, trägt neben der Diffusion ein zweiter IVIM-Mechanismus zum Signalverlust bei: Die Mikrozirkulation von Blut im Kapillarnetzwerk, also die Perfusion [48, 49].

Wenn nur Diffusionseffekte berücksichtigt werden, kann die Signalintensität S relativ zur Basislinie S_0 unter Annahme eines mono-exponentiellen Zusammenhangs ausgedrückt werden als [43, 48]:

 $S(b) = S_0 * e^{-b*ADC}$ (Parameter der Formel modifiziert nach: Le Bihan et al. [48])

Dabei ist ADC der Diffusionskoeffizient und b der b-Wert, der wie oben beschrieben die Stärke und Dauer der Diffusionsgradienten widerspiegelt [43, 48].

Bei mehreren Signalmessungen mit einer großen Anzahl unterschiedlicher b-Werte werden jedoch erhebliche Abweichungen von diesem vereinfachten mono-exponentiellen Modell beobachtet. Insbesondere bei niedrigen b-Werten ist der Signalverlust durch die mikroskopische Perfusion größer (und der berechnete ADC höher) als erwartet (siehe Abbildung 2) [48, 50, 51].



Abb. 2: Abweichung des erwarteten MR-Signals im mono-exponentiellen Modell. Die logarithmisch skalierte Signalintensität ist gegen die b-Werte aufgetragen. ADC (grün) stellt als Diffusionskoeffizient im mono-exponentiellen Modell die Signalintensität nur unter Einbeziehung der Diffusion dar. Bei niedrigen b-Werten müssen jedoch IVIM-Effekte (grau) aufgrund mikroskopischer Perfusion berücksichtigt werden, sodass eine neue Kurve (lila) im Sinne eines bi-exponentiellen Modells entsteht (Abbildung modifiziert nach Kim et al. [52, 53])

In Erweiterung des mono-exponentiellen Modells wurde daher von Le Bihan et al. ein biexponentielles Modell vorgeschlagen, das sowohl Diffusions- als auch Perfusionseffekte berücksichtigt: Das IVIM [47, 48]. Da hierbei die Perfusion in den kleinen Blutgefäßen als pseudozufällig gilt, wird sie auch als Pseudodiffusion bezeichnet. Das Signal S hängt in diesem Modell nicht nur vom echten Diffusionskoeffizienten ADC, sondern auch vom Pseudodiffusionskoeffizienten ADC* und der Perfusionsfraktion Fp ab [43, 48, 49]:

$$S(b) = S_0[(1 - Fp) * e^{-b * ADC} + Fp * e^{-b * ADC*}]$$

(Parameter der Formel modifiziert nach: Le Bihan et al. [48])

Fp (dimensionslos) als Perfusionsfraktion beschreibt den Prozentsatz eines Voxels, der von Kapillaren eingenommen wird. Umgekehrt stellt (1-Fp) den extravaskulären Raum dar, in dem nur Diffusionseffekte (mit echtem Diffusionskoeffizient ADC) auftreten. Der Parameter ADC* wird als Pseudodiffusionskoeffizient bezeichnet und spiegelt die De- und folgende Rephasierung der Spins aufgrund der Perfusion in den Kapillaren wider [48, 54]. Der ADC drückt auch in diesem Modell weiterhin die De- bzw. Rephasierung der

Wassermoleküle durch reine Diffusionseffekte aus. Eine graphische Darstellung des biexponentiellen Modells und aller Parameter ist in Abbildung 3 abgebildet.



Abb. 3: Angepasste Kurve des MR-Signals unter Berücksichtigung des bi-exponentiellen Modells. Die logarithmisch skalierte Signalintensität ist gegen die b-Werte aufgetragen. Bei sehr niedrigen b-Werten nehmen die Signalwerte durch mikroskopische Perfusion anfänglich steiler (blau gestrichelter Kreis) und bei größer werdenden b-Werten durch Diffusion flacher ab (rot gestrichelter Kreis), als durch das mono-exponentielle Modell ausgedrückt (grün). ADC* (blau) stellt den Verlauf des Pseudo-Diffusionskoeffizienten bei sehr kleinen b-Werten dar und spiegelt die dort vorrangigen Perfusionseffekte für den Signalverlust wider. Der modifizierte ADC (rot) als echter Diffusionskoeffizient bringt die Diffusionseffekte bei größer werdenden b-Werten zum Ausdruck. Fp entspricht der Perfusionsfraktion. Durch Anwendung der IVIM-Analyse mit Separation von Diffusion und mikroskopischer Perfusion wird das bi-exponentielle Verhalten des Signals bei der Signalabschwächung charakterisiert (lila). Die Verwendung einer einfachen mono-exponentiellen ADC-Linie (grün) liefert in diesem Fall eine suboptimale Charakterisierung des Signalverhaltens. (Abbildung modifiziert nach Kim et al. [52, 53])

Der Pseudodiffusionskoeffizient ADC* wird manchmal als schnelle Diffusionskomponente (ADC_{fast}) bezeichnet, während der ADC als echter Diffusionskoeffizient zum Teil langsame Diffusionskomponente (ADC_{slow}) genannt wird [49]. Denn abhängig von der Steilheit des Anfangsabschnitts der Kurve (die wiederum von der Kapillardichte, also der Perfusionsfraktion, sowie der Perfusion abhängt) kann ADC* 5 - 10 x größer als ADC sein [50, 51, 54]. Weil die Pseudodiffusion hauptsächlich durch die Mikroperfusion im Kapillarbett geprägt wird, wird diese im Folgenden dieser Arbeit zur Vereinfachung nur noch Perfusion genannt.

Durch Erfassen von DWI-Bildern mit mehreren b-Werten und Anpassen der Daten an die obige Gleichung ist es möglich, ADC, ADC* und Fp zu schätzen und parametrische Karten für jeden Parameter zu erstellen, sodass damit Diffusion und Perfusion getrennt abgebildet werden können [48, 49, 55]. Typischerweise werden zwischen sechs und zehn Datensätze mit b-Werten zwischen 0 und 1000 s/mm² generiert, wobei mindestens die Hälfte der Messungen bei weniger als 250 s/mm² durchgeführt wird [54].

IVIM war trotz der bahnbrechenden Möglichkeit, Diffusion und Perfusion mittels Bildgebung getrennt voneinander darstellen zu können, am Anfang sehr kontrovers diskutiert und es hat über 20 Jahre gedauert, bis das Konzept im klinischen Alltag verwendet wurde [56, 57]. Die IVIM-Bildgebung hat dabei vor allem in den letzten Jahren eine bemerkenswerte Wiederbelebung für Anwendungen im gesamten Körper erfahren, insbesondere im Bereich der onkologischen Diagnostik [51, 57]. Sie stellt auch die Basis für die hier vorliegende Arbeit dar.

1.4 Ziele der Arbeit

Wie aus den obigen aktuellen Studienerkenntnissen hervorgeht, stellt die MRT bei Kindern mit ALL und LBL ein wichtiges diagnostisches Mittel in der Frühdetektion von ON dar, die als Spätfolge der antileukämischen Therapie auftreten [2].

Eine detaillierte Anamnese und klinische Untersuchung alleine sind nicht in der Lage, unerkannte ON anhand klinischer Symptome frühzeitig zu entdecken [6]. Selbst wenn sich Kinder und Jugendliche mit Symptomen präsentieren, deren Ursache sich in der MRT als ON bestätigt, handelt es sich um symptomatische ON, die in der Regel ein fortgeschrittenes, irreversibles Stadium widerspiegeln, in dem keine adäquaten Therapien zur Verfügung stehen [2, 3, 23]. Bisherige MRT-Methoden mittels T1-Wichtungen und STIR-Sequenzen können neben symptomatischen auch asymptomatische ON visualisieren. Damit bietet die MRT-Bildgebung gegenüber der klinischen Evaluation den Vorteil der Detektion bereits entstandener ON, die aber aufgrund fehlender klinischer Symptome noch nicht vermutet wurden [6, 22]. Dennoch können mit bisherigen MRT-Methoden keine Stadien sehr früher ON identifiziert oder gar Knochenregionen aufgezeigt werden, die bei einem Patienten noch nicht von ON betroffen sind, sich aber als solche Regionen prädisponieren.

Die vollständige Pathogenese der aseptischen ON ist aufgrund eines komplexen, multifaktoriellen Prozesses noch nicht ganz verstanden. Bekannt ist, dass der aseptischen ON der Verschluss von Blutgefäßen zugrunde liegt, die den entsprechenden Knochenabschnitt versorgen. Durch die Ischämie kommt es zu einer lokal begrenzten Destruktion des Gewebes und zu einem Abbau des entsprechenden Knochenareals. Es ist anzunehmen, dass nicht nur in der resultierenden ON selber, sondern bereits vor der Entstehung einer irreversiblen aseptischen ON durch die Ischämie eine verminderte mikroskopische Perfusion im Gewebeabschnitt vorliegen muss. [58-61]

Darüber hinaus existieren in nekrotischen Regionen durch den Zelluntergang, der mit einer Gewebezerstörung und einem konsekutiven Abbau der trabekulären Knochenstrukturen einhergeht, weniger Wassermoleküle intrazellulär und es kommt durch eine Vergrößerung des extrazellulären Raums zu einer erhöhten Diffusion [40]. Andererseits findet durch zunehmende Barrieren während des Umbauprozesses der Knochenstruktur eine verminderte Diffusion der Wassermoleküle statt.

Möglicherweise existieren erste strukturelle Veränderungen auf mikroskopischer Ebene, die mit einem geänderten Diffusions- und Perfusionsverhaltens einhergehen, bereits vor dem Sichtbarwerden von ON in der klassischen MRT-Bildgebung, also beispielsweise in T1-Wichtungen und STIR-Sequenzen.

Aus diesem Grund wird im Rahmen dieser Arbeit eine womöglich frühzeitig stattfindende Veränderung der Diffusion und Perfusion mittels Diffusionsbildgebung in der MRT zur Frühdiagnose von ON untersucht.

Ziel dieser Arbeit ist es, im Rahmen der OPAL-Studie (Osteonekrosen bei pädiatrischen Patienten mit ALL und LBL) mithilfe der Bestimmung von Diffusions- und Perfusionsanteilen in ADC-Karten, die aus einer DWI-Analyse über das bi-exponentielle IVIM Modell gewonnen werden, eine prospektive Aussage zur Entstehung von ON treffen zu können. Hierbei werden retrospektiv osteonekrotische Areale und gesund gebliebene Knochenabschnitte desselben Untersuchungszeitpunktes mit ihren jeweiligen Korrelaten der Voruntersuchungen und insbesondere der Ausgangsuntersuchung verglichen.

Die Arbeit basiert auf der Hypothese, dass es mithilfe dieser Analyse möglich ist, noch vor einer erstmaligen Detektion von Läsionen in der T1-Wichtung und STIR-Sequenz Hochrisikopatienten für die Entwicklung erheblicher ON zu identifizieren und eine präzise Aussage über den weiteren Verlauf von ON zu ermöglichen.

2. Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

2.1.1 Die OPAL-Studie und deren Genehmigung (Ethikvotum)

Die OPAL-Studie (Osteonekrosen bei pädiatrischen Patienten mit ALL und LBL) war eine prospektive, multizentrische, deutschlandweite Untersuchung, bei der Kinder und Jugendliche mit ALL oder LBL eingeschlossen wurden, die bei Diagnosestellung mindestens das 10. Lebensjahr erreicht hatten und innerhalb der Primärstudien AIEOP-BFM ALL 2009, CoALL-08-09 oder NHL-BFM 2012 behandelt wurden. An der Patientenrekrutierung nahmen bundesweit insgesamt 18 Zentren teil. Im Rahmen der OPAL-Studie wurde neben einer gezielten Anamnese durch Fragebögen und Untersuchungen anhand klinischer Scores unter anderem die Wertigkeit von MRT-Untersuchungen für die Frühdiagnose von ON bei Kindern und Jugendlichen geprüft. Die genauen Hintergründe, Ziele sowie zu beantwortenden Fragen der Studie und die bisherigen Ergebnisse wurden in der Einleitung ausführlich thematisiert.

Alle Primärstudien wurden durch die jeweiligen institutionellen Prüfungsausschüsse zugelassen. Die OPAL-Studie wurde durch die Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf geprüft (Studiennummer 3707). Ein zusätzliches Amendment zum konkreten Vorhaben der Bestimmung von Diffusions- und Perfusionsanteilen in ADC-Karten liegt ebenfalls durch die Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf vor. Für die Teilnahme an der OPAL-Studie erfolgte eine separate Einwilligung durch die Jugendlichen und ihre gesetzlichen Vertreter.

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Es wurde eine retrospektive Analyse aller zwischen 03/2013 und 12/2018 in die OPAL-Studie inkludierten Patienten (n = 93) mit mindestens drei innerhalb der Studie optional durchgeführten DWI- Untersuchungen der Knie in der MRT initial zum Diagnosezeitpunkt und nach 6, 9 und 12 Monaten Verlaufskontrolle unter antileukämischer Therapie durchgeführt (n = 19). Die optionalen DWI-Sequenzen wurden in insgesamt vier der 18 teilnehmenden Zentren erhoben. Patienten der OPAL-Studie ohne eine ausreichende Anzahl an DWI-Aufnahmen konnten entsprechend nicht berücksichtigt werden (n = 74). Alle 93 Patienten der OPAL-Studie wurden auf folgende Ein- und Ausschlusskriterien hin überprüft. Eine schematische Darstellung der genauen Patientenauswahl ist in Abbildung 4 dargestellt. Einschlusskriterien:

- Einschluss in die OPAL-Studie zwischen 01.03.2013 und 31.12.2018
 - Pädiatrische Patienten mit ALL oder LBL und Behandlung innerhalb der Primärstudien AIEOP-BFM ALL 2009, CoALL-08-09 oder NHL-BFM 2012
 - \circ Alter bei Diagnosestellung ≥ 10 Jahre und < 18 Jahre
- MRT- Untersuchung der unteren Extremität bei Diagnosestellung (Zeitpunkt 0 Monate) <u>und</u> zu mindestens zwei weiteren Zeitpunkten nach 6, 9 und/oder 12 Monaten im Follow-up
- Vorliegen von insgesamt mindestens drei optional durchgeführten DWI-Sequenzen der Knie bei Diagnosestellung (Zeitpunkt 0 Monate) <u>und</u> nach 6, 9 und/oder 12 Monaten im Follow-up

Ausschlusskriterien:

- Einschluss des/der Patienten/-in die OPAL-Studie nach dem 01.01.2018 (Zu kurzer Follow-up-Zeitraum bis 31.08.2018 f
 ür ausreichend MRT-Untersuchungen, insbesondere f
 ür 12 Monate nach Diagnosestellung)
- Fehlende MRT-Untersuchung der unteren Extremität bei Diagnosestellung
- Ausschließlich MRT-Untersuchung der unteren Extremität bei Diagnosestellung, kein Follow-up
- MRT-Untersuchung bei Diagnosestellung ohne optionale DWI-Sequenz
- MRT-Untersuchung bei Diagnosestellung mit optionaler DWI-Sequenz, aber fehlenden DWI-Sequenzen im Follow-up
- Weniger als zwei MRT-Untersuchungen mit optionaler DWI-Sequenz im Follow-up
- Zeitpunkt der Follow-up-Untersuchungen nicht nach 6, 9 und 12 Monaten, sondern zu dazwischenliegenden Zeitpunkten
- Es wurden nur MRT-Aufnahmen der Hüften und/oder Sprunggelenke erstellt, nicht aber der Knie



Abb. 4: Schematische Darstellung der Patientenauswahl

2.2 Bildmaterial/Datenerhebung

2.2.1 Erstellung der MRT-Aufnahmen

Alle MRT-Aufnahmen wurden mit einem 1,5 Tesla MRT (Magnetom Avanto; Siemens Healthcare, Erlangen, Deutschland) unter Verwendung der Standardspule durchgeführt. Die MRT-Aufnahmen wurden gemäß eines standardisierten MRT-Protokolls bestehend aus Short tau inversion recovery (STIR-) und T1-gewichteten Sequenzen sowie den optionalen DWI-Sequenzen für acht aufeinanderfolgende b-Werte (b= 0/50/100/200/400/600/900/1200 s/mm²) in Koronarebene vom distalen Femur bis zur proximalen Tibia über das Kniegelenk durchgeführt. Für die STIR-Aufnahmen wurde eine Schichtdicke von 3 mm gewählt. Die Echozeit (echo time) betrug 29 ms, die Wiederholungszeit (repetition time) 3500 ms. Für die T1-gewichteten Bilder fand eine Turbo-Spin-Echo-Sequenz Anwendung. Die Schichtdicke wurde hier ebenfalls auf 3 mm festgelegt. Die Echozeit betrug 13 ms bei einer Wiederholungszeit von 450 ms. Bei den DWI-Sequenzen betrug die Schichtdicke 6 mm, die Echozeit 78 oder 87 ms und die Wiederholungszeit 3700 oder 4100 ms, abhängig davon, ob die Untersuchung auswärts oder in der Kinderradiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf durchgeführt wurde.

2.2.2 Erstellung der ADC-Karten

Aus den DWI-Sequenzen wurden mittels bi-exponentieller Berechnung durch das Intravoxel incoherent motion (IVIM) Modell mit Hilfe einer an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf entwickelten Software (Stroketool Version 3.1 DIS-Digital Image Solutions HJ. Wittsack) Apparent diffusion coefficient maps (ADC-Karten) generiert. Die ADC-Werte wurden automatisch durch die Software ermittelt und dann als parametrische Karten dargestellt, die den Grad der Diffusion der Wassermoleküle durch die verschiedenen Gewebe abbilden.

Dabei wird im Rahmen des IVIM Modells, wie in der Einleitung detailliert beschrieben, in eine Diffusions-Komponente (entspricht der schnellen Diffusion des Modells) und in eine Pseudodiffusions-Komponente (entspricht der langsamen Diffusion des Modells) unterschieden. Die Pseudodiffusion wird wie oben erläutert hauptsächlich durch die Mikroperfusion im Kapillarbett geprägt, sodass diese im Folgenden dieser Arbeit zur Vereinfachung nur noch Perfusion genannt wird. Mit Hilfe der Software entstanden pro Patient und Untersuchungszeitpunkt eine ADC-Karte der Diffusion (biADCd), eine ADC-Karte der Perfusion (biADCp), eine ADC-Karte der Perfusionsfraktion (biFp) sowie die klassische mono-exponentielle ADC-Karte (monoADC) (siehe Abbildung 5). Darüber hinaus wurden für die mono- und bi-exponentiellen ADC-Karten noch weitere Karten zur Qualitätskontrolle generiert. Diese R²-Karten spiegeln das Bestimmtheitsmaß bzw. die Anpassungsgüte (goodness of fit) wider, welche angibt, wie gut die durch das Modell vorhergesagten Werte mit den tatsächlichen Werten übereinstimmen. Die Berechnungen zur Generierung der bi-exponentiellen ADC-Karten erfolgten auf Basis des IVIM Modells gemäß: $S(b) = S_0[(1 - biFp) * e^{-b*biADC_d} + biFp * e^{-b*biADC_p}]$ und für das mono-exponentielle Modell gemäß: $S(b) = S_0 * e^{-b*monoADC}$

0 Monate

12 Monate





Abb. 5: **ADC-Karten der Knie in Koronarebene.** Zeitpunkt 0 Monate (links) und 12 Monate (rechts) im Vergleich. A) biADCd B) biADCp C) biFp D) monoADC

2.3 Bildanalyse/Datenauswertung

Die Messung der Diffusions- und Perfusionsanteile erfolgte in den verschiedenen ADC-Karten durch das Verwenden von Regions of interest (ROIs) beidseits an der Dia-, Metaund Epiphyse am distalen Femur sowie der proximalen Tibia zum Diagnosezeitpunkt und nach 6, 9 und 12 Monaten unter antileukämischer Therapie. Die ROIs wurden dabei in der monoADC in der Enduntersuchung nach 12 Monaten gemessen und anschließend auf die Voruntersuchungen und die bi-exponentiellen ADC-Karten übertragen.

Bei der Analyse galt es, die Aufnahmen eines Patienten mit bereits aufgetretenen ON (12 Monate) mit seinen jeweiligen Voraufnahmen (z.B. 0 Monate), bei denen noch keine ON detektiert werden konnten, über Bestimmung der genannten Parameter an denselben Regionen zu vergleichen. Mithilfe anatomischer Leitstrukturen wurde durch Lagekorrekturen gesichert, dass in den Voruntersuchungen die gleichen Regionen wieder getroffen wurden. Bei der Analyse wurden Bereiche mit Nekrosen (siehe Abbildung 6A, rot) und solche ohne Nekrosen (siehe Abbildung 6A, blau) zu je einer Gruppe zusammengefasst und diese dann mit den Voraufnahmen in Relation zueinander analysiert.

12 Monate

0 Monate



Abb. 6: ROIs in der monoADC nach 12 Monaten und in der Ausgangsuntersuchung (0 Monate).
A) Untersuchung nach 12 Monaten; ROIs mit Osteonekrosen (rot), ROIs ohne Osteonekrosen (blau);
B) Ausgangsuntersuchung zum Zeitpunkt 0 Monate; Keine Osteonekrosen erkennbar, ROIs entsprechend späterer Osteonekrosenentstehung farblich markiert.

Es entstanden abhängig von der Anzahl an ON, die ein Patient entwickelt hat, pro Patient und Untersuchung im Schnitt 20 ROIs, also intraindividuell über vier Untersuchungen 80 ROIs. Dies umfasste bei 19 Patienten eine Gesamtzahl von etwa 1520 ROIs, die miteinander verglichen wurden. Mit jedem ROI wurden verschiedene Parameter erhoben (u.a. die mittlere Intensität und die Standardabweichung) und die Messungen wurden in den drei biexponentiellen und der mono-exponentiellen ADC-Karte sowie deren jeweiligen R²-Karten zur Qualitätskontrolle durchgeführt. Insgesamt wurden über 54000 Messwerte erfasst.

Alle Aufnahmen lagen nur pseudonymisiert ohne die Kenntnis klinischer Befunde vor. ON wurden entsprechend der ARCO-Klassifikation definiert. Die eingezeichneten ROIs in den jeweiligen MRT-Aufnahmen wurden durch Herrn Dr. Klee (Facharzt für Pädiatrie, Radiologie und Kinderradiologie) unter anonymisierten Bedingungen auf ihre Richtigkeit kontrolliert.

2.4 Dokumentation und statistische Analyse

Zur Dokumentation der gemessenen Daten wurde Excel 2010 (Microsoft Inc., USA) verwendet. Mit jedem ROI wurden mehrere Parameter erhoben und entsprechend dokumentiert: minimale Intensität, maximale Intensität, mittlere Intensität und Standardabweichung.

Zur weiteren statistischen Analyse fand die mittlere Intensität eines jeden ROI aus allen anatomischen Regionen (Epi-, Meta-, und Diaphyse) Verwendung. Es wurde ein arithmetischer Mittelwert der mittleren Intensitäten pro Patient und Untersuchungszeitpunkt für Regionen mit ON und solche ohne ON gebildet. Die statistische Auswertung erfolgte dann durch den Vergleich der arithmetischen Mittelwerte der mittleren Intensitäten in Regionen mit ON (siehe Abbildung 6, rot) und solchen ohne ON (siehe Abbildung 6, blau) unter Betrachtung der entsprechenden Zeitpunkte zueinander.

Der Grenzwert für eine valide Messung wurde für das Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,5$ festgelegt. Bei Unterschreitung dieses Grenzwertes musste ein ROI verworfen werden und konnte in der statistischen Analyse entsprechend nicht berücksichtigt werden, weil die mathematische Modellberechnung nach den R²-Kriterien nicht passte.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben unter Verwendung des Statistik-Programms IBM SPSS Statistics Version 25. Ein p-Wert < 0,05 galt als signifikant. Die primären Zielvariablen waren als unabhängige Variablen die Entwicklung von ON mit den Ausprägungen ja oder nein sowie die Zeit mit den Ausprägungen 0, 6, 9, 12 Monate und als abhängige Variable die mittlere Intensität als Mittelwert über die ROIs für die ADC Karten biADCd, biADCp, biFp und monoADC.
3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

In die OPAL-Studie wurden im Zeitraum vom 01.03.2013 bis 31.12.2018 insgesamt 93 Patienten eingeschlossen, von denen 19 Patienten die oben genannten Einschlusskriterien für die durchzuführende Untersuchung im Rahmen der OPAL-Studie erfüllten. Es wurden zehn Mädchen und neun Jungen eingeschlossen, die retrospektiv untersucht wurden. Das durchschnittliche Alter bei Erstdiagnose betrug 12,83 Jahre, für Mädchen 12,67, für Jungen 13,00 Jahre. Die genauen Charakteristika des gesamten Patientenkollektivs sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Charakteristika des Patientenkollektivs					
Gesamtzahl	19				
Geschlecht	Weiblich: 10				
	Männlich: 9				
Alter bei Diagnosestellung	12,83 Jahre (Breite 10-17 Jahre)				
	Weiblich: 12,67 Jahre (Breite 11-15 Jahre)				
	Männlich: 13,00 Jahre (Breite 10-17 Jahre)				
Anzahl der MRT-Untersuchungen mit DWI	Bei Diagnosestellung (0 Monate): 19				
bei Diagnosestellung und im Follow-up	Nach 6 Monaten: 18				
	Nach 9 Monaten: 18				
	Nach 12 Monaten: 17				

Tabelle 1: Charakteristika des gesamten Patientenkollektivs

Eine Übersicht über die Charakteristika der einzelnen Patienten zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten befindet sich in Tabelle 2. Von den eingeschlossenen 19 Patienten fehlte jeweils bei einem Patienten die MRT- Untersuchung mit DWI-Sequenz nach 6 Monaten (Nr. 10) bzw. nach 9 Monaten (Nr.12). Bei zwei Patienten wiederum lag keine MRT-Untersuchung zum Endzeitpunkt nach 12 Monaten vor (Nr. 1 und Nr. 18), sodass hier der Untersuchungszeitpunkt nach 9 Monaten als Enduntersuchung zum Vergleich herangezogen werden musste.

Charakteristika der einzelnen Patienten							
	Untersuchungszeitpunkt						
	0 Monate	6 Monate	9 Monate	12 Monate			
1			ON	fehlt			
2	LI			ON			
3	LI			ON			
4				ON			
5	LI			ON			
6	Ц			ON			
7	LI			ON			
8	LI			keine ON			
9	Ц			ON			
10		fehlt		keine ON			
11				keine ON			
12			fehlt	keine ON			
13	LI			ON			
14	Ц			ON			
15	Ц			keine ON			
16	LI			keine ON			
17	LI			ON			
18	LI		keine ON	fehlt			
19				ON			

Tabelle 2: **Charakteristika der einzelnen Patienten**. Nach 0 Monaten: Leukämische Infiltrationen (grün); Nach 6 und 9 Monaten: teils verworfene und damit fehlende Daten (hellgrau), fehlende Untersuchungen (dunkelgrau); Nach 12 Monaten: Osteonekrosen (rot), keine Osteonekrosen (blau), fehlende Untersuchungen (dunkelgrau)

Bei 13 Patienten (68%) lagen initial bei der Ausgangsuntersuchung leukämische Infiltrationen (LI) vor. Insgesamt entwickelten zwölf Patienten (63%) im Beobachtungszeitraum ON. Nach 6 und 9 Monaten mussten viele der erhobenen Daten wie in Material und Methoden beschrieben aufgrund einer zu geringen Anpassungsgüte der Modellberechnung an die tatsächlichen Daten verworfen werden und konnten damit nicht in die statistische Auswertung einfließen. Die genauen Hintergründe sind in den Kapiteln 3.2 und 3.3 erläutert.

3.2 Deskriptive Analyse



Abb. 7: **T1-, STIR- und DWI-Bildgebung eines Patienten im zeitlichen Verlauf.** A) T1-Wichtung B) STIR-Sequenz C) DWI-Sequenz; In der Ausgangsuntersuchung (0 Monate) können LI beobachtet werden. Nach 6 Monaten stellt sich eine Signalumkehr zur Ausgangsuntersuchung dar. Nach 9 Monaten kann erstmals die Entstehung von ON festgestellt werden.

Bei Betrachtung der generierten MRT-Aufnahmen in den verschiedenen Wichtungen bzw. Sequenzen zeigten sich in den initialen MRT-Untersuchungen bei 13 von 19 Patienten (68%) (siehe Tabelle 2) bildmorphologisch leukämische Infiltrationen (LI), welche in der T1gewichteten MRT hypo- und in der STIR-Sequenz hyperintens zur Darstellung kamen (siehe Abbildung 7). Nach 6 und zum Teil 9 Monaten wiesen die ossären Strukturen bei 13 von 19 Patienten (68%) ein inverses Signalverhalten zur Ausgangsuntersuchung auf (siehe Abbildung 7), darunter bei zehn Patienten mit initialen LI und bei drei Patienten ohne initiale LI. Nur drei von 13 Patienten mit initialen LI (siehe Tabelle 2, Nr. 6, 13, 18) und drei von sechs Patienten ohne LI (siehe Tabelle 2, Nr. 1, 10, 12) zeigten dieses inverse Signalverhalten nach 6 bzw. 9 Monaten nicht. Auch die DWI-Werte verhielten sich analog zur STIR im zeitlichen Verlauf mit einer Abnahme der Signalintensität (siehe Abbildung 7). Bei Betrachtung der R²-Karten, die wie oben beschrieben die Anpassungsgüte (goodness of fit) der mathematischen Berechnung des mono- und bi-exponentiellen IVIM Modells an die tatsächlichen Daten widerspiegeln, konnte beobachtet werden, dass insbesondere zu den Untersuchungszeitpunkten nach 6 und 9 Monaten viele ROIs den Grenzwert des festgelegten Gütekriteriums von R² = 0,5 unterschritten, sodass die Messungen der betroffenen ROIs in den dazugehörigen mono- und bi-exponentiellen ADC-Karten als nicht valide galten und daher verworfen werden mussten. Einzelne ROIs einer Untersuchung (auch nach 6 und 9 Monaten) erfüllten hingegen das Gütekriterium von R² ≥ 0,5, sodass die Messwerte dieser ROIs in der zugehörigen mono- und den bi-exponentiellen Karten als valides Ergebnis in die weitere Auswertung einflossen.

Besonders auffällig war, dass eine Anpassungsgüte unterhalb des definierten Grenzwertes in den R²-Karten vor allem dann vorlag, wenn die Signalintensität in der STIR- oder DWI-Sequenz die oben beschriebene Signalumkehr mit einem zunehmend hypointensen Signalverhalten im zeitlichen Verlauf aufwies.

Betroffen von dieser Signalumkehr zeigten sich vor allem diaphysäre Knochenregionen. Außerdem konnte beobachtet werden, dass sich besonders nicht nekrotische Regionen, also solche, die auch nach 12 Monaten keine ON entwickelt haben, mit einem stärkeren Signalabfall in der DWI präsentierten und demnach die Modellberechnung insbesondere auf diese Strukturen nicht zutraf.

ON hingegen kamen in der DWI insbesondere im Randbereich hyperintens zur Darstellung und wurden in der Regel durch die zugrunde liegende mathematische Berechnung des IVIM Modells valide abgebildet. Nach 6 bzw. 9 Monaten lagen bei nur sechs von 19 Patienten (32%) (siehe Tabelle 2, Nr. 1, 6, 10, 12, 13, 18) vollständig valide Ergebnisse in der Diffusionswichtung, das heißt bei allen ROIs einer Untersuchung eines Patienten, vor. Von diesen sechs Patienten, bei denen kein ROI verworfen werden musste, entwickelten drei Patienten (siehe Tabelle 2, Nr. 10, 12, 18) wiederum keine ON im beobachteten Verlauf. Bei den 13 Patienten, bei denen aufgrund einer geringen Anpassungsgüte einzelne ROIs nach 6 oder 9 Monaten nicht berücksichtigt werden konnten, bekamen neun Patienten (siehe Tabelle 2, Nr. 2-5, 7, 9, 14, 17, 19) ON und vier Patienten (siehe Tabelle 2, Nr. 8, 11, 15, 16) blieben im betrachteten Untersuchungszeitraum von diesen verschont. Insgesamt zeigten zwölf von 19 Patienten (63%) ON im Verlauf, sieben von 19 (37%) entwickelten keine ON und wurden daher bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt. Die ON konnten in der Regel spätestens nach 12 Monaten, häufig jedoch bereits nach 9 Monaten in der STIR und T1 beobachtet werden. Oftmals verhielten sich ON nach 12 Monaten wieder regredient.

3.3 Statistische Analyse mittels Wilcoxon-Test und graphischer Darstellung

Da die Messwerte vieler ROIs nach 6 bzw. 9 Monaten wegen der geringen Anpassungsgüte der Modellberechnung an die tatsächlichen Daten verworfen werden mussten, erfolgten zwei voneinander getrennte Auswertungen: Einerseits wurde ein ausschließlicher Vergleich der Daten zwischen 0 und 12 Monaten durchgeführt, da zu diesen Zeitpunkten die Modellberechnung des IVIM Modells zu den Daten passte und damit mehr Patienten berücksichtigt werden konnten (n = 11). Einem Patienten mit ON fehlte eine Untersuchung nach 12 Monaten, weshalb im reinen Vergleich zwischen 0 und 12 Monaten elf Patienten analysiert wurden. Andererseits erfolgte, wie ursprünglich geplant, eine statistische Analyse aller vollständigen und verwertbaren Daten zwischen 0, 6, 9 und 12 Monaten. Berücksichtigt wurden hierbei also alle gemäß der oben genannten Definition validen ROIs ($R^2 \ge 0.5$) von Patienten mit ON im Beobachtungszeitraum, bei denen zusätzlich alle vier Untersuchungen vorlagen (n = 6). Bei fünf Patienten mit ON erfolgte keine Untersuchung nach 6 oder 9 Monaten oder die Ergebnisse konnten wegen einer zu geringen Anpassungsgüte nicht verwendet werden, sodass insgesamt nur sechs Patienten miteinander verglichen werden konnten.

3.3.1 Vergleich der Untersuchungszeitpunkte 0 und 12 Monate

Tabelle 3 stellt die Unterschiede zwischen den mittleren Signalintensitäten (SI) der DWI-Analyse in den jeweiligen ADC-Karten zwischen Regionen mit ON und ohne ON und in Relation der jeweiligen Zeitpunkte zueinander dar, die hier mit Hilfe eines Wilcoxon-Tests bewertet wurden.

	А	В	С	D
biADCd				
Z	-1.6	-2.845	-0.445	-2.934
Asymptotische Signifikanz (2-seitig), p-Wert	0.11	0.004	0.657	0.003
biADCp				
Z	-1.778	-1.334	-0.267	-0.622
Asymptotische Signifikanz (2-seitig), p-Wert	0.075	0.182	0.79	0.534
biFp				
Z	-2.845	-1.689	-0.267	-0.889
Asymptotische Signifikanz (2-seitig), p-Wert	0.004	0.091	0.79	0.374
monoADC				
Z	-2.134	-2.49	-1.689	-2.934
Asymptotische Signifikanz (2-seitig), p-Wert	0.033	0.013	0.091	0.003

Tabelle 3: Statistische Ergebnisse des Wilcoxon-Tests. Vergleich der mittleren Signalintensitäten der DWI-Analyse in den jeweiligen ADC-Karten zum Zeitpunkt 0 und 12 Monate. A) ON 12 Monate - ON 0 Monate;B) keine ON 12 Monate - keine ON 0 Monate; C) keine ON 0 Monate - ON 0 Monate; D) keine ON 12Monate - ON 12 Monate

In Abbildung 8 sind die arithmetischen Mittelwerte der mittleren SI in den jeweiligen ADC-Karten für osteonektrotische Regionen (rot) und nicht nekrotische Knochenareale (blau) graphisch dargestellt. Die Graphen zeigen die SI in Abhängigkeit der Untersuchungszeitpunkte.



Abb. 8: Graphische Darstellung der mittleren Signalintensität in mm²/s für osteonekrotische Regionen (rot) und nicht osteonektrotische Regionen (blau) zum Zeitpunkt 0 und 12 Monate, * bedeutet statistische Signifikanz (p < 0.05); A) biADCd B) biADCp C) biFp D) monoADC

Bei der Auswertung mittels Wilcoxon-Test konnte in der Ausgangsuntersuchung zwischen Bereichen, in denen später ON entstanden sind, und Regionen, in denen sich im Verlauf keine ON entwickelten, kein signifikanter Unterschied in der mittleren Intensität über alle ADC-Karten hinweg festgestellt werden. (siehe Abbildung 8 und Tabelle 3C). Die p-Werte lagen stets über dem Signifikanzlevel, sodass es weder bei der Diffusion noch bei der Perfusion zu einem signifikanten Unterschied der SI kam.

Typischerweise nahm die Intensität nach 12 Monaten in osteonekrotischen Bereichen zu, während die nicht nekrotischen Regionen sich intensitätsgemindert messen ließen (siehe Abbildung 8A und 8D). Der Wilcoxon-Test zeigte wie zu erwarten nach 12 Monaten einen signifikanten Unterschied zwischen Regionen mit und ohne ON (p = 0,003) (siehe Abbildung 8A und 8D sowie Tabelle 3D). Ausnahmen stellten jedoch die ADC-Karten der Perfusion und der Perfusionsfraktion dar. Hier zeigten sich nicht nekrotische Areale in der biFp ebenfalls mit einer Intensitätszunahme und nekrotische Bereiche verloren in der biADCp anders als erwartet an Intensität. Im Liniendiagramm wird deutlich, dass die ADC-Karten der Perfusion und der Perfusionsfraktion unabhängig vom Zeitpunkt keinen signifikanten Unterschied zwischen Arealen mit ON-Entwicklung und solchen ohne aufzeigen konnten. (siehe Abbildung 8B und 8C).

3.3.2 Vergleich der Untersuchungszeitpunkte 0, 6, 9 und 12 Monate

In Tabelle 4 sind analog zur vorherigen Analyse die Unterschiede zwischen den mittleren SI der DWI-Analyse in den jeweiligen ADC-Karten zwischen Regionen mit ON und ohne ON und in Relation der jeweiligen Zeitpunkte zueinander abgebildet, die hier ebenfalls mit Hilfe eines Wilcoxon-Tests bewertet wurden. In diese Auswertung wurden alle verwertbaren ROIs $(R^2 \ge 0.5)$ von Patienten eingeschlossen, die im Untersuchungszeitraum ON entwickelt haben und bei denen DWI-Sequenzen zu allen vier Untersuchungszeitpunkten vorlagen.

	А	В	С	D	E	F	G	Н	I	J
biADCd										
Z	-0.105	-2.201	-0.105	-1.782	-2.201	-2.201	-1.572	-1.572	-2.201	-2.201
p-Wert	0.917	0.028	0.917	0.075	0.028	0.028	0.116	0.116	0.028	0.028
biADCp										
Z	-0.524	-1.992	-0.314	-1.153	-0.314	-0.314	-0.105	-0.105	-0.734	-0.524
p-Wert	0.600	0.046	0.753	0.249	0.753	0.753	0.917	0.917	0.463	0.600
biFp										
Z	-2.201	-1.363	-1.992	-0.943	-0.105	-0.524	-0.105	-0.314	-0.943	-0.943
p-Wert	0.028	0.173	0.046	0.345	0.917	0.600	0.917	0.753	0.345	0.345
monoADC										
Z	-0.734	-2.201	-0.314	-0.734	-2.201	-2.201	-1.153	-0.943	-1.782	-2.201
p-Wert	0.463	0.028	0.753	0.463	0.028	0.028	0.249	0.345	0.075	0.028

Tabelle 4: **Statistische Ergebnisse des Wilcoxon-Tests.** Vergleich der mittleren Signalintensitäten der DWI-Analyse in den jeweiligen ADC-Karten zum Zeitpunkt 0, 6, 9 und 12 Monate. A) ON 12 Monate - ON 0 Monate; B) Keine ON 12 Monate - Keine ON 0 Monate; C) ON 9 Monate - ON 0 Monate; D) Keine ON 9 Monate - Keine ON 0 Monate; E) ON 6 Monate - ON 0 Monate; F) keine ON 6 Monate - keine ON 0 Monate; G) keine ON 0 Monate - ON 0 Monate; H) keine ON 6 Monate - ON 6 Monate; I) keine ON 9 Monate - ON 9 Monate; J) keine ON 12 Monate - ON 12 Monate

Abbildung 9 stellt die arithmetischen Mittelwerte der mittleren SI in den jeweiligen ADC-Karten für Regionen mit ON (rot) und solche ohne ON (blau) graphisch dar. Die Graphen zeigen die SI im zeitlichen Verlauf über 0, 6, 9 und 12 Monate.



Abb. 9: Graphische Darstellung der mittleren Signalintensität in mm²/s für osteonekrotische Regionen (rot) und nicht osteonektrotische Regionen (blau) zu den Zeitpunkten 0, 6, 9 und 12 Monate, * bedeutet statistische Signifikanz (p < 0.05); A) biADCd B) biADCp C) biFp D) monoADC

Im Vergleich der reduzierten Datenmenge aller validen Daten von 0, 6, 9 und 12 Monaten grenzte sich ein ähnliches Bild zur vorausgegangenen Analyse der Untersuchungszeitpunkte von 0 und 12 Monaten ab. Die ADC-Karten der Perfusion und der Perfusionsfraktion zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen über alle Messzeitpunkte hinweg (siehe Abbildung 9B und 9C sowie Tabelle 4), jedoch war besonders in der Perfusionsfraktion ein steigender Trend der Intensität im zeitlichen Verlauf zu verzeichnen. In der biFp ließ sich über den gesamten Untersuchungszeitraum innerhalb von 12 Monaten ein Anstieg der mittleren SI für Regionen mit ON von 11,6 $*10^{-2}$ (dimensionslos) darstellen, während für Knochenareale ohne ON eine Zunahme um 5,6 $*10^{-2}$ (dimensionslos) zu erkennen war.

In der ADC-Karte der Diffusion und analog dazu auch in der mono-exponentiellen ADC-Karte waren nach 6 Monaten in beiden Gruppen die bereits beobachtete deutliche Intensitätsminderung feststellbar (siehe Abbildung 9A und 9D). In der biADCd konnte innerhalb der ersten 6 Monate ein Abfall der SI um 74,9 $*10^{-5}$ mm²/s in der Gruppe mit ON und in der nicht osteonekrotischen Vergleichsgruppe um 68,5 $*10^{-5}$ mm²/s verzeichnet werden. In der monoADC war die Intensitätsminderung mit 77,0 $*10^{-5}$ mm²/s bei osteonekrotischen und mit 76,4 $*10^{-5}$ mm²/s bei nicht nekrotischen Regionen sogar noch geringfügig größer.

Nach 9 Monaten konnte in der biADCd erstmals ein signifikanter Unterschied zwischen nekrotischen und nicht nekrotischen Regionen detektiert werden (p = 0,028), welcher in der monoADC zwar auch abzugrenzen, jedoch nicht signifikant war (p = 0,075) (siehe Tabelle 4I). Es konnten deutlich ausgeprägtere Unterschiede zwischen Regionen mit ON und solchen ohne ON nach 9 und 12 Monaten im Vergleich der biADCd zur monoADC festgestellt werden. In der biADCd zeigte sich nach 9 Monaten ein Unterschied in der mittleren SI von 74,7 *10⁻⁵ mm²/s zwischen den Gruppen, während in der monoADC diese Differenz nur bei 55,0 *10⁻⁵ mm²/s zum selben Zeitpunkt lag. Ein signifikanter Unterschied konnte in der monoADC erst nach 12 Monaten beobachtet werden (p = 0,028). Zu diesem Zeitpunkt betrug die Differenz in der mittleren SI zwischen der Gruppe mit ON und der ohne ON 86,4 *10⁻⁵ mm²/s in der biADCd und 119,1 *10⁻⁵ mm²/s in der monoADC (siehe Abbildung 9A und 9D sowie Tabelle 4J).

4. Diskussion

4.1 Übersicht über die durchgeführte Arbeit

Die Identifikation kritischer Zeitpunkte bei der Entstehung von ON und die Erfassung des natürlichen Verlaufs dieser Spätfolge der antileukämischen Therapie bei Kindern und Jugendlichen mit ALL oder LBL ist von großer Wichtigkeit, um mittels geeigneten Interventionen das Fortschreiten der ON sowie Funktionsstörungen zu verhindern [2]. Da ON eine der häufigsten Spätfolgen der antileukämischen Therapie sind und klinisch oftmals erst spät in einem weit fortgeschrittenen Stadium bemerkt werden, das in der Regel irreversibel ist und daher eine langfristige Beeinträchtigung der Lebensqualität zur Folge hat, ist die frühzeitige Erfassung von ON mittels MRT unabdingbar [2, 3, 6, 23].

Diese Arbeit verfolgte daher die Frage, ob es mit Hilfe der Bestimmung von Diffusions- und Perfusionsanteilen in der MRT möglich ist, eine prospektive Aussage zur Entstehung und Entwicklung von ON treffen zu können. Ziel war es, den frühesten Zeitpunkt der ON-Entstehung aufgrund erster molekularer Veränderungen zu identifizieren, an dem mittels anderer bildgebender Methoden in der MRT (z.B. T1-Wichtung oder STIR- Sequenz) noch keine ON detektiert werden können. Untersucht wurden 19 Patienten, bei denen deutschlandweit im Rahmen der multizentrischen OPAL-Studie neben den regulären MRT-Untersuchungen zu verschiedenen Zeitpunkten auch optionale DWI-Sequenzen erstellt wurden. Dies erfolgte in vier der 18 teilnehmenden Zentren. Bei allen Patienten, die im Beobachtungszeitraum eines Jahres ON entwickelt haben, wurden die Diffusion und Perfusion in ADC-Karten, die aus den DWI-Sequenzen mittels IVIM erstellt wurden, für Regionen mit ON und solche ohne ON an der Dia-, Meta- und Epiphyse am distalen Femur sowie der proximalen Tibia über die verschiedenen Zeitpunkte ermittelt und verglichen.

In der vorliegenden Studie ließen sich in der Ausgangsuntersuchung keine signifikanten Unterschiede in der Diffusion oder Perfusion in den Regionen späterer ON im Vergleich zu den anderen analysierten Regionen ohne spätere ON nachweisen. Damit kann anhand des Diffusions- und Perfusionsverhaltens bei Diagnosestellung noch keine Aussage darüber getroffen werden, welcher Patient und konkret welche Knochenregion eines Patienten sich für die Entwicklung schwerwiegender symptomatischer ON prädisponiert. Bei der Analyse des weiteren zeitlichen Verlaufs zeigten sich jedoch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen und damit Vorteile des bi-exponentiellen IVIM Modells in der Frühdiagnose von ON, welche in den folgenden Kapiteln näher beschrieben und diskutiert werden.

4.2 Interpretation der Ergebnisse und Einordnung in die aktuelle wissenschaftliche Literatur

4.2.1 Klassische Bildgebung und Diffusion weighted imaging (DWI)

Generell konnte auch in dieser Untersuchung eine hohe Inzidenz an ON im Beobachtungszeitraum eines Jahres von 63% festgestellt werden. Damit deckt sich das Ergebnis mit den bisherigen Ergebnissen anderer Autoren, die je nach Alter des untersuchten Patientenkollektivs und Behandlungsprotokoll eine Inzidenz von 15,5 – 71,8% beschreiben [14, 25, 26, 31]. Im Rahmen dieser vorherigen Analysen stellten Kunstreich et al. [2] jedoch fest, dass ein erheblicher Anteil der Patienten mit ON im beobachteten Zeitraum asymptomatisch blieb. Weil bei der hier durchgeführten Auswertung aufgrund der Pseudonymisierung keine Informationen über die klinischen Beschwerden der Patienten vorlagen, kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob es sich bei den detektierten ON um klinisch symptomatische oder rein radiologisch detektierte, also asymptomatische ON handelte. Da die Autoren in den vorherigen Analysen insgesamt einen signifikanten Unterschied zwischen der Inzidenz von radiologisch detektierten, asymptomatischen ON und klinisch symptomatischen ON nachweisen konnten [3, 14, 27, 28], ist auch für die hier durchgeführte Untersuchung anzunehmen, dass ein erheblicher Anteil an Patienten bis zum Ende der Studie asymptomatisch blieb. Vorausgegangene Analysen der OPAL-Studie von Krull und Kuhlen et al. [6, 22], die dasselbe, nur umfassendere Patientenkollektiv betrachteten, zeigten, dass ca. die Hälfte aller Patienten mit asymptomatisch detektierten $ON \ge II$ (nach ARCO-Klassifikation) später klinisch symptomatische ON entwickelte, umgekehrt aber alle Patienten mit klinischen Beschwerden vorab Anzeichen asymptomatischer ON in der MRT aufwiesen.

In keiner der bisherigen sieben Studien, die über MRT-Screenings für Kinder mit ALL berichteten [14, 25-31], wurde der initiale Zeitpunkt bei Diagnosestellung mittels MRT untersucht. Wie in der Einleitung beschrieben, erhoben die Autoren der vorausgegangenen Studien lediglich Informationen zu verschiedenen Zeitpunkten und in abweichender Häufigkeit nach Beginn der antileukämischen Therapie über einen unterschiedlich langen Zeitraum. Erst mit Initiierung der OPAL-Studie wurden erstmals die Ausgangssituationen mittels MRT erfasst und auf mögliche erste Veränderungen untersucht, die in Zusammenhang mit der Entstehung von ON stehen könnten.

Wie von Krull et al. [6] bereits mit einer Inzidenz von 80% beschrieben, konnte auch in der hier durchgeführten Analyse beobachtet werden, dass mit einem Anteil von 68% die meisten Patienten initial radiologische leukämische Infiltrationen (LI) aufweisen. Diese scheinen jedoch anders als vorpubliziert [6], gehäuft mit der späteren Entwicklung von ON in Zusammenhang zu stehen. Bei der Untersuchung von Krull et al. [6] entwickelten vier von sechs Patienten (66,7%) ohne LI im Verlauf ON, während nur drei von 24 Patienten (12,5%) mit initialen LI nach 6 Monaten unter antileukämischer Therapie asymptomatische ON entwickelten. Bei dem in diese Untersuchung eingeschlossenen Patientenkollektiv der OPAL-Studie bekamen hingegen mit neun von 13 Patienten (69,2%) innerhalb des Beobachtungszeitraums von einem Jahr deutlich mehr Patienten mit initialen LI ON, als Patienten, die in der Ausgangsuntersuchung keine LI zeigten (50%).

Da es sich bei dieser Auswertung jedoch um eine Analyse eines Teils derselben Studienkohorte handelte, kann ein Selektions-Bias vorliegen. Zu berücksichtigen ist allerdings, dass zwar in diese Untersuchung nur 19 von insgesamt 93 Patienten der OPAL-Studie gemäß den eingangs festgelegten Kriterien eingeschlossen wurden, aber auch die vorherige Analyse von Krull et al. [6] nur die ersten 30 in die OPAL-Studie eingeschlossenen Patienten hinsichtlich eines Zusammenhangs der LI mit der Entwicklung von ON bewertet hat. Daher liegt bei der hier durchgeführten Untersuchung keine ausschließliche Verkleinerung des Patientenkollektivs im Vergleich zur vorherigen Analyse vor, sondern ein zum Teil nicht deckungsgleiches Patientenkollektiv, was die unterschiedlichen Ergebnisse erklären könnte. Insgesamt wurden elf der hier analysierten Patienten auch im Rahmen der ersten Auswertung der OPAL-Studie erfasst.

Darüber hinaus kann sowohl die niedrigere Inzidenz von ON insgesamt, als auch der geringere Anteil an Patienten, der mit initialen LI unter antileukämischer Therapie ON entwickelt hat, bei Krull et al. [6] auch auf einen bedeutend kürzeren Beobachtungszeitraum von 6 Monaten zurückzuführen sein, da zu diesem Zeitpunkt ON oftmals noch nicht sichtbar sind. In weiterführenden Auswertungen der OPAL-Studie beschreiben die Autoren allerdings, dass mit sieben von 76 Patienten (9,2%) eine bemerkenswerte Anzahl an Patienten bereits zum Diagnosezeitpunkt mit ON detektiert werden konnte [62].

LI betreffen ebenso wie ON das gesamte Knochenmark der Dia- und Metaphyse und treten unabhängig der Epiphysenfuge auch in der Epiphyse auf [6, 63, 64]. Diese Aussage lässt sich auch durch die Beobachtungen der hier durchgeführten Untersuchung bestätigen. Bei anderen pathophysiologischen Prozessen hingegen, wie z.B. der akuten hämatogenen Osteomyelitis, stellt die Epiphysenfuge in der Regel altersabhängig eine Barriere für den Übertritt der Infektion auf die Epiphyse und auf das angrenzende Gelenk dar [65-67]. Wie bei vielen malignen Prozessen nehmen LI jedoch keine Rücksicht auf solche von der Natur vorgegebenen Grenzen.

In der durchgeführten Analyse verursachten die LI in der Ausgangsuntersuchung ein überwiegend hypointenses Signal in der T1-Wichtung und kamen in der STIR- und DWI-Sequenz hyperintens zur Darstellung.

Die Ursache liegt unter anderem darin, dass das fettreiche gelbe Knochenmark der langen Röhrenknochen durch die hohe Anzahl und dichte, infiltrierende Masse weißer Blutkörperchen verdrängt wird. Normalerweise wird Fett in der T1-Wichtung wegen der kurzen Repetitions- und Echozeit mit einer sehr hohen Signalintensität abgebildet, während die STIR-Sequenz wie eingangs erläutert eine T1-abhängige Sequenz zur Suppression des Fettsignals darstellt [40, 41]. Durch die Verdrängung des Fettmarks erscheinen die Knochen in der T1-gewichteten Sequenz daher dunkler und in der STIR- und DWI-Sequenz werden sie aufgrund des geringeren und damit weniger zu supprimierenden Fettanteils deutlich heller abgebildet. Darüber hinaus kann das verminderte und damit hyperintenser zur Darstellung kommende Diffusionssignal auch durch die eingeschränkte Hämatopoese und Perfusionsstörung der Knochen aufgrund der Infiltration erklärt werden.

Auffällig ist die wie auch von Krull et al. [6] beschriebene erstmals nach 6 Monaten zu beobachtende Signalumkehr, wobei sich im Diffusionssignal eine sehr starke Intensitätsminderung der Knochen feststellen ließ, während die STIR-Sequenz zwar analog dazu auch an Intensität verlor, jedoch im Vergleich in einer bedeutend geringeren Ausprägung. Bei Patienten ohne den initialen Nachweis leukämischer Infiltrationen war in der DWI-Sequenz nur eine geringe Intensitätsabnahme nach 6 Monaten zu verzeichnen, sodass die Signalintensität bildmorphologisch in ihrer Grau-Abstufung der STIR-Sequenz ähnelte. Patienten mit initialen LI zeigten nach 6 Monaten unter antileukämischer Therapie ein fast "schwarzes" DWI-Signal. Die T1-Wichtung hingegen wies genau umgekehrt zur STIR- und DWI-Sequenz eine starke Signalanhebung bei allen Patienten auf.

Das gehäufte Auftreten von initialen radiologischen LI und einer zunehmenden Signalumkehr im Verlauf verglichen mit einer geringeren Signalveränderung ohne den initialen Nachweis solcher LI bietet die Überlegung, dass die antileukämische Therapie umso besser wirken kann, je mehr Zellen initial für den Angriff durch eine antileukämische Therapie zur Verfügung stehen, sodass schließlich der Unterschied umso größer ist, der sich durch die Signalabnahme in der STIR- und DWI-Sequenz widerspiegelt. Andererseits beschreiben Krull et al. [6] sowie andere Autoren [15, 25, 38, 39], dass das Auftreten initialer LI nicht mit dem Blastenlevel einhergeht.

Das inverse Signalverhalten mit einem massiven Intensitätsverlust im Diffusionssignal war über alle erfassten Knochenabschnitte, besonders jedoch an den Diaphysen und in Regionen, in denen im gesamten Beobachtungszeitraum keine ON entstanden sind, zu beobachten.

Eine mögliche Begründung für dieses Signalverhalten könnte einerseits sein, dass mit dem Erreichen einer Remission durch die antileukämische Therapie, die aufgrund ihrer Zytotoxizität ein Verschwinden der leukämischen (und auch gesunden hämatopoetischen) Zellen aus dem Knochenmark bewirkt, fast ausschließlich Fett im Knochen vorhanden ist, das insbesondere diaphysär lokalisiert ist und in der STIR- und DWI-Sequenz supprimiert wird. Dabei gilt in diesen Sequenzen: Je mehr Fett und je weniger andere Zellbestandteile, desto dunkler die Bildgebung. Sollte im Rahmen der Remission intraossär nur noch Fett zurückbleiben, können STIR- und DWI-Sequenz kein Signal abbilden, da sie fettunterdrückte Messungen sind.

Diese Annahme erklärt zum anderen aber nicht, warum Regionen, in denen im Folgenden ON auftraten (unabhängig ob dia-, meta- oder epiphysär lokalisiert), weniger von der Intensitätsminderung betroffen waren, als Regionen, in denen keine ON entstanden sind. Eine hypothetische Schlussfolgerung aus dieser Beobachtung ist, dass ON vor allem in fettärmeren Regionen entstehen. Als mögliche Erklärung könnte angenommen werden, dass in Bereichen, in denen fast ausschließlich Fett vorhanden ist, eine ON-Entwicklung aufgrund weniger oder fehlender weiterer Bestandteile deutlich erschwert wird im Vergleich zu Regionen, in denen zwar Fett, aber auch noch eine ausreichende Anzahl anderer Zellbestandteile sowie eine (wenn auch gestörte Rest-) Perfusion existieren, die eine höhere Signalintensität verursachen. Eine Ischämie durch Okklusion von Blutgefäßen, die in der Literatur als Bestandteil eines multifaktoriellen Prozesses die Entstehung von ON begünstigt [58-61], bewirkt aufgrund ihrer Diffusionsstörung ein höheres Diffusionssignal und könnte damit anhand der obigen Beobachtungen auch in dieser Analyse als Ausdruck eines relevanten Faktors für die ON-Entstehung benannt werden. Anders herum bedingt eine intakte Durchblutung ohne Störung der Diffusion ein hypointenses DWI-Signal und bedeutet in diesem Zusammenhang wiederum, nicht mit der Entwicklung von ON einherzugehen, was sich mit den zuvor gemachten Feststellungen deckt.

Ein anderer Ansatz könnte sein, dass bei Erreichen der Remission zwar keine leukämischen Zellen mehr intraossär vorhanden sind, aber auch das im Rahmen der Infiltration verdrängte gelbe Fettmark den intraossären Raum noch nicht wieder einnehmen konnte und das insbesondere in der Meta- und Epiphyse lokalisierte rote hämatopoetische Knochenmark sich mit seiner Spongiosa ebenfalls noch nicht regeneriert hat. Das stark hypointense Signal in der DWI-Sequenz wäre dann am ehesten darauf zurückzuführen, dass aufgrund der gestörten bzw. fehlenden Hämatopoese kein messbares Wassersignal im Knochen zustande kommt, das sich mit der Diffusionsbildgebung erfassen ließe.

Diese Theorie deckt sich auch mit bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnissen, die nach durchgeführter antileukämischer Therapie innerhalb der Knochen eine massive Destruktion der Spongiosa mit ihrer trabekulären Knochenstruktur und eine Zerstörung des Fettmarks in der Markhöhle durch die vorausgegangene Infiltration beschreiben [68-70]. Darüber hinaus muss berücksichtigt werden, dass bei Kindern noch kaum Fettmark existiert und stattdessen das blutbildende Knochenmark dominiert, welches in diesem Alter auch in den Diaphysen lokalisiert ist [71]. Erst mit zunehmendem Alter bildet sich das gelbe Fettmark zuungunsten des blutbildende Knochenmarks, sodass diese Tatsache den Überlegungen der obigen ersten Theorie widerspricht.

Die massive Abnahme der Signalintensität nach 6 Monaten bei Patienten mit initialen leukämischen Infiltrationen ist also weniger darauf zurückzuführen, dass die Diffusion besser geworden ist und daher ein dunkleres Signal erfasst wird, sondern vielmehr, dass kein messbarer Wasseranteil im Knochen registriert werden kann.

Für die Interpretation dieser Erkenntnisse in Zusammenhang mit der Entstehung von ON bedeutet dies wiederum, dass sich ON insbesondere dann ausbilden, wenn noch intraossäres Gewebe wie blutbildendes Knochenmark vorhanden ist, das aufgrund seiner Hämatopoese ein messbares Diffusionssignal in der DWI-Sequenz verursacht. Außerdem müssen ein (zumindest teilweise intaktes) Gefäßsystem mit Knochenmarksinusoiden und eine (Rest-) Durchblutung vorliegen, um überhaupt zur Entstehung von ON beitragen zu können. Ohne ein vorhandenes und (eingeschränkt) perfundiertes Kapillarnetzwerk, das sowohl den Knochen mit Nährstoffen versorgt, als auch die im Knochenmark gebildeten Blutzellen ausschwemmt, erscheint die Entstehung von ON aufgrund der hier zu schlussfolgernden Erkenntnisse nicht möglich.

In der aktuellen Literatur werden mehrere Faktoren diskutiert, die vermutlich synergistisch im Rahmen einer antileukämischen Behandlung zur Entstehung von ON führen [2, 72]: Die Faktoren bedingen durch eine intravaskuläre Gerinnung (intraluminale Obliteration), einen durch die Infiltration erhöhten Markdruck (extraluminale Obliteration) und eine direkte Verletzung der Blutgefäße selber ein Ungleichgewicht zwischen der tatsächlichen und der erforderlichen Knochendurchblutung. Zusätzlich können die direkten toxischen Wirkungen der Chemotherapie die Knochenintegrität stören und zur ON-Entstehung beitragen.

Wie in zahlreichen vorausgegangenen Analysen vorbeschrieben [2, 3, 14, 27, 28, 62] ließ sich auch mit der hier durchgeführten Untersuchung ein unvorhersehbarer Verlauf asymptomatischer MRT-Läsionen bestätigen, der von spontaner Regression über subklinische Persistenz bis zu einer rapiden Progression der ON reichte. In der eingangs vorgestellten Studie von Kawedia et al. [14], die ausschließlich das Follow-up des Frühstadiums von ON untersuchte, blieben mit 65% die meisten ON innerhalb des Jahres im Follow-up unverändert, während sich 10% verbessert und 25% auf höhergradige Stadien verschlechtert haben. Die Studie von te Winkel et al. [28] hingegen berichtete beispielsweise ausschließlich von Patienten mit symptomatischen ON, bei denen sich mit 50% genau die Hälfte der ON im Beobachtungszeitraum stabil präsentierte, während sich 25% rückläufig zeigten und 20% fortschritten. Nach aktuellsten Erkenntnissen der OPAL-Studie von Krull et al. [62] wiesen insbesondere solche ON einen unerwarteten Verlauf auf, die bereits bei Diagnosestellung der ALL oder des LBL in der MRT detektiert werden konnten.

Bei der Bewertung dieser Ergebnisse und auch derer anderer Studien mit ähnlichen Zielstellungen ist zu berücksichtigen, dass neben den unterschiedlich gewählten Studiendesigns mit verschiedenen Einschlusskriterien (z.B. Alter der Patienten, hämatoonkologische Diagnose, Therapieprotokoll, in der MRT betrachtete Körperregion etc.) und der großen Diskrepanz der Follow-up Zeiträume mit teils nur einzelnen, teils seriellen MRT-Aufnahmen auch die Bewertung der ON anhand unterschiedlicher radiologischer Klassifikationssysteme erfolgte. Dadurch ist die Vergleichbarkeit der Studienergebnisse untereinander, aber auch die Einordnung der in dieser Untersuchung gemachten Ergebnisse in die vorhandene Literatur deutlich limitiert.

Unter Berücksichtigung der genannten Limitationen präsentierte sich auch in der hier durchgeführten Untersuchung die Mehrheit der ON nach ihrer erstmaligen Detektion in den Folgeuntersuchungen stabil. Bei der Auswertung konnte jedoch beobachtet werden, dass sich ON nicht nur zwischen den einzelnen Patienten, sondern auch innerhalb eines Patienten unabhängig der Lokalisation in der Epi-, Meta- oder Diaphyse zu unterschiedlichen Zeitpunkten entwickeln und schließlich über einen verschieden langen Zeitraum persistieren. Daher kann es dazu kommen, dass sich bei einem Patienten in der Verlaufsuntersuchung eine ON an einer Region (noch) progredient verhält, während eine andere ON zu diesem Zeitpunkt bereits in Remission gegangen ist.

Darüber hinaus konnte festgestellt werden, dass ON vor allem nach 9 Monaten am stärksten ausgeprägt sind und sich oftmals nach bereits 12 Monaten unter antileukämischer Therapie regredient verhalten. Damit könnte im Rahmen zukünftiger Untersuchungen ein aussagekräftigeres Ergebnis ggf. im Vergleich zwischen 0 und 9 Monaten getroffen werden. Für weiterführende Analysen, im Rahmen derer das Diffusions- und Perfusionsverhalten näher beurteilt werden soll, ist jedoch wie in den Ergebnissen beschrieben und im folgenden Kapitel diskutiert, die fehlerhafte Modellanpassung des bi-exponentiellen IVIM Modells an die tatsächlichen Daten zu diesem Untersuchungszeitpunkt zu berücksichtigen.

Im Rahmen solcher weiterführenden Analysen sollte schließlich aufgrund des unvorhersehbaren Verlaufs der ON eruiert werden, ob sich die Diffusion und Perfusion genau in den Regionen anders verhält, in denen die ON schnell regredient werden oder an Stellen, an denen sich ON nur andeuten, aber nicht ausentwickeln im Vergleich zu solchen Arealen, an denen ON einen schwer progredienten Verlauf aufweisen. Möglicherweise könnte damit eine Differenzierung zwischen Patienten erfolgen, die nur asymptomatische ON während der gesamten Behandlungsdauer entwickeln und die folglich keine langfristigen Komplikationen durch die antileukämische Therapie selber oder durch die Folgen überflüssiger Interventionen zur Behandlung der ON davon tragen, und Patienten, die Hochrisikopatienten für die Entwicklung schwerwiegender, symptomatischer ON mit Langzeitschäden sind und daher dringend einer therapeutischen Intervention bedürfen. Damit können ON zwar weiterhin nur nach ihrer Entstehung identifiziert werden, aber es lässt sich gegebenenfalls eine Aussage darüber treffen, welchen Patienten frühzeitig Interventionen zugeführt werden sollten, um die Progredienz in schwerwiegende Stadien zu verhindern, die mit Langzeitfolgen verbunden sind.

4.2.2 Intravoxel incoherent motion (IVIM)

Das Haupt-Ziel dieser Arbeit bestand in der frühestmöglichen Diagnose von ON bei Kindern und Jugendlichen mit ALL und LBL unter Betrachtung des Diffusions- und Perfusionsverhaltens der unterschiedlichen Knochenabschnitte mittels IVIM zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten. Dabei konnten in der Ausgangsuntersuchung noch keine signifikanten Unterschiede in der Diffusion oder Perfusion zwischen Regionen mit späteren ON und Arealen ohne spätere ON nachgewiesen werden. Anhand des Diffusionsund Perfusionsverhaltens ist es daher bei Diagnosestellung noch nicht möglich, eine Aussage darüber zu treffen, welcher Patient und konkret welche Knochenregion eines Patienten sich für die Entwicklung schwerwiegender symptomatischer ON prädisponiert. Bei der Analyse des weiteren zeitlichen Verlaufs zeigten sich jedoch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen und damit beachtliche Vorteile des bi-exponentiellen IVIM Modells in der Frühdiagnose von ON.

Grundsätzlich bietet das bi-exponentielle IVIM Modell dem mono-exponentiellen gegenüber den Vorteil, dass Diffusion und Perfusion getrennt voneinander analysiert werden können [48, 49, 55]. Aus den im Rahmen dieser Studie gewonnenen Daten ging hervor, dass die mono-exponentielle ADC-Karte (monoADC) bezüglich der untersuchten Zeitpunkte zwar annähernd äquivalente Ergebnisse zur bi-exponentiellen ADC-Karte der Diffusion (biADCd) erzielt, die Signalunterschiede zwischen Regionen mit ON und Regionen ohne ON jedoch besonders nach 9 Monaten in der biADCd ausgeprägter und im Vergleich zur monoADC sogar signifikant sind. Nach 9 Monaten waren in der monoADC ebenfalls Unterschiede in der Signalintensität zwischen den beiden Gruppen erkennbar, jedoch in einem wesentlich geringeren und nicht signifikanten Ausmaß. Erst nach 12 Monaten konnte in dieser Analyse sowohl in der biADCd als auch in der monoADC ein signifikanter Unterschied zwischen Arealen mit ON und solchen ohne festgestellt werden.

Ursächlich für diese Ergebnisse und die daraus zu gewinnenden Erkenntnisse ist die im Rahmen dieser Arbeit verwendete Methodik des bi-exponentiellen IVIM Modells, da hierbei aufgrund der mathematischen Berechnung Diffusions- und Perfusionsanteile getrennt voneinander ermittelt und dargestellt werden können. Wie von Le Bihan et al. [48, 49] erläutert, sind die Signalverluste bei der Verwendung hoher b-Werte insbesondere auf Diffusion zurückzuführen, während bei niedrigen b-Werten die mikroskopische Perfusion entscheidend zum Signalverlust beiträgt. Das mono-exponentielle Modell hingegen berücksichtigt ausschließlich Diffusionseffekte bzw. ermöglicht keine Separierung der unterschiedlichen mikroskopischen Bewegung von Wassermolekülen, was insbesondere bei schwachen Gradientenimpulsen (niedrigen b-Werten) zu einer ungenauen und suboptimalen Charakterisierung des Signalverhaltens führt [48, 50, 51]. Da der Perfusionsanteil wie im Folgenden erläutert durch Artefakte wie Bewegung und Rauschen sehr störanfällig ist [49, 54], gelingt mit der Analyse der mittleren Signalintensität in der biADCd im Vergleich zur monoADC ein genaueres Ergebnis, weil der artefaktgestörte Perfusionsanteil in der biADCd nicht enthalten ist. Dieser Hintergrund ist als Erklärung für den bereits nach 9 Monaten in der biADCd festgestellten signifikanten Unterschied zwischen Regionen mit und ohne ON anzusehen, während das mono-exponentielle Modell zu diesem Zeitpunkt noch keinen signifikanten Unterschied aufzeigte. Nach 6 Monaten unter antileukämischer Therapie konnte jedoch auch in der bi-exponentiellen Diffusionsbildgebung noch kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen erfasst werden.

Aus den gewonnenen Erkenntnissen lässt sich die Hypothese aufstellen, dass zu einem in diesem Studiendesign nicht untersuchten Zeitpunkt zwischen 6 und 9 Monaten möglicherweise schon signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen mittels biexponentiellem IVIM Modell festgestellt werden können. Diese Hypothese sollte in weiteren Analysen untersucht werden, indem beispielsweise ein Fokus auf die Untersuchungszeitpunkte 7 oder 8 Monate nach Therapiebeginn gelegt wird.

Der Untersuchungszeitpunkt nach 9 Monaten unter antileukämischer Therapie, der in dieser Analyse erstmals einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen aufzeigen konnte, entspricht dem Zeitpunkt, bei dem ON sowohl visuell, als auch durch Messung anhand von ROIs in T1-gewichteten Aufnahmen und STIR-Sequenzen von ihrer Umgebung abgegrenzt werden können. Die durchgeführte Analyse zur Frühdetektion von ON brachte daher mit den aktuellen Erkenntnissen nur im Vergleich zum mono-exponentiellen Modell, nicht aber zur klassischen Bildgebung mittels T1-gewichteten Untersuchungen und STIR-Sequenzen einen Benefit.

Sollten im Rahmen zukünftiger Analysen auch schon signifikante Diffusionsunterschiede mittels IVIM zu früheren Zeitpunkten erkannt werden, an denen ON in der klassischen nichtdiffusionsbasierten Bildgebung noch nicht erfasst werden können, so könnte das biexponentielle IVIM Modell zur Frühdiagnose von ON generell und nicht nur gegenüber dem mono-exponentiellen Modell einen entscheidenden Vorteil bieten. Wie bereits im vorausgegangenen Abschnitt erwähnt, ist der Haupteffekt des biexponentiellen IVIM Modells mit der größten Aussagekraft in der Diffusion und weniger in der Perfusion zu verzeichnen. Bei Betrachtung der Perfusions-Karten zeigte sich ein artefaktgestörtes Bild und bei der weiteren Analyse der Daten gingen nur gering ausgeprägte Unterschiede ohne signifikante Änderungen in der zeitlichen Entwicklung für Regionen mit und ohne ON hervor. Es konnte als Trend jedoch für beide Gruppen im zeitlichen Verlauf eine leichte Zunahme der Perfusionsfraktion, also dem Anteil eines Voxels, das von Kapillaren eingenommen wird, festgestellt werden. Außerdem ließ sich eine geringfügige Abnahme der Signalintensität in der biADCp darstellen, die wiederum eine Verlangsamung der Flussgeschwindigkeit mit zunehmendem Abstand zum Diagnosezeitpunkt bzw. unter antileukämischer Therapie bedeutet. Dies galt sowohl für Regionen mit als auch ohne ON im zeitlichen Verlauf, einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen gab es nicht.

Grundsätzlich ist gemäß des Hagen-Poiseuille-Gesetzes [73] eine Abnahme der Flussgeschwindigkeit unter Zunahme des Perfusionsanteils dann möglich, wenn Kapillaren dicker werden oder in ihrer Anzahl vermehrt vorhanden sind. Sofern den hier gemachten Beobachtungen eine Bedeutung zugeschrieben werden kann, widersprechen die Ergebnisse bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnissen zur Entstehung von ON:

Durch die antileukämische Therapie kommt es wie von Kunstreich et al. [2] beschrieben im Rahmen einer multifaktoriellen Genese durch erhöhte prothrombotische Faktoren (z.B. Thrombin, Cholesterin) sowie durch Auslösung einer intravaskulären Gerinnung in der intraossären Mikrozirkulation (Kapillaren und venöse Sinusoide) zu thrombotischen und embolischen Ereignissen, die eine intraluminale Obliteration verursachen, welche nachfolgend wiederum zu Zellschäden und zu einem konsekutiven Knochenmarksödem führt. Dies bedingt ischämische Nekrosen von stoffwechselaktiven Regionen, wie z.B. den Epiphysen [2, 74-76].

Die in der vorliegenden Arbeit festgestellte Verlangsamung der Flussgeschwindigkeit in beiden Gruppen lässt sich vor diesem Hintergrund nur unzureichend erklären, da es zum einen durch eine zunehmende intraluminale Obliteration aufgrund der thrombotischen und embolischen Ereignisse vorerst zu einer Verkleinerung des Gefäßquerschnittes und damit zunächst zu einer erhöhten Flussgeschwindigkeit an den Gefäßengstellen kommen muss, nicht aber zu einer Abnahme der Flussgeschwindigkeit. Diese sollte erst bei einem vollständigen Verschluss der Gefäße mit konsekutiver Stase registriert werden. Zum anderen schienen auch nicht nekrotische Regionen bzw. solche, die im Verlauf keine ON entwickelten, von dieser Änderung der Flussgeschwindigkeit betroffen zu sein. Daraus ergibt sich jedoch die Frage, warum in diesen Arealen trotz der vollständigen intraluminalen Obliteration mit nachfolgenden Zellschäden und Knochenmarksödem keine ON entstehen. Neben der intraluminalen Obliteration spielt auch ein erhöhter intramedullärer Druck z.B. durch Lipozytenproliferation, Osteozytenlipidhypertrophie in Zusammenhang mit Dyslipidämie, Histiozytenproliferation bei Speicherstörungen oder Blutungen im Knochenmark eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von ON, da dieser zu einer zusätzlichen extraluminalen Obliteration führt [2, 77-79]. Wegen der Unelastizität der Knochen entwickelt sich ein intraossäres Kompartmentsyndrom, das weiter den intramedullären Blutfluss reduziert und schließlich zur Hämostase in den intraossären Blutgefäßen führt. [2, 77-79] Dabei sorgt die Epiphysenfuge im Kindesalter noch für Elastizität und kann die Erhöhung des intraossären Drucks (in Teilen) kompensieren, während sich mit dem Verschluss der Epiphysenfugen im Jugendalter der Markraumdruck zusätzlich erhöht [2].

Zusammenfassend könnten die hier erhobenen Ergebnisse mit einer Einschränkung des Blutflusses, registriert durch eine reduzierte Flussgeschwindigkeit in der biADCp, durch diese komplexe und noch nicht vollständig verstandene Pathogenese sowohl in osteonekrotischen als auch in geringer Weise in nicht nekrotischen Arealen begründet werden. Dass aber im Rahmen der Entwicklung von ON Kapillaren dicker werden oder sich vermehrt ausbilden (wie gemäß der Ergebnisse in der ADC-Karte der Perfusionsfraktion anzunehmen), lässt sich anhand der aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnisse nicht adäquat erklären. Eine Vergrößerung oder Vermehrung von Kapillaren erscheint lediglich im Rahmen eines Regenerationsprozesses bzw. im Rahmen der Knochenreparatur für Regionen, in denen keine ON entstehen, sinnvoll. Für nekrotische Regionen hingegen fällt es schwer, eine Erklärung zu finden, warum sich die Kapillardichte erhöhen sollte. Es ist allenfalls denkbar, dass sich mit ON detektierte Regionen bereits im Reparaturprozess befunden haben müssen, bevor es letztendlich zur Entstehung von ON kam. In der Literatur wird beschrieben, dass im Rahmen des Regenerationsprozesses die Revaskularisation nach Ischämie zum einen mit Veränderungen im hämatopoetischen Mark und Fettmark an sich und zum anderen mit generellen Veränderungen der Gefäßstrukturen inklusive der Reparatur und Neuausbildung von Kapillaren einhergeht [2, 80, 81]. Zusätzlich wird die umgebende knöcherne Architektur im Infarktbereich durch die Resorption von subchondralem totem Knochen geschwächt, sodass während des Reparaturprozesses zumindest vorübergehend die Integrität der Knochenmasse noch weiter gefährdet und daher die Entstehung von ON begünstigt wird, während es bereits zu einer Reparatur oder Neubildung von Kapillaren gekommen sein kann [2, 80, 81]. Allerdings müsste es schließlich bei der Entwicklung von ON neben der Abnahme der Perfusion (reduzierte biADCp) auch wieder zu einem Abbau der (bereits neu entstandenen) Kapillaren (verringerte biFp) kommen, was jedoch nicht den Daten dieser Arbeit entspricht.

Diese Theorie stellt damit keine adäquate Erklärung für die erhaltenen Ergebnisse dar. Da es einen steigenden Trend in der Signalintensität der Perfusionsfraktion für beide Gruppen gab, sollte den hier erhobenen Daten keine größere Bedeutung zugeschrieben werden und die Ergebnisse eher auf Artefakte zurückgeführt werden.

Auch in aktuellen wissenschaftlichen Berichten anderer Autoren zur IVIM-Bildgebung verschiedener Organe und Fragestellungen zeigte sich ein zum Teil sehr störanfälliges Bild für die Perfusion. Es wurden einige interessante Ergebnisse für Tumoren der Prostata, Leber und Weichteile berichtet [49, 54, 82-92], bei denen gezeigt wurde, dass die Perfusionsfraktion mit anderen Methoden zur Beurteilung der Vaskularität korreliert. Bei der Schätzung des Pseudodiffusionskoeffizienten ADC* (entspricht in dieser Arbeit biADCp) traten jedoch erhebliche Fehler auf. Diese Tatsache unterstreicht die in dieser Arbeit gemachte Beobachtung, dass sich die biADCp sehr artefaktgestört verhält und stabilere Werte hinsichtlich der Perfusion mit der Perfusionsfraktion erzielt werden können. Die Ergebnisse der anderen Autoren variierten allerdings stark zwischen den einzelnen Zentren und Studien und könnten damit auch für unzuverlässig gehalten werden. Insgesamt werden nicht nur ADC*, sondern alle IVIM-Parameterschätzungen durch physiologische Bewegungen wie Atmung, Herzschlag, Pulsationen und Peristaltik sowie sekretorische physiologische Prozesse (wie z.B. Drüsen- und Nierentubulusflüsse), nicht physiologische Bewegungen und Rauschen beeinflusst, die nicht leicht von der Kapillarperfusion unterschieden werden können [43, 54].

Neben den genannten teils physiologischen und nicht zu verhindernden Störfaktoren, die die Darstellung der Perfusion beeinflussen, wurde bei der Auswertung der vorliegenden Studie zusätzlich deutlich, dass die hier zugrunde liegende mathematische Berechnung des IVIM Modells generell nicht einwandfrei zu den vorliegenden Daten passt. Bei Betrachtung der R²-Karten zeigten niedrige R²-Werte, dass die Punkte nicht ideal auf der Modellkurve liegen. Normalerweise wird, wie in der Einleitung dargestellt, ein kontinuierlicher Intensitätsabfall bei steigenden b-Werten gemäß des IVIM Modells erwartet. Dies traf in der hier durchgeführten Untersuchung aber v.a. bei den mittleren Untersuchungszeitpunkten nicht zu.

Ursächlich für eine solche suboptimale Darstellung kann neben einer unzutreffenden Modellberechnung an sich sowie dem Vorliegen von Bild-Artefakten auch die Auswahl der b-Werte bei der MR-Signalgenerierung sein. Nach den Erkenntnissen von Le Bihan et al. [48] sollten in der Regel zwischen sechs und zehn Datensätze mit b-Werten zwischen 0 und 1000 s/mm² generiert werden, wobei mindestens die Hälfte der Messungen bei weniger als 250 s/mm² durchgeführt wird [54]. Grundsätzlich gilt, dass die ADC-Ergebnisse immer besser werden, je mehr Messpunkte (b-Werte) es gibt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden acht Datensätze mit b-Werten zwischen 0 und 1200 s/mm² generiert, von denen vier zwischen 0 und 250 mm/s² lagen. Die gewählten b-Werte wurden daher gemäß den Grundlagen zur IVIM-Bildgebung gut gewählt und sind eher nicht als Fehlerquelle für die unzureichende Anpassung des Modells an die tatsächlichen Daten zu sehen. Vielmehr scheinen Bild-Artefakte eine entscheidende Rolle zu spielen.

4.3 Limitationen der Studie und Ausblick

Die hier durchgeführte Untersuchung ist insbesondere durch ihre relativ kleine Stichprobengröße limitiert. Viele Patienten der OPAL-Studie mussten ausgeschlossen werden, da die für die Untersuchung notwendige optionale DWI-Sequenz bei der Generierung der MRT-Aufnahmen nicht erstellt wurde. Außerdem wurden nur Kinder eingeschlossen, die nach der Ausgangsuntersuchung noch mindestens zwei weitere MRT-Untersuchungen mit DWI-Sequenz erhalten haben. Über einen Follow-up-Zeitraum von einem Jahr konnten daher aufgrund fehlender Verlaufsuntersuchungen viele Patienten nicht berücksichtigt werden. Für eine detailliertere und aussagekräftigere Analyse wären eine höhere Patientenanzahl und eine Durchführung der Diffusionsbildgebung zu jedem Untersuchungszeitpunkt notwendig.

Hinzukommend wurde die Analyse erheblich durch die fehlerhafte Modellberechnung des IVIM Modells bei der Generierung der ADC-Karten aus den DWI-Sequenzen limitiert, insbesondere nach 6 und zum Teil auch nach 9 Monaten Verlaufskontrolle. Trotz einer sehr großen Datenmenge mit über 54000 Messwerten (bei 19 Patienten mit zumeist vier Untersuchungen und ca. 20 ROIs mit mehreren Messwerten in sechs verschiedenen ADC-Karten) mussten wegen der geringen Anpassungsgüte des Modells an die tatsächlichen Daten so viele Messwerte nach 6 und 9 Monaten verworfen werden, dass zum einen relevante Untersuchungszeitpunkte, die kritische Zeitpunkte in der Entstehung von ON darstellen, nicht adäquat untersucht und beurteilt werden konnten. Zum anderen konnte beispielsweise keine detaillierte Analyse des Diffusions- und Perfusionsverhaltens pro Knochenregion (Dia-, Meta,- und Epiphyse) erfolgen, da vor allem diaphysäre Regionen und solche, die im Verlauf keine ON entwickelten, besonders von der unzutreffenden mathematischen Berechnung betroffen waren und die Daten daher verworfen werden mussten. Mit der vorhandenen Datenmenge war in dieser Studie nur eine zusammenfassende Auswertung von Regionen mit ON und solchen ohne ON möglich. Eine separate Analyse mit Berücksichtigung der Lokalisation von Läsionen wäre von großer Relevanz, da von Kuhlen und Krull et al. [3, 6] vorbeschrieben wurde, dass sich insbesondere epiphysäre Läsionen des Kniegelenks in kurzer Zeit verschlimmern und zu massiven Funktionseinschränkungen führen, während Veränderungen der Meta- und Diaphyse für gewöhnlich keinen Schaden anrichten und mit zunehmendem Abstand vom Gelenkspalt auch häufiger spontan verschwinden.

Nach gründlicher Analyse ist die geringe Anpassungsgüte der Modellberechnung des biexponentiellen IVIM Modells wie oben beschrieben am ehesten auf Artefakte zurückzuführen. Hinzu kommen die im vorherigen Kapitel diskutierten Aspekte. Für zukünftige MRT-Untersuchungen sollte das Ziel sein, Artefakte durch eine optimierte Durchführung der Untersuchung zu vermeiden oder zumindest zu reduzieren.

Zusammenfassend könnten mit einer größeren Patientenanzahl und mit dem Vorliegen aller Diffusionsbildgebungen zu den festgelegten Zeitpunkten sowie nach Optimierung der Generierung der MRT-Aufnahmen zur Vermeidung von Artefakten und besseren Anpassung der Modellberechnung an die tatsächlichen Daten in ergänzenden Untersuchungen die einzelnen Knochenregionen der Dia-, Meta- und Epiphyse des distalen Femurs und der proximalen Tibia getrennt voneinander untersucht und bewertet werden. Außerdem wäre mit einer umfassenderen Datenmenge auch ein aussagekräftigeres Ergebnis bei der Gegenüberstellung der Untersuchungszeitpunkte nach 0, 6, 9 und 12 Monaten möglich.

Ein immer vorhandener und nur schwer optimierbarer Aspekt bei einer Längsschnittstudie mit seriellen bildgebenden Untersuchungen dieser Art ist im Kindes- und Jugendalter das physiologische Längenwachstum der Patienten, das nicht nur den inter-, sondern vor allem den intraindividuellen Vergleich von Verlaufsuntersuchungen erheblich erschwert. Das Wachstum von Kindern- und Jugendlichen kann in drei Phasen eingeteilt werden, von denen die dritte Phase im Rahmen der Pubertät genau das hier untersuchte Patientenkollektiv mit einer Altersspanne von 10-17 Jahren betraf [93]. Die Wachstumsphasen werden insbesondere durch genetische, umwelt- und ernährungsbedingte sowie hormonelle Faktoren beeinflusst. In der Pubertät spielen vor allem der hormonelle Einfluss durch die nachlassende Suppression der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse und der damit verbundene Anstieg der Produktion von Geschlechtshormonen eine entscheidende Rolle. Zusätzlich zum sprunghaften Anstieg der Geschlechtshormone findet eine Steigerung der Insulin-, Wachstumshormon-, und IGF-1-Produktion statt, die gemeinsam einen Wachstumsschub herbeiführen. Obwohl die Pubertät bei Mädchen durchschnittlich nur sechs Monate früher als bei Jungen eintritt, erfolgt der Wachstumsschub in der Pubertät in der Regel bei Mädchen zwei Jahre früher als bei Jungen. [94, 95]

Bei einem in dieser Untersuchung vorhandenen mittleren Alter von 12,83 Jahren für beide Geschlechter bzw. für Mädchen von 12,67 Jahren und für Jungen von 13,00 Jahren bei Studieneinschluss und einem Follow-up-Zeitraum von einem Jahr war intraindividuell aufgrund der hormonell erhöhten Wachstumsrate ein zum Teil sehr großer Unterschied in den Köpergrößen und damit auch den Knochenlängen festzustellen. Ein großer Anteil der untersuchten Patienten wies genau innerhalb des beobachteten Zeitraums den zuvor beschriebenen pubertären Wachstumsschub auf, sodass ein Vergleich der Läsionen zu den unterschiedlichen Zeitpunkten erschwert war. Der Wachstumsschub konnte jedoch nur bildmorphologisch beurteilt werden, denn für die hier durchgeführte Analyse lagen keine klinischen Informationen über die tatsächliche Körperlänge der Patienten zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten vor.

Da das Knochenwachstum in Längsrichtung durch enchondrale Knochenbildung insbesondere im Bereich um die Epiphysenfuge an proximalen und distalen Enden von Röhrenknochen stattfindet [2, 96, 97], ist die Verlaufsevaluation vor allem von Läsionen der Epi- und Metaphyse problematisch. Radiomorphologisch detektierte Läsionen in diesen Regionen können sich in den Verlaufskontrollen zum Teil nicht mehr an derselben Stelle befinden, wodurch die Vergleichbarkeit neben dem Längenwachstum an sich, auch aufgrund der richtigen Zuordnung einer Läsion zur entsprechenden Region, erschwert wird. Umgekehrt besteht dieses Problem noch viel mehr für gesunde Knochenareale, denn ohne radiologische Auffälligkeiten ist es nahezu unmöglich, exakt dieselbe Stelle in der Verlaufsuntersuchung zu treffen und zu analysieren.

Das physiologische Wachstum ist abgeschlossen, wenn sich die Epiphysenfugen der langen Knochen unter dem Einfluss von Östrogen schließen [94, 95]. Ein vollständiger Verschluss der Epiphysenfugen konnte am Ende des Beobachtungszeitraums in der durchgeführten Bildgebung bei keinem der Patienten beobachtet werden.

Zusammenfassend ist bei der Interpretation der Ergebnisse also das physiologische pubertäre Längenwachstum der Patienten zwischen den Verlaufskontrollen und ein damit verbundenes eventuelles "Herauswachsen" aus den entsprechenden Regionen, in denen die ROIs gemessen werden, zu beachten. Unabhängig des Alters ist darüber hinaus bei der Analyse zu berücksichtigen, dass z.B. bedingt durch eine Schräglage des Patienten zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten ggf. nicht in exakt der gleichen Schicht gemessen wird. Im Rahmen dieser Arbeit wurde versucht, mithilfe anatomischer Leitstrukturen durch Lagekorrekturen zu sichern, dass in den jeweiligen Untersuchungen eines Patienten die gleichen Regionen wieder getroffen wurden. Dennoch gelingt dies auch aufgrund der zuvor genannten Aspekte nicht immer und muss daher bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden. Ein relevanter Aspekt für die Beantwortung wichtiger bisher offen gebliebener Fragen auf diesem Forschungsgebiet, der auch eine Zielfragestellung der zugrundeliegenden OPAL-Studie darstellt, ist die Identifizierung von Patienten mit asymptomatischen ON, die im Verlauf schwerwiegende symptomatischen ON entwickeln. Denn bisher ist es herausfordernd, Patienten mit dem Risiko einer funktionellen Beeinträchtigung und schwerwiegenden fortschreitenden Gelenkschäden von asymptomatischen Patienten zu unterscheiden [2].

Wie bereits in den vorherigen Kapiteln erwähnt, ist diese konkrete Untersuchung durch die fehlende klinische Angabe über die Korrelation von radiologisch detektierten Läsionen mit den Beschwerden der Patienten limitiert, da es sich um eine reine bildmorphologische Auswertung handelte. Es lagen im Rahmen dieser Arbeit keine Daten vor, die angaben, welche der mit ON identifizierten Patienten im Verlauf symptomatisch wurden oder asymptomatisch blieben. Weil es einen enormen unvorhersehbaren Verlauf der ON gibt und sich viele ON spontan zurückbilden, ohne eine klinische Symptomatik und Langzeitfolgen zu verursachen, ist es wie mehrfach von Kunstreich et al. [2] und anderen Autoren [3, 14, 27, 28, 62] betont besonders relevant, nur den Anteil an Kindern zu erkennen, der schwerwiegende symptomatische ON entwickelt. Letztlich sollte es nämlich im Sinne einer Nutzen-Risiko-Abwägung ein Ziel bleiben, nur Hochrisikopatienten eine Intervention zuzuführen, welche in der Regel einen operativen Eingriff beinhaltet [3, 98-100] und daher Komplikationen sowie folgenschwere Konsequenzen hervorrufen kann.

Um eine solche Differenzierung zwischen Patienten mit asymptomatisch bleibenden Läsionen und schwerwiegenden symptomatischen ON näher zu erforschen und ggf. möglich zu machen, könnte der am Ende von Kapitel 4.2.1 vorgeschlagene Ansatz verfolgt werden, indem das Diffusions- und Perfusionsverhalten genau in den Regionen analysiert wird, in denen sich ON schnell zurückbilden im Vergleich zu Arealen, die sich zu stark progredienten, schwerwiegenden ON entwickeln.

Eine nicht zuletzt zu erwähnende Limitation sowohl dieser Analyse als auch für die Bewertung vorausgegangener Studien ist die uneinheitliche Einteilung der Läsionen aufgrund des Fehlens geeigneter Klassifikationssysteme für ON im Kindes- und Jugendalter. Im Rahmen dieser Arbeit wurde zur Bewertung des Ausmaßes von ON die ARCO-Klassifikation verwendet. Dabei handelt es sich um ein Klassifikationssystem, das für die Diagnostik der aseptischen Hüftkopfnekrose im Erwachsenenalter entwickelt wurde [101, 102]. Für die radiologische Stadieneinteilung von ON im Kindesalter nach Chemotherapie gibt es aktuell kein gutes, etabliertes System, weswegen sich die Studiengruppen momentan an unterschiedlichen Klassifikationssystemen bedienen [3]. Dadurch werden die Vergleichbarkeit zwischen den Studien und die Einordnung der hier gewonnenen Ergebnisse in die aktuelle wissenschaftliche Literatur erheblich limitiert.

Eine erstmalige radiologische Klassifikation von ON bei Kindern mit ALL wurde im Jahr 2015 zur Verfügung gestellt und ermöglicht die Klassifizierung von ON unabhängig vom Ort der Läsion [3, 103]. Für klinische Ansätze zur Krankheit mit dem Ziel einer Verbesserung der Behandlung von Patienten sind aber nicht nur die Bewertung des Ausmaßes, sondern insbesondere die Berücksichtigung des Ortes der ON entscheidend. Eine Studie von Niinimäki et al. aus dem Jahr 2015 identifizierte letztlich kritische Mängel an allen verfügbaren Klassifikationssystemen und empfahl ein neues, gelenkspezifisches Klassifikationssystem [2, 103]. Im Jahr 2016 veröffentliche die Ponte di Legno Toxicity Working Group eine Konsensdefinition von ON, die teilweise auf MRT basiert, aber ebenfalls klinische Symptome berücksichtigt [3, 7]. Eine reine radiologische Klassifikation von ON, die das klinische Ausmaß adäquat bewertet und die Lokalisation der Läsion in Bezug auf die Entfernung zum Gelenkspalt berücksichtigt, ist derzeit nicht verfügbar, wird jedoch dringend benötigt.

4.4 Schlussfolgerung

Eine prospektive Aussage zur Entstehung von ON ist mit den in dieser Arbeit durchgeführten Analysen nicht möglich. Es konnte keine Frühdiagnose von ON bei Kindern mit ALL und LBL unter antileukämischer Therapie mittels Diffusion und Perfusion in der MRT gestellt werden. Das bi-exponentielle IVIM Modell bietet gegenüber dem mono-exponentiellen Modell aber den Vorteil der getrennten Betrachtung von Diffusion und Perfusion und in der Diffusions-Karte (biADCd) zeichneten sich deutlich früher signifikante Ergebnisse im Vergleich zur mono-exponentiellen ADC-Karte ab. Ob die bi-exponentielle DWI-Analyse gegenüber den Auswertungen mittels klassischer nicht-diffusionsbasierter Bildgebung (z.B. T1-Wichtung oder STIR-Sequenzen) mehr Potential hat, bleibt offen, denn es konnten durch diese Analysen zu den gewählten Untersuchungszeitpunkten keine Veränderungen der Diffusion und Perfusion vor einer erstmaligen Detektion von ON in der T1-Wichtung/STIR-Sequenz beobachtet werden. Damit ist es bislang nicht möglich, mit diesen Methoden Hochrisikopatienten für die Entwicklung erheblicher ON zu identifizieren.

Sinnvoll für weitere Analysen sind sicherlich eine Anpassung des Modells, die Reduktion von Artefakten bei der Generierung der MRT-Aufnahmen sowie eine umfangreichere Datenmenge. Außerdem erscheint es sinnvoll, die Wahl der Untersuchungszeitpunkte im Studiendesign zu variieren und eine genaue Betrachtung der Zeitpunkte 7 und 8 Monate nach Therapiebeginn anzustreben. Da aufgrund des unvorhersehbaren Verlaufs von ON weiterhin mehr Daten über das Verhältnis von Kindern benötigt werden, die im Frühstadium asymptomatischer ON mittels MRT diagnostiziert werden und später symptomatische ON und Gelenkverletzungen entwickeln, sollte das Diffusions- und Perfusionsverhalten in Regionen, in denen sich ON schnell regredient verhalten und solchen Arealen, an denen ON einen schwer progredienten Verlauf aufweisen, näher auf Unterschiede untersucht werden, um damit möglicherweise frühzeitig Hochrisikopatienten identifizieren zu können und ihnen in Zukunft präventive oder therapeutische Interventionen zu ermöglichen.

Zusammenfassend werden dringend ergänzende und ggf. auch andere Methoden zur Frühdetektion benötigt, um folgenreiche ON und Langzeitschäden für Kinder und Jugendliche mit ALL und LBL zu verhindern. Die MRT als Diagnostikum scheint ein zielführendes Instrument zu bleiben und die Betrachtung des Diffusions- und Perfusionsverhaltens mittels bi-exponentieller IVIM-Analyse Potential zu bieten, wobei es gilt, die Wertigkeit und den Benefit dieses Verfahrens in weiteren Analysen zu untersuchen.

5. Literatur- und Quellenverzeichnis

- [1] K. Weil, H.-J. Wittsack, H.-J. Laws, G. Antoch, J. Schaper und D. Klee, "Frühdiagnose von Osteonekrosen bei Kindern mit ALL und LBL unter antileukämischer Therapie mittels Diffusion und Perfusion im MRT - Ergebnisse der OPAL-Studie," in *RöFo Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin*, Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, 2019; 191(S 02):139.
- [2] M. Kunstreich, S. Kummer, H.-J. Laws, A. Borkhardt und M. Kuhlen, "Osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia," in *Hematologica*, European Hematology Association, 2016; 101(11):1295-1305.
- [3] M. Kuhlen, M. Kunstreich, K. Krull, R. Meisel und A. Borkhardt, "Osteonecrosis in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: a therapeutic challenge," in *blood advances*, The American Society of Hematology, 2017; 1(14):981-994.
- [4] M. Schrappe, A. Möricke, A. Reiter, G. Henze, K. Welte, H. Gadner, W.-D. Ludwig, J. Ritter, J. Harbott, G. Mann, T. Klingebiel, B. Gruhn, C. Niemeyer, B. Kremens, F. Niggli, K.-M. Debatin, R. Ratei, M. Stanulla, R. Beier, G. Cario, A. Schrauder und M. Zimmermann, "Key treatment questions in childhood acute lymphoblastic leukemia: results in 5 consecutive trials performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000," in *Klinische Pädiatrie*, Georg Thieme Verlag, 2013; 225(1):62-72..
- [5] C.-H. Pui, J. J. Yang, S. P. Hunger, R. Pieters, M. Schrappe, A. Biondi, A. Vora, A. Baruchel, L. B. Silverman, K. Schmiegelow, G. Scherich, K. Horibe, Y. C. M. Benoit, S. Izraeli, A. E. J. Yeoh, D.-C. Liang, J. R. Downing, W. E. Evans, M. V. Relling und C. G. Mullighan, "Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Progress Through Collaboration," in *Journal of clinical oncology*, The American Society of Clinical Oncology, 2015; 33(27):2938-48.
- [6] K. Krull, M. Kunstreich, J. Klasen-Sansone, A. Kloetgen, F. Gruener, G. Escherich, K. Bleckmann, A. Moericke, M. Schrappe, N. Jorch, D. Steinbach, C.-F. Classen, A. Guggemos, R. Kolb, D. Klee, A. Borkhardt und M. Kuhlen, "Osteonecrosis develops independently from radiological leukemic infiltration of bone in adolescents with acute lymphoblastic leukemia first findings of the OPAL trial," in *Leukemia & Lymphoma*, Taylor & Francis Group, 2017; 58:1042-2403.
- [7] K. Schmiegelow, A. Attarbaschi, S. Barzilai, G. Escherich, T. L. Frandsen, C. Halsey, R. Hough, S. Jeha, M. Kato, D.-C. Liang, T. S. Mikkelsen, A. Möricke, R. Niinimäki, C. Piette, M. C. Putti, E. Raetz, L. B. Silverman, R. Skinner, R. Tuckuviene, I. van der Sluis und E. Zapotocka, "Consensus definitions of 14 severe acute toxic effects for childhood lymphoblastic leukaemia treatment: a Delphi consensus," in *The Lancet Oncology*, Elsevier-Verlag, 2016; 17(6):231-239.
- [8] N. Ali, S. Gohar, I. Zaky, S. Elghoneimy, G. Sameer, D. Yassin, S. Salem, H. Magdi und I. Sidhom, "Osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia: A report from Children's Cancer Hospital Egypt (CCHE)," in *Pediatric Blood & Cancer*, John Wiley & Sons, 2018; 66(1).

- [9] M. Arico, M. F. Boccalatte, D. Silvestri, E. Barisone, C. Messina, R. Chiesa, N. Santoro, P. Tamaro, A. Lippi, D. Gallisai, G. Basso und G. De Rossi, "Osteonecrosis: An emerging complication of intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia," in *Haematologica*, Ferrata-Storti Foundation, 2003; 88(7).
- [10] G. Biddeci, G. Bosco, E. Varotto, M. Corradin, G. Geranio, G. Tridello, M. Pillon, E. Carraro, G. Garetto, R. Assadi, C. Gigante und M. C. Putti, "Osteonecrosis in Children and Adolescents With Acute Lymphoblastic Leukemia: Early Diagnosis and New Treatment Strategies," in Anticancer Research, Anticancer Research, 2019; 39(3):1259-1266.
- [11] S.-H. Chen, T.-Y. Chang, T.-H. Jaing, M. S. Lee, C.-J. Wang, I.-J. Hung und C.-P. Yang, "Incidence, risk factors, and treatment outcome of symptomatic osteonecrosis in Taiwanese children with acute lymphoblastic leukemia: a retrospective cohort study of 245 patients in a single institution," in *International Journal of Hematology*, Springer Verlag, 2015; 102:41-47.
- [12] B. M. DeFeo, S. C. Kaste, Z. Li, T. M. Brinkman, M. D. Neel, D. Kumar Srivastava, M. M. Hudson, L. L. Robinson, S. E. Karol und K. K. Ness, "Long-Term Functional Outcomes Among Childhood Survivors of Cancer Who Have a History of Osteonecrosis," in *Physical Therapy*, Oxford Academic, 2020; 100(3):509–522.
- [13] H. Inaba, X. Cao, J. Y. Chang, S. E. Karol, J. C. Panetta, K. K. Ness, C. Cheng, C.-H. Pui, M. V. Relling und S. C. Kaste, "Incidence of hip and knee osteonecrosis and their associations with bone mineral density in children with acute lymphoblastic leukaemia," in *British Journal of Haematology*, John Wiley & Sons, 2020; 189(4).
- [14] J. D. Kawedia, S. C. Kaste, D. Pei, J. C. Panetta, X. Cai, C. Cheng, G. Neale, S. C. Howard, W. E. Evans, C.-H. Pui und M. V. Relling, "Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and pharmacogenetic determinants of osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia," in *Blood*, The American Society of Hematology, 2011; 117(8):2340-2347.
- [15] M. Kuhlen, A. Moldovan, K. Krull, R. Meisel und A. Borkhardt, "Osteonecrosis in Paediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukaemia Treated on Co-ALL-07-03 Trial: a Single Centre Analysis," in *Klinische Pädiatrie, Clinical Research and Practice in Pediatrics*, Georg Thieme Verlag, 2014; 226(3):154-160.
- [16] L. A. Mattano Jr, M. Devidas, J. Nachman, H. N. Sather, S. P. Hunger, P. G. Steinherz, P. S. Gaynon und N. L. Seibel, "Effect of alternate-week versus continuous dexamethasone scheduling on the risk of osteonecrosis in paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia: results from the CCG-1961 randomised cohort trial," in *The Lancet Oncology*, Elsevier B.V., 2012; 13(9):906-915.
- [17] L. A. Mattano Jr, H. N. Sather, M. E. Trigg und J. B. Nachman, "Osteonecrosis as a Complication of Treating Acute Lymphoblastic Leukemia in Children: A Report From the Children's Cancer Group," in *Journal of Clinical Oncology*, American Society of Clinical Oncology, 2000; 18(18):3262-3272.

- [18] S. S. Mogensen, A. Harila-Saari, O. Mäkitie, I. H. Myrberg, R. Niinimäki, A. Vestli, S. Hafsteinsdottir, L. Griskevicius, K. Saks, H. Hallböök, J. Retpen, L. Rold, N. Toft, K. Schmiegelow und T. L. Frandsen, "Comparing osteonecrosis clinical phenotype, timing, and risk factors in children and young adults treated for acute lymphoblastic leukemia," in *Pediatric Blood & Cancer*, John Wiley & Sons, 2018; 65(10).
- [19] A. Möricke, M. Zimmemann, M. G. Valsecchi, M. Stanulla, A. Biondi, G. Mann, F. Locatelli, G. Cazzangia, F. Niggli, M. Aricò, C. R. Bartram, A. Attarbaschi, D. Silvestri, R. Beier, G. Basso, R. Ratei, A. E. Kulozik, L. L. Nigro, B. Kremens, J. Greiner, P, R. Parasole, J. Harbott, R. Caruso, A. von Stackelberg, E. Barisone, C. Rössing, V. Conter und M. Schrappe, "Dexamethasone vs prednisone in induction treatment of pediatric ALL: results of the randomized trial AIEOP-BFM ALL 2000," in *Blood*, The American Society of Hematology, 2016; 127(17):2101-2112.
- [20] B. Padhye, L. Dalla-Pozza, D. Little und C. Munns, "Incidence and outcome of osteonecrosis in children and adolescents after intensive therapy for acute lymphoblastic leukemia (ALL)," in *Cancer Medicine*, John Wiley & Sons, 2016; 5(5):960-967.
- [21] S. Sharma, S. Yang, R. Rochester, L. Britton, W.-H. Leung, J. Yang, M. D. Neel, K. K. Ness und S. C. Kaste, "Prevalence of osteonecrosis and associated risk factors in children before allogeneic BMT," in *Bone Marrow Transplantation*, Nature Research, 2011; 46:813–819.
- [22] M. Kuhlen, M. Kunstreich, K. Krull, J. Klasen-Sansone, F. Schramm, G. Escherich, A. Moericke, M. Schrappe, D. Klee und A. Borkhardt, "Systematic MRI screening identifies extensive asymptomatic osteonecrotic lesions in adolescents with ALL- first findings of the OPAL trial," European Hematology Association Learning Center, 2017.
- [23] P. Girard, P. Auquier, V. Barlogis, A. Contet, M. Poiree, F. Demeocq, J. Berbis, I. Herrmann, V. Villes, N. Sirvent, J. Kanold, P. Chastagner, H. Chambost, D. Plantaz und G. Michel, "Symptomatic osteonecrosis in childhood leukemia survivors: prevalence, risk factors and impact on quality of life in adulthood," in *Hematologica*, European Hematology Association, 2013; 98(7):1089-97.
- [24] A. E. Olaja, E. Pääkkö, F. P. Lanning und M. Lanning, "Osteonecrosis during the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: a prospective MRI study," in *Medical and Pediatric Oncology*, John Wiley and Sons, 1999; 32(1):11-17.
- [25] R. C. Ribeiro, B. D. Fletcher, W. Kennedy, P. L. Harrison, M. D. Neel, S. C. Kaste, J. T. Sandlund, J. E. Rubnitz, B. I. Razzouk, M. V. Relling und C. H. Pui, "Magnetic resonance imaging detection of avascular necrosis of the bone in children receiving intensive prednisone therapy for acute lymphoblastic leukemia or non-Hodgkin lymphoma," in *Leukemia*, Nature Research, 2001; 15(6):891-7.
- [26] R. A. Niinimäki, A. H. Harila-Saari, A. E. Jartti, R. M. Seuri, P. V. Riikonen, E. L. Pääkkö, M. I. Möttönen und M. Lanning, "High body mass index increases the risk for osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia," in *Journal of Clinical Oncology*, American Society of Clinical Oncology , 2007; 25(12):1498-504.

- [27] S. C. Kaste, D. Pei, C. Cheng, M. D. Neel, W. P. Bowman, R. C. Ribeiro, M. L. Metzger, D. Bhojwani, H. Inaba, P. Campbell, J. E. Rubnitz, S. Jeha, J. T. Sandlund, J. R. Downing, M. V. Relling, C.-H. Pui und S. C. Howard, "Utility of early screening magnetic resonance imaging for extensive hip osteonecrosis in pediatric patients treated with glucocorticoids," in *Journal of Clinical Oncology*, American Society of Clinical Oncology , 2015; 33(6):610-5.
- [28] M. te Winkel, R. Pieters, W. C. J. Hop, H. A. de Groot-Kruseman, M. H. Lequin, I. M. van der Sluis, J. P. M. Bökkerink, J. A. Leeuw, M. C. A. Bruin, R. M. Egeler, A. J. P. Veerman und M. M. van den Heuvel-Eibrink, "Prospective study on incidence, risk factors, and long-term outcome of osteonecrosis in pediatric acute lymphoblastic leukemia," in *Journal of Clinical Oncology*, American Society of Clinical Oncology, 2011; 29(31):4143-50.
- [29] E. J. Karimova, S. N. Rai, S. C. Howard, M. Neel, L. Britton, C.-H. Pui und S. C. Kaste, "Femoral head osteonecrosis in pediatric and young adult patients with leukemia or lymphoma," in *Journal of Clinical Oncology*, American Society of Clinical Oncology, 2007; 25(12):1525-31.
- [30] Ippolito, D, A. Masetto, C. Talei Franzesi, P. A. Bonaffini, A. Sala, A. Biondi und S. Sironi, "Lower-limb MRI in the staging and re-staging of osteonecrosis in paediatric patients affected by acute lymphoblastic leukaemia after therapy," in *Skeletal Radiology*, Springer Science, 2016; 45(4):495-503.
- [31] R. A. Niinimäki, A. H. Harila-Saari, A. E. Jartti, R. M. Seuri, P. V. Riikonen, E. L. Pääkkö, M. I. Möttönen und M. Lanning, "Osteonecrosis in children treated for lymphoma or solid tumors," in *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, Lippincott Williams & Wilkins (LWW), 2008; 30(11):798-802..
- [32] M. V. Relling, W. Yang, S. Das, E. H. Cook, G. L. Rosner, M. Neel, S. Howard, R. Ribeiro, J. T. Sandlund, C.-H. Pui und S. C. Kaste, "Pharmacogenetic risk factors for osteonecrosis of the hip among children with leukemia," in *Journal of Clinical Oncology*, American Society of Clinical Oncology, 2004; 22(19):3930-6.
- [33] B. Bürger, R. Beier, M. Zimmermann, J. D. Beck, A. Reiter und M. Schrappe, "Osteonecrosis: a treatment related toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL)--experiences from trial ALL-BFM 95," in *Pediatric Blood Cancer*, John Wiley and Sons, 2005; 44(3):220-5.
- [34] H. Lackner, M. Benesch, A. Moser, F. Smolle-Jüttner, W. Linhart, J. Raith und C. Urban, "Aseptic osteonecrosis in children and adolescents treated for hemato-oncologic diseases: a 13-year longitudinal observational study," in *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, Lippincott Williams & Wilkins (LWW), 2005; 27(5):259-63.
- [35] A. J. Bukowinski, K. C. Burns, K. Parsons, J. P. Perentesis und M. M. O'Brien, "Toxicity of Cancer Therapy in Adolescents and Young Adults (AYAs)," in *Seminars in Oncology Nursing*, Elsevier Verlag, 2015; 31(3):216-26.
- [36] M. Hino, T. Yamane, K. Ohta, A. Shioi, H. Koyama, H. Tahara, Y. Nishizawa und N. Tatsumi, "Bone resorption associated with uncoupling of osteoclastic and osteoblastic activities in adult T cell leukemia with hypercalcemia: case report," in *Annals of Hematology*, Springer Verlag, 2001; 80(7):426-429.

- [37] P. N. Soni, "Hypercalcaemia and multiple osteolytic lesions in childhood acute lymphoblastic leukaemia," in *Postgraduate Medical Journal*, BMJ Group on behalf of the Fellowship of Postgraduate Medicine, 1993; 69(812):483-5.
- [38] A. J. Strauss, J. T. Su, R. D. Gelber, S. E. Sallan und L. B. Silverman, "Bony morbidity in children treated for acute lymphoblastic leukemia," in *Journal of Clinical Oncology*, American Society of Clinical Oncology, 2001; 19(12):3066-72.
- [39] K. Bohndorf, G. Benz-Bohm, W. Gross-Fengels und F. Berthold, "MRI of the knee region in leukemic children. Part I. Initial pattern in patients with untreated disease," in *Pediatric Radiology*, Springer Nature, 1990; 20(3):179-83.
- [40] D. Weishaupt, V. D. Köchli und B. Marincek, Wie funktioniert MRI? Eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanztomographie, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 7. Auflage, 2014.
- [41] M. Reiser, F.-P. Kuhn und J. Debus, Duale Reihe Radiologie, Thieme-Verlag, 4. Auflage, 2017.
- [42] M. Schlamann, "Diffusionsgewichtung in der Neuroradiologie," in *Der Radiologe*, Springer-Verlag, 2011; 51:180-185.
- [43] G. M. Kukuk, S. Greschus, J. Goldstein und C. C. Pieper, "Diffusionsbildgebung: Technik und klinische Anwendung," in *Radiologie up2date*, Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, 2017; 17(03):248.
- [44] G. Boeck, Kurzlehrbuch Chemie, Thieme-Verlag, 3. unveränderte Auflage, 2018.
- [45] J. R. Reichenbach, "Diffusionsbildgebung," in *RöFo Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren*, Thieme-Verlag, 2013; 185-RK402_2.
- [46] J. M. Provenzale, S. T. Engelter, J. R. Petrella, J. S. Smith und J. R. MacFall, "Use of MR Exponential Diffusion-Weighted Images to Eradicate T2 "Shine-Through" Effect," in AJR American Journal of Roentgenology, American Roentgen Ray Society, 1999; 172(2):537-9.
- [47] D. Le Bihan, E. Breton, P. Grenier, E. Cabanis und M. Laval-Jeantet, "MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders," in *Radiology*, Radiological Society of North America (USA), 1986; 161(2):401-407.
- [48] D. Le Bihan, E. Breton, D. Lallemand, M.-L. Aubin, J. Vignaud und M. Laval-Jeantet, "Separation of diffusion and perfusion in intravoxel incoherent motion MR imaging," in *Radiology*, Radiological Society of North America (USA), 1988; 168(2):497-505.
- [49] D.-M. Koh, D. J. Collins und M. Orton, "Intravoxel incoherent motion in body diffusionweighted MRI: reality and challenges," in AJR American Journal of Roentgenology, American Roentgen Ray Society, 2011; 196(6):1351-1361.
- [50] D. Le Bihan, "Apparent Diffusion Coefficient and Beyond: What Diffusion MR Imaging Can Tell Us about Tissue Structure," in *Radiology*, Radiological Society of North America (USA), 2013; 268(2):318-322.
- [51] M. lima und D. Le Bihan, "Clinical Intravoxel Incoherent Motion and Diffusion MR Imaging: Past, Present, and Future," in *Radiology*, Radiological Society of North America (USA), 2016; 278(1):13-32.
- [52] H. S. Kim, C. H. Suh, N. Kim, C.-G. Choi und S. J. Kim, "Histogram Analysis of Intravoxel Incoherent Motion for Differentiating Recurrent Tumor from Treatment Effect in Patients with Glioblastoma: Initial Clinical Experience," in ANJR American Journal of Neuroradiology, American Society of Neuroradiology, 2014; 35(3):490-7.
- [53] D. Y. Kim, H. S. Kim, M. J. Goh, C. G. Choi und S. J. Kim, "Utility of Intravoxel Incoherent Motion MR Imaging for Distinguishing Recurrent Metastatic Tumor from Treatment Effect following Gamma Knife Radiosurgery: Initial Experience," in ANJR American Journal of Neuroradiology, American Society of Neuroradiology, 2014; 35(11):2082-2090.
- [54] "Questions and Answers in MRI IVIM Imaging," AD Elster, ELSTER LLC, 2021. [Online]. Available: http://mriquestions.com/ivim.html. [Zugriff am 04.01.2021].
- [55] M. Iima, K. Yano, M. Kataoka, M. Umehana, K. Murata, S. Kanao, K. Togashi und D. Le Bihan, "Quantitative non-Gaussian diffusion and intravoxel incoherent motion magnetic resonance imaging: differentiation of malignant and benign breast lesions," in *Investigative Radiology*, Lippincott Williams & Wilkins Ltd., 2015; 50(4):205-211.
- [56] W. T. Dixon, "Separation of diffusion and perfusion in intravoxel incoherent motion MR imaging: a modest proposal with tremendous potential," in *Radiology*, Radiological Society of North America (USA), 1988; 168(2):566-567.
- [57] D. Le Bihan, "Intravoxel incoherent motion perfusion MR imaging: a wake-up call," in *Radiology*, Radiological Society of North America (USA), 2008; 249(3):748-752.
- [58] C.-P. Adler, Knochenkrankheiten, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 3. Auflage, 2005.
- [59] W. Böcker, H. Denk, P. U. Heitz, H. Moch, G. Höfler und H. Kreipe, Pathologie, Urban & Fischer in Elsevier, 5. Auflage, 2012.
- [60] Wirth, Carl Joachim, W.-E. Mutschler, D. Kohn und T. Pohlemann, Praxis der Orthopädie und Unfallchirurgie, Thieme-Verlag, 3., vollständig überarbeitete Auflage 2014.
- [61] N. Vanlangenakker, T. Vanden Berghe, D. V. Krysko, N. Festjens und P. Vandenabeele, "Molecular mechanisms and pathophysiology of necrotic cell death," in *Current Molecular Medicine*, Bentham Science Publishers, 2008; 8(3):207-20.
- [62] K. Krull, M. Kunstreich, A. Bronsema, K. Bleckmann, C.-F. Classen, B. Erdlenbruch, N. Jorch, R. Kolb, A. Leipold, O. Moser, A. Prokop, W. Scheurlen, D. Steinbach, J. Klasen-Sansone, D. Klee, G. Escherich, A. Moericke, M. Schrappe, A. Borkhardt und M. Kuhlen, "Osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia at initial diagnosis and prior to any chemotherapy," in *Leukemia & Lymphoma*, Taylor & Francis, 2019; 60(1):78-84.

- [63] M. Shahnazi, A. Khatami, B. Shamsian, B. Haerizadeh und M. Mehrafarin, "Bony Lesions in Pediatric Acute Leukemia: Pictorial Essay," in *Iranian Journal of Radiology*, MEDICAL IMAGING CENTER TEHRAN UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES, 2012; 9(1):50–56.
- [64] M. F. Tannenbaum, S. Noda, S. Cohen, J. G. Rissmiller, A. M. Golja und D. M. Schwartz, "Imaging Musculoskeletal Manifestations of Pediatric Hematologic Malignancies," in AJR American Journal of Roentgenology, American Roentgen Ray Society, 2020; 214:455–46.
- [65] D. Jaramillo, J. P. Dormans, J. Delgado, T. Laor und J. W. St Geme III, "Hematogenous Osteomyelitis in Infants and Children: Imaging of a Changing Disease," in *Radiology*, Radiological Society of North America, 2017; 283(3).
- [66] A. Hempfing, R. Placzek, T. Göttsche und A. L. Meiss, "Primary subacute epiphyseal and metaepiphyseal osteomyelitis in children," in *The Journal of Bone & Joint Surgery (Br)*, Journal Bone Joint Surgery, 2003; 85-B:559-64.
- [67] D. Gilbertson-Dahdal, J. E. Wright, E. Krupinski, W. E. McCurdy und M. Taljanovic, "Transphyseal Involvement of Pyogenic Osteomyelitis Is Considerably More Common Than Classically Taugh," in AJR American Journal of Roentgenology, American Roentgen Ray Society, 2014; 203:190–195.
- [68] C. Fan, B. K. Foster, W. H. Wallace und C. J. Xian, "Pathobiology and prevention of cancer chemotherapy-induced bone growth arrest, bone loss, and osteonecrosis," in *Current Molecular Medicine*, Bentham Science, 2011; 11(2):140-51.
- [69] R. S. Weinstein, "Glucocorticoid-induced osteoporosis and osteonecrosis," in *Endocrinology* & *Metabolism Clinics of North America*, Elsevier Verlag, 2012; 41(3):595-611.
- [70] P. Chotiyarnwong und E. V. McCloskey, "Pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis and options for treatment," in *Nature Reviews Endocrinology*, Nature Research, 2020; 16(8):437-447.
- [71] K. Bohnhorf, H. Imhof und K. Wörtler, Radiologische Diagnostik der Knochen und Gelenke, Thieme Verlag, 4. Auflage, 2017.
- [72] P. Lafforgue, "Pathophysiology and natural history of avascular necrosis of bone," in *Joint Bone Spine*, Elsevier-Verlag, 2006; 73(5):500-7.
- [73] R. F. Schmidt, F. Lang und M. Heckmann, Physiologie des Menschen, Springer-Verlag, 31. Auflage, 2010.
- [74] J. P. Jones Jr, "Fat embolism, intravascular coagulation, and osteonecrosis," in *Clinical Orthopaedics and Related Research*, Springer Science+Business Media, 1993; (292):294-308.
- [75] M. Laroche, "Intraosseous circulation from physiology to disease," in *Joint Bone Spine*, Elsevier-Verlag, 2002; 69(3):262-9.
- [76] J. P. Jones Jr, "Coagulopathies and osteonecrosis," in *Acta Orthopaedica Belgica*, Nordic Orthopaedic Federation, 1999; 65 Suppl 1:5-8.

- [77] S. C. Kaste, E. J. Karimova und M. D. Neel, "Osteonecrosis in children after therapy for malignancy," in AJR American Journal of Roentgenology, American Roentgen Ray Society, 2011; 196(5):1011-8.
- [78] K. Miyanishi, T. Yamamoto, T. Irisa, A. Yamashita, S. Jingushi, Y. Noguchi und Y. Iwamoto, "Bone marrow fat cell enlargement and a rise in intraosseous pressure in steroid-treated rabbits with osteonecrosis," in *Bone*, Elsevier-Verlag, 2002; 30(1):185-90.
- [79] G. Motomura, T. Yamamoto, K. Miyanishi, A. Yamashita, K. Sueishi und Y. Iwamoto, "Bone marrow fat-cell enlargement in early steroid-induced osteonecrosis--a histomorphometric study of autopsy cases," in *Pathology - Research and Practice*, Elsevier-Verlag, 2005; 200(11-12):807-11.
- [80] H. J. Mankin, "Nontraumatic necrosis of bone (osteonecrosis)," in *The New England Journal of Medicine*, Massachusetts Medical Society, 1992; 326(22):1473-9.
- [81] A. Sala, L. A. Mattano Jr und R. D. Barr, "Osteonecrosis in children and adolescents with cancer an adverse effect of systemic therapy," in *European Journal of Cancer*, Elsevier-Verlag, 2007; 43(4):683-9.
- [82] H. Shinmoto, K. Oshio, A. Tanimoto, N. Higuchi, S. Okuda, S. Kuribayashi und R. V. Mulkern, "Biexponential apparent diffusion coefficients in prostate cancer," in *Magnetic Resonance Imaging*, Elsevier-Verlag, 2009; 27(3):355-9.
- [83] R. V. Mulkern, A. S. Barnes, S. J. Haker, Y. P. Hung, F. J. Rybicki, S. E. Maier und C. M. C. Tempany, "Biexponential characterization of prostate tissue water diffusion decay curves over an extended b-factor range," in *Magnetic Resonance Imaging*, Elsevier-Verlag, 2006; 24(5):563-8.
- [84] S. F. Riches, K. Hawtin, E. M. Charles-Edwards und N. M. de Souza, "Diffusion-weighted imaging of the prostate and rectal wall: comparison of biexponential and monoexponential modelled diffusion and associated perfusion coefficients," in NMR Biomedicine, John Wiley & Sons, 2009; 22(3):318-25.
- [85] A. Lemke, F. B. Laun, M. Klauss, T. J. Re, D. Simon, S. Delorme, L. R. Schad und B. Stieltjes, "Differentiation of pancreas carcinoma from healthy pancreatic tissue using multiple bvalues: comparison of apparent diffusion coefficient and intravoxel incoherent motion derived parameters," in *Investigative Radiology*, Wolters Kluwer, 2009; 44(12):769-75.
- [86] I. Yamada, W. Aung, Y. Himeno, T. Nakagawa und H. Shibuya, "Diffusion coefficients in abdominal organs and hepatic lesions: evaluation with intravoxel incoherent motion echoplanar MR imaging," in *Radiology*, Radiological Society of North America, 1999; 210(3):617-23.
- [87] D. M. Koh, E. Scurr, D. J. Collins, A. Pirgon, B. Kanber, N. Karanija, G. Brown, M. O. Leach und J. E. Husband, "Colorectal hepatic metastases: quantitative measurements using single-shot echo-planar diffusion-weighted MR imaging," in *European Radiology*, Springer-Verlag, 2006; 16(9):1898-905.

- [88] A. Luciani, A. Vignaud, M. Cavet, J. T. V. Nhieu, A. Mallat, L. Ruel, A. Laurent, J.-F. Deux, P. Brugieres und A. Rahmouni, "Liver cirrhosis: intravoxel incoherent motion MR imaging--pilot study," in *Radiology*, Radiological Society of North America, 2008; 249(3):891-9.
- [89] U. Eisenberger, H. C. Thoeny, T. Binser, M. Gugger, F. J. Frey, C. Boesch und P. Vermathen, "Evaluation of renal allograft function early after transplantation with diffusion-weighted MR imaging," in *European Radiology*, Springer-Verlag, 2010; 20(6):1374-83.
- [90] H. C. Thoeny, F. De Keyzer, R. H. Oyen und R. R. Peeters, "Diffusion-weighted MR imaging of kidneys in healthy volunteers and patients with parenchymal diseases: initial experience," in *Radiology*, Radiological Society of North America, 2005; 235(3):911-7.
- [91] H. C. Thoeny, D. Zumstein, S. Simon-Zoula, U. Eisenberger, F. De Keyzer, L. Hofmann, P. Vock, C. Boesch, F. J. Frey und P. Vermathen, "Functional evaluation of transplanted kidneys with diffusion-weighted and BOLD MR imaging: initial experience," in *Radiology*, Radiological Society of North America, 2006; 241(3):812-21.
- [92] J. L. Zhang, E. E. Sigmund, H. Chandarna, H. Rusinek, Q. Chen, P.-H. Vivier, B. Taouli und V. S. Lee, "Variability of renal apparent diffusion coefficients: limitations of the monoexponential model for diffusion quantification," in *Radiology*, Radiological Society of North America, 2010; 254(3):783-92.
- [93] C. P. Speer und M. Gahr, Pädiatrie, Springer-Verlag, 3. Auflage, 2009.
- [94] A. L. Rosenbloom, "Die Physiologie des Wachstums," in *Annales Nestlé*, Karger Publishers, 2007; 65:99–110.
- [95] A. W. Root und F. B. Diamond, "Overgrowth Syndromes: Evaluation and Management of the Child with Excessive Linear Growth," in *Pediatric Endocrinology*, Taylor & Francis, 2007; 2:163-194.
- [96] E. Schoenau, "Bone mass increase in puberty: what makes it happen?," in *Hormone Research*, Karger Publishers, 2006; 65 Suppl 2:2-10.
- [97] E. Schoenau, G. Saggese, F. Peter, G. I. Baroncelli, N. J. Shaw, N. J. Crabtree, Z. Zadik, C. M. Neu, C. Noordam, G. Radetti und Z. Hochberg, "From bone biology to bone analysis," in *Hormone Research*, Karger Publishers, 2004; 61(6):257-69.
- [98] M. L. Te Winkel, R. Pieters, E.-J. D. Wind, J. H. J. M. G. Bessems und M. M. van den Heuvel-Eibrink, "Management and treatment of osteonecrosis in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia," in *Haematologica*, Ferrata Storti Foundation (Italy), 2014; 99(3):430-6.
- [99] M. B. Heneghan, S. R. Rheingold, Y. Li, A. E. Seif, Y.-S. Huang, L. McLeod, L. Wells, B. T. Fisher und R. Aplenc, "Treatment of Osteonecrosis in Children and Adolescents With Acute Lymphoblastic Leukemia," in *Clinical Lymphoma Myeloma Leukemia*, Elsevier-Verlag, 2016; 16(4):223-229.

- [100] S. M. Daneshdoost, J. M. El Abiad, K. J. Ruble, L. C. Jones, J. L. Crane, C. D. Morris und A. S. Levin, "Bisphosphonate Therapy for Treating Osteonecrosis in Pediatric Leukemia Patients: A Systematic Review," in *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, Lippincott Williams & Wilkins (LWW), 2021; 43(3):365-370.
- [101] Gardeniers JVM, "A new international classification of osteonecrosis of the "ARCO committee on terminology and classification"," in ARCO news, 1992; 4:41-46.
- [102] B.-H. Yoon, M. A. Mont, K.-H. Koo, C.-H. Chen, E. Y. Cheng, Q. Cui, W. Drescher, V. Gangji, S. B. Goodman, Y.-C. Ha, P. Hernigou, M. W. Hungerford, R. Iorio, W.-L. Jo, L. C. Jones, V. Khanduja, H. K. W. Kim, S.-Y. Kim, T.-Y. Kim, Lee Mel S, M. S. Lee, Y.-K. Lee, Y. J. Lee, J. Nakamura, J. Parvizi, T. Sakai, N. Sugano, M. Takao, T. Yamamoto und D.-W. Zhao, "The 2019 Revised Version of Association Research Circulation Osseous Staging System of Osteonecrosis of the Femoral Head," in *Journal of Arthroplasty*, Elsevier-Verlag, 2020; 35(4):933-940.
- [103] T. Niinimäki, J. Niinimäki, J. Halonen, P. Hänninen, A. Harila-Saari und R. Niinimäki, "The classification of osteonecrosis in patients with cancer: validation of a new radiological classification system," in *Clinical Radiology*, Elsevier-Verlag, 2015; 70(12):1439-44.