

Aus dem Institut für diagnostische Radiologie und Neuroradiologie  
(Direktor Prof. Dr. N. Hosten)  
der Universitätsmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

# Quantitative MR-Bildgebung des Neuroblastoms

Inaugural – Dissertation  
zur  
Erlangung des akademischen  
Grades  
Doktor der Medizin  
(Dr. med.)  
der  
Universitätsmedizin  
der  
Ernst-Moritz-Arndt-Universität  
Greifswald  
2023

vorgelegt von:  
Abele, Niklas:  
geb. am: 22.10.1991  
in: Ostfildern

Dekan: Prof. Dr. med. Karlhans Endlich

1. Gutachter/in: Prof. Dr. Norbert Hosten (Betreuer)

2. Gutachter/in: Prof. Dr. Frank Wacker (Hannover)

Ort, Raum: Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin Greifswald | F.-Sauerbruchstr.  
Seminarraum 1, P01.37

Tag der Disputation: 14.11.2023, 16:30 Uhr

# Inhaltsverzeichnis

Einleitung .....	3
Material und Methoden .....	7
Ergebnisse .....	12
Diskussion.....	26
Zusammenfassung.....	30
Anhang .....	33
Literaturverzeichnis .....	35
Englischsprachige Originalarbeit .....	37
Eidesstattliche Erklärung.....	56

# Einleitung

<sup>1</sup>Das Neuroblastom, ein embryonaler vom sympathischen Nervensystem ausgehender Tumor, ist der häufigste extrakranielle, maligne, solide, kindliche Tumor.<sup>2</sup> In Deutschland betrug die Inzidenz in den Jahren von 1980 bis 2015 im Median 1,3 Fälle pro 100.000 Kindern und Jahr.<sup>2</sup> Dabei wird dem Neuroblastom eine hohe Variabilität in Manifestationsort und Prognose zugesprochen. In etwa 37 % der Fälle ist das Tumorleiden bei der Erstdiagnose bereits in einem fortgeschrittenen Stadium mit eingeschränkter Resektabilität oder metastatischer Ausbreitung. Die 10-Jahres-Überlebensrate betrug in einer Kohorte aus dem Jahr 2004 insgesamt 72 %.<sup>2</sup>

Primärmanifestationen werden überwiegend bei Kindern, die jünger sind als sechs Jahre, entdeckt und sind vorwiegend in den Nebennieren und dem Grenzstrang bzw. den Paraganglien lokalisiert.<sup>3</sup>

Zu den laborchemisch messbaren Tumormarkern zählen erhöhte Blutwerte für neuronenspezifische Enolase, Lactatdehydrogenase und ein vermehrter Nachweis von Katecholaminabbauprodukten im Urin, welche zur Differenzialdiagnostik bei Erstdiagnose von großer Bedeutung sind.<sup>3</sup>

Die histopathologische Untersuchung mittels offener Biopsie bietet zur Diagnosesicherung die höchste Sicherheit und gilt als Verfahren der Wahl.<sup>3,4</sup> Histologisch stellt sich der Tumor überwiegend solide und aufgebaut aus dicht gepackten, rundzelligen, basophilen Zellen dar, wobei mehrere Subtypen erkannt und nach den Kriterien der International Neuroblastoma Pathology Classification eingeteilt werden können.<sup>3-5</sup> Unter anderem korreliert dabei ein geringerer Stromaanteil mit einem aggressiveren Krankheitsverlauf.<sup>4,5</sup>

Im Rahmen der Gewebsuntersuchung erfolgt meist auch eine Analyse auf N-Myc-Amplifikation und mögliche Chromosomenabberationen.<sup>6</sup> Dabei wird insbesondere Tumoren mit N-Myc-Amplifikation eine schlechtere Prognose zugesprochen.<sup>7-10</sup>

Im initialen Tumorstaging des Neuroblastoms ist eine Ganzkörper- bzw. eine Magnetresonanztomographie der betroffenen Körperregionen vorgesehen.

Essentieller Bestandteil der MRT-Staging-Untersuchung sollte unter anderem die Stadieneinteilung nach INSS (International Neuroblastoma Staging System) und Risikostratifizierung nach INRGSS (International Neuroblastoma Risk Group Staging System) sein.<sup>11-13</sup> Nach INRGSS erfasste imaging-defined risk factors (IDRFs) sind

wegweisend in der anschließenden Therapieentscheidungsfindung. Sie geben Auskunft über Tumorausdehnung und -resektabilität und werden vor Therapiebeginn erhoben. IDRFs sind seit 2009 weltweit in Anwendung. Das Stadium nach INSS berücksichtigt auch klinische und pathologische Eigenschaften und ist seit 1988 (modifiziert 1993) im Gebrauch. INSS-Stadien sind nach wie vor zur Prognosevorhersage am weitesten verbreitet, wobei sie fortlaufend um weitere Faktoren zu diesem Zweck ergänzt werden.<sup>11</sup>

Weitere diagnostische Standards bzw. ergänzende Untersuchungen umfassen Ultraschalluntersuchungen, Röntgenuntersuchungen inkl. Computertomographien, Tc<sup>99m</sup>-Szintigraphie, <sup>123</sup>I- und <sup>131</sup>I-MIBG sowie <sup>18</sup>F-Flurdeoxyglukose-PET/CT. Die nuklearmedizinischen Verfahren bieten dabei teilweise Vorteile gegenüber MRT-Untersuchungen in der Beurteilung und Abgrenzung von aktiven Läsionen zu behandelten, regressiven Läsionen.<sup>14</sup>

Sofern nötige Einschlusskriterien erfüllt sind bzw. keine Ausschlusskriterien vorliegen und die Möglichkeit hierzu besteht, erfolgt die Behandlung von Neuroblastomerkrankungen üblicherweise im Rahmen von Studien und anhand der jeweiligen Studienprotokolle. Das Therapieregime umfasst dabei je nach Stadium und IDRFs zumeist eine Tumorsektion, zum Teil auch nach neoadjuvanter Therapie. Dabei wird eine Resektion in toto angestrebt, welche allerdings nicht zwingend erforderlich ist und nicht forciert wird. Insbesondere bei unvollständiger Resektion folgt eine weitere adjuvante Therapie. Bei fehlender Resektabilität können nichtchirurgische Therapieformen primär und mit kurativem Ansatz zum Einsatz kommen.<sup>15</sup> Neben Chemotherapie (inkl. Hochdosistherapiezyklen mit autologer Stammzelltransplantation) und Radiotherapie kommen nuklearmedizinische Verfahren (<sup>131</sup>I-mIBG-Therapie) sowie immunologische wirksame Therapieansätze mittels Antikörpergabe zur Anwendung.<sup>3,16,17</sup>

Auch wenn bisher noch kein einheitliches und standardisiertes MRT-Protokoll für Ganzkörper-MRT bei kindlichen Tumorerkrankungen etabliert ist, werden in der Regel T2-gewichtete (T2w) sowie T2w fettgesättigte (fat saturated, T2w fs) Aufnahmen (z.B. STIR) sowie T1-gewichtete (T1w) Aufnahmen vor und nach Administration eines gadoliniumhaltigen Kontrastmittels akquiriert. Zusätzlich kommen diffusionsgewichtete Sequenzen im klinischen Setting zunehmend zur Anwendung.<sup>18</sup>

Diffusion weighted imaging (DWI) erlaubt die Visualisierung funktioneller Gewebeeigenschaften. Dabei gibt die DWI Auskunft über die Diffusion von Wasser im Gewebe in vivo.<sup>19,20</sup>

Diffusionsgewichtete Aufnahmen erlaube eine qualitative Beurteilung der Diffusion. Dabei imponieren Diffusionsstörungen hyperintens. Werden in einer diffusionsgewichteten Sequenz Aufnahmen mit mindestens zwei b-Werten pro Schicht aufgenommen, so kann aus diesen Bilddaten dann der sog. ADC-Wert (apparent diffusion coefficient, scheinbarer Diffusionskoeffizient) in Form einer Parameterkarte berechnet werden. Mit Hilfe dieses ADC-Wertes ist es möglich, die Diffusion auch quantitativ zu beurteilen. Der ADC-Wert wird dabei in  $\text{mm}^2/\text{s}$  angegeben. In den berechneten ADC-Parameterkarten imponieren erleichterte Diffusionen, z.B. im Rahmen eines Ödems bei Entzündung, als erhöhter ADC-Wert und damit hell, eingeschränkte Diffusionen mit erniedrigtem ADC-Wert, z.B. bei zellreichen Tumoren oder bei einem Schlaganfall, als dunkel.<sup>21</sup>

Diagnostisch wurde die diffusionsgewichtete Bildgebung ursprünglich vorwiegend zur Schlaganfalldiagnostik eingesetzt. Allerdings konnte auch ein Zusammenhang zwischen Diffusion bzw. ADC-Wert und histologischen Eigenschaften von Geweben, wie z.B. Zelldichte von Tumoren, gezeigt werden.<sup>22</sup> So wurde mehrfach die Bedeutung dieser Technik in der Tumordiagnostik untersucht. Hier konnte gezeigt werden, dass bspw. Karzinome des HNO-Bereichs oder Tumoren der Mamma unter Zuhilfenahme diffusionsgewichteter Bildgebung akkurater klassifiziert und bewertet werden können.<sup>23-25</sup> Hervorzuheben ist dabei die positive Korrelation zwischen Tumor-Stromaanteil und ADC-Wert und die negative Korrelation zwischen Tumorzellularität und ADC-Wert.<sup>23</sup>

Auch im Monitoring von Therapieansprechen maligner Läsionen kommt DWI zu tragen: U.a. wurde ein deutlicher Anstieg des ADC-Werts bei Ansprechen von hepatozellulären Karzinomen auf Chemotherapie als Ausdruck der veränderten Ultrastruktur gezeigt. Die Veränderungen des ADC-Werts waren bereits messbar, bevor eine Größenreduktion des Tumors beobachtet werden konnte. Übliche Kriterien zur Bestimmung von Therapieansprechen können also durch die Betrachtung von ADC-Werten ergänzt werden, um so möglicherweise eine frühzeitigere Aussage bezüglich des Therapieansprechens zu treffen.<sup>26</sup>

Betrachtet man bisherige Erkenntnisse zur Bedeutung der DWI bei Neuroblastomen, zeigt sich ein zwar weniger gut untersuchtes, aber doch vergleichbares Bild. So konnte

Demir et al. bereits 2014 zeigen, dass der ADC-Wert von elf untersuchten Neuroblastomen unter Chemotherapie bei Therapieansprechen signifikant anstieg.<sup>27</sup> Allerdings konnte keine Aussage über eine frühzeitige, noch vor Beendigung der etwa fünfmonatigen Therapie messbare, Änderung des ADC-Werts bei Therapieansprechen getroffen werden.<sup>28</sup> Neubauer et al. zeigten 2017 unter Berücksichtigung ähnlicher vorhergegangener Studien, dass sich der ADC-Wert von Neuroblastomen von den ADC-Werten der differentialdiagnostisch in Frage kommenden neuroblastären Tumoren mit niedrigerer Malignität im Kindesalter unterscheidet. Die DWI kann also eine große Hilfe in der Diagnostik derartiger Läsionen sein.<sup>29</sup>

Die vorliegende Arbeit beantwortet die Fragestellungen:

1. Kommt es bei Neuroblastomen unter einer Therapie zu einer (frühzeitigen) Veränderung der ADC-Werte als Ausdruck der therapie-assoziierten Veränderungen der Ultrastruktur des Tumors?
2. Falls es zu einer Veränderung des ADC-Wertes der Tumoren kommt, ist dies abhängig von der Therapieform?
3. Können therapie-assoziierte Veränderungen des ADC-Wertes bei Patienten mit einem Neuroblastom als prognostischer Marker dienen?

# Material und Methoden

Im Rahmen der Studie wurden alle hausinternen und externen MRT-Untersuchungen von Patienten mit Neuroblastomerkrankung der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Greifswald (Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Lode) aus dem Zeitraum von 06.2007 bis 08.2014 retrospektiv ausgewertet. Das Kollektiv wurde hierzu dem Register der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin entnommen.

Einschlusskriterien waren:

1. Das Vorliegen einer histologisch gesicherten Neuroblastomerkrankung mit mindestens einer soliden Manifestation und mindestens zwei MRT-Untersuchungen im genannten Zeitraum, sodass die zu untersuchenden Tumormanifestationen jeweils mindestens zweimalig zur Darstellung kamen.
2. Sofern eine MIBG-Szintigraphie vorliegt, Tracer-Aufnahme der in der MRT abgrenzbaren Tumormanifestation in der MIBG-Szintigraphie (MIBG).
3. Die verfügbaren MRT-Daten umfassten T1w Sequenzen vor und nach Kontrastmittelgabe, T2w Sequenzen sowie DWI-Aufnahmen.

Klinische Parameter wurden aus den Protokollen der interdisziplinären Tumorkonferenzen und auch aus den externen Arztbriefen bzw. den Briefen der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Greifswald (Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Lode) entnommen.

Jeder Patient wurde in die Risikogruppen nach INRG eingeteilt: Das Stadium nach INSS wurde auch hier, sofern hier entsprechende Informationen vorlagen, aus den Protokollen der Tumorboards bzw. den Arztbriefen entnommen. Bei fehlenden Angaben (4 Fällen) wurde die Einteilung posthoc für die Studie durch einen radiologischen Facharzt (>10 Jahre Berufserfahrung) definiert. Die IDRFs wurden ebenfalls den Protokollen der Tumorboards, den Arztbriefen aber auch den radiologischen Befunden entnommen. Sofern keine ausreichenden Informationen bezüglich IDRFs vorlagen, wurden keine IDRFs angegeben. Das INRG-Stadium wurde, wenn möglich, den Protokollen der Tumorboards oder den Arztbriefen direkt entnommen. Andernfalls wurde es posthoc anhand der IDRFs bestimmt. Sofern weder INRG-Stadium noch IDRFs bekannt waren, wurde das INRG-Stadium nach INRG Cohn et al.<sup>12</sup> aus dem INSS-Stadium bestimmt. Zuletzt erfolgte eine Einteilung in Risk-

Groups (high, intermediate, low, und very low) nach INRG Cohn et al. Bei unzureichender Informationslage wurde bei fehlenden Faktoren der Wert notiert, der bei der Einteilung in Risikogruppen eine höhere Klassifizierung zur Folge hat. Außerdem wurden die durchgeführten Therapieformen detailliert erfasst. Ferner wurde, wenn verfügbar, auch der molekulargenetische N-Myc-Status (basic helix-loop-helix protein 37) erhoben.

Anhand der so erhobenen Daten wurden die MRT-Untersuchungen in folgende Zeitpunkte eingeteilt:

Prestaging = Untersuchung vor Start der jeweiligen Therapieform

Zwischenstaging = Untersuchung während laufender Therapie

Abschlussstaging = Untersuchung nach Abschluss der jeweiligen Therapieform

Follow-Up = Folgeuntersuchung nach Abschlussstaging ohne Therapiebezug

Sonstige = Untersuchung ohne bekannten Untersuchungsanlass

Zur Bewertung des Krankheitsverlaufs wurde eine Einteilung in „*progressive disease*“ (PD) und „*stable disease*“ (StD) bzw. „*partial response*“ (PR) und „*complete response*“ (CR) nach INRC anhand der jeweiligen Abschlussstagings vorgenommen, wobei die Kategorien CR und PR zusammengefasst wurden (Regress).<sup>30,31</sup> Die Kategorisierung erfolgte anhand der Tumorausdehnung bzw. dem Fehlen und Auftreten möglicher Neumanifestationen in der MRT und wurde zusätzlich mit der schriftlichen Beurteilung der jeweiligen Untersuchung abgeglichen, sofern dieser verfügbar war. Als Ausgangswert (baseline, BL) und Bezugspunkt diente dabei immer das jeweilige MRT des Prestaging bzw. bei Therapien, welche direkt im Anschluss an vorherige Therapien erfolgten, das zugehörige, vorhergegangene Staging.

Sollte keine abschließende Staginguntersuchung vorliegen, welche die genannten Einschlusskriterien erfüllte, wurden allein zum Zweck der Beurteilung des Krankheitsverlaufs jegliche Befunde durchgeführter bildgebender Untersuchungen herangezogen.

In den follow-up Untersuchungen wurde eine gleichartige Einteilung vorgenommen, wobei der Bezugspunkt hier die jeweils vorhergegangene Untersuchung war.

Bei Dissens zwischen radiologischem bzw. nuklearmedizinischem Befund und klinischer Einschätzung wurde zur Beurteilung des Therapieansprechens der Konsens-Beschluss der interdisziplinären Tumorkonferenzen herangezogen.

Da die MRT-Untersuchungen sowohl hausintern als auch extern durchgeführt wurden, variierten die verwendeten Untersuchungsprotokolle und Sequenzparameter dementsprechend. Alle Untersuchungen wurden jedoch bei 1.5 T unter Verwendung einer Oberflächenspule zur Signaldetektion durchgeführt.

Bei allen eingeschlossenen Patienten lagen diffusionsgewichtete Aufnahmen mit den Diffusionsfaktoren  $b=0/800$  s/mm<sup>2</sup> vor. Sofern die berechnete ADC-Parameterkarte nicht vorlag, wurde diese mittels ADC Plug-In (<https://github.com/mribri999/ADCmap>) in Osirix (Vers. 3.4.1, Pixmeo SARL, Bernex GE Schweiz) berechnet.

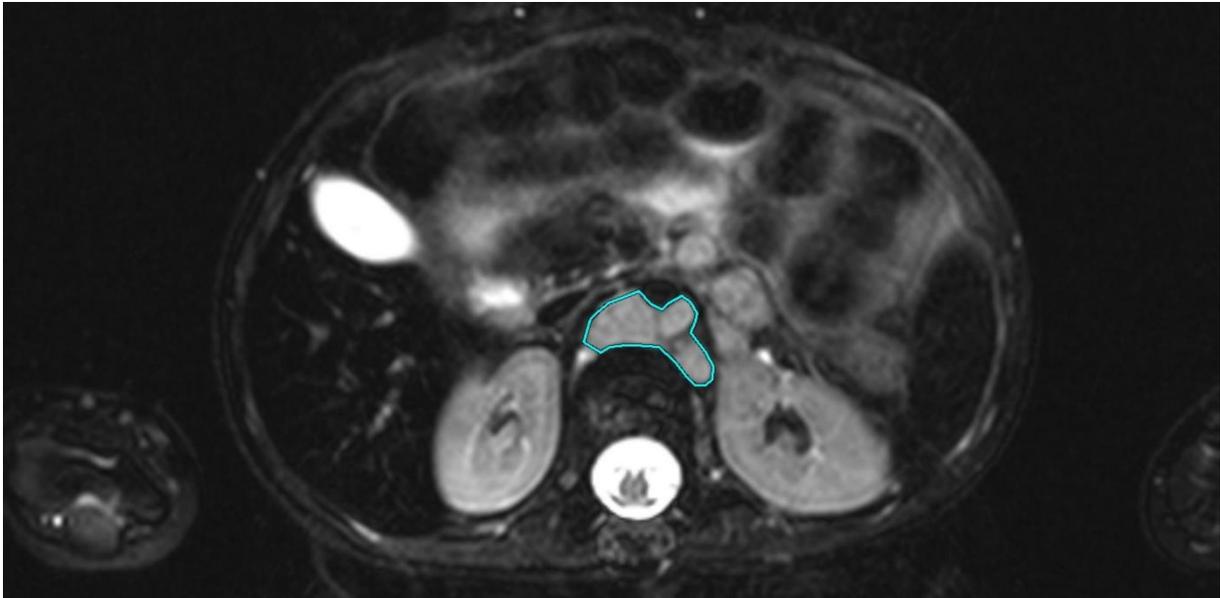
Die gesammelten Bilddaten des Patientenkollektivs wurden zur weiteren Auswertung auf eine Osirix-Workstation (Vers. 3.4.1, Pixmeo SARL, Bernex GE Schweiz) übertragen.

Zur Bestimmung der ADC-Werte wurde zunächst mittels der Funktion „closed polygon“ in den axialen Schnittbildern eine Region of Interest (ROI) entlang der Grenzen der Tumormanifestation eingezeichnet. Die Tumormanifestation wurde dabei entsprechend des jeweiligen radiologischen Befundes oder des Tumorbordprotokolles identifiziert. Lagen mehrere Tumormanifestationen vor, so wurde für jedes Organ die größte solide Manifestation ausgewählt. Ein analoges Vorgehen wurde für Lymphknotenmanifestationen gewählt. Für die Definition der ROI wurde die anatomische Sequenz gewählt, in der der Tumor am besten abgrenzbar war. Die Auswahl oblag dabei dem Auswerter.

Anschließend wurde die ADC-Parameterkarte mit dem Bild der gewählten anatomischen Sequenz mittels Fusions-Werkzeugs von Osirix (Vers. 3.4.1, Pixmeo SARL, Bernex GE Schweiz) fusioniert und so die ROI auf die ADC-Parameterkarte kopiert. Dabei wurde auf die anatomische Kongruenz beider Sequenzen geachtet. Bei fehlender Übereinstimmung wurde eine entsprechende manuelle Korrektur der ROI vorgenommen.

Zusätzlich wurde das Tumolvolumen für jede betrachtete Tumormanifestation bestimmt. Hierfür wurde in der axialen Sequenz mit der besten Sichtbarkeit der jeweiligen Tumormanifestation der Tumor händisch mit dem Zeichenwerkzeug „closed

polygon“ in OsiriX segmentiert und anschließend über die Funktion „compute volume“ das Volumen semiautomatisch berechnet.



**Abbildung 1:** Axiale T1-gewichtete Aufnahme einer 2 Jahre alten, an einem Neuroblastom im Stadium IV erkrankten Patientin. Der Tumor paraaortal gelegen, Region of Interest (ROI) in türkis mittels „closed polygon“ eingezeichnet.

Kontinuierliche Variablen werden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. Zur weiteren Auswertung wurden aus den ermittelten ADC-Werten und den errechneten Differenzen drei Kategorien entsprechend des Krankheitsverlaufs gebildet:

$\Delta ADC$ -Regress – Differenz des mittels ROI-Analyse ermittelten ADC-Werts der untersuchten Manifestation zum zugehörigen ADC-Wert des entsprechenden Bezugspunkts bei Regress.

$\Delta ADC$ -Stable – Differenz des mittels ROI-Analyse ermittelten ADC-Werts der untersuchten Manifestation zum zugehörigen ADC-Wert des entsprechenden Bezugspunkts bei stable disease.

$\Delta ADC$ -Progress – Differenz des mittels ROI-Analyse ermittelten ADC-Werts der untersuchten Manifestation zum zugehörigen ADC-Wert des entsprechenden Bezugspunkts bei Progress.

Außerdem wurden unter diesen  $\Delta ADC$ -Werten solche zusätzlich ausgewählt, deren Errechnung eine Untersuchung unter Therapie nutzte und diese Untersuchung mindestens 60 und maximal 120 Tage von der BL der jeweiligen Therapie entfernt stattfand. (Jetzt *er $\Delta ADC$ -Regress*, *er $\Delta ADC$ -Stable*, *er $\Delta ADC$ -Progress*.)

Diese Werte wurden auch unter Berücksichtigung der klinischen Parameter (n-Myc, Alter, Geschlecht, Therapietyp, Stadium, Tumorgröße, Tumorlokalisierung, Primär-/Sekundär-/Lymphknotenmetastase/Rezidiv) sowie der absoluten ADC-Werte miteinander verglichen.

Zur Veranschaulichung wurden die Ergebnisse mittels Box-Plots, Histogrammen und ROCs dargestellt.

Unterschiede wurden mittels Mann-Whitney-Test auf Signifikanz getestet. A priori wurde ein Signifikanzniveau  $p < 0.05$  festgelegt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel (Vers. 1808, Microsoft Office Professional 2019, Redmond USA WA) und SPSS Statistics (Vers. 24, SPSS IBM, Armonk USA NY).

Für die Studie lag ein positives Votum der zuständigen Ethikkommission Greifswald vor. Aufgrund des retrospektiven Charakters der Studie konnte auf eine schriftliche Einverständniserklärung verzichtet werden.

# Ergebnisse

Das Neuroblastomregister der Klinik für Kinder und Jugendmedizin der Universitätsmedizin Greifswald umfasste zum Studienzeitpunkt 113 Patienten. Bei 15 Patienten lag keine Bildgebung vor. Von den 98 Patienten mit vorhandener Bildgebung mussten 45 Patienten ausgeschlossen werden, da keine diffusionsgewichteten Aufnahmen vorlagen. Von den verbleibenden 53 Patienten mussten weitere 13 ausgeschlossen werden, weil diffusionsgewichtete Aufnahmen nur von einem Studienzeitpunkt vorlagen. Weitere 6 Patienten mussten ausgeschlossen werden, weil die tumorverdächtigen Läsionen aufgrund ihrer Größe in den diffusionsgewichteten Aufnahmen nicht sicher auswertbar waren oder weil die Läsionen in der MIBG-Szintigraphie negativ waren, so dass für die finale Analyse noch 34 Patienten zur Verfügung standen (vgl. Abb. 2).



**Abbildung 2:** Flussdiagramm zur Veranschaulichung des Patientenkollektivs und der ausgeschlossenen Patienten.

Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt der jeweils initialen Untersuchung betrug  $6,8 \pm 5,8$  Jahre. Der jüngste Patient war zum Zeitpunkt der ersten Bildgebung 12 Monate, der älteste Patient 26 Jahre alt.

Bei 27 Patienten lag eine Neuroblastomerkrankung im Stadium IV nach INSS vor und in 7 Fällen eine Neuroblastomerkrankung im Stadium III nach INSS.

Bei 22 Patienten lagen zwei oder mehr IDRFs vor, bei 4 fanden sich  $\leq 1$  IDRF. In 8 Fällen gab es hierzu keine Angaben. Bei 11 Tumorerkrankungen lag eine positive N-

<b>Gesamt</b>	<b>34</b>
<b>INSS-Stadium</b>	
III	7
IV	27
<b>IRDFs</b>	
$\leq 1$	4
$\geq 2$	22
<b>INRG-Stadium</b>	
intermediate-risk	8
high-risk	26
<b>N-MYC</b>	
Wildtyp	17
mutiert	11
o.A.	6

MYC-Expression vor, 17 Patienten wurden auf N-MYC negativ getestet und in 6 Fällen gab es hierzu keine Angaben.

26 Patienten wurden der high-risk-Gruppe nach INRG zugeordnet und 8 Patienten der intermediate-risk-Gruppe. Kein Patient fiel in die low-risk- oder very-low-risk-Gruppe (vgl. Tab. 1).

**Tabelle 1:** Verteilung der Patienten nach INSS, IRDFs und INRG sowie N-MYC-Status.

Bei den 34 eingeschlossenen Patienten konnten insgesamt 40 Tumormanifestationen ausgewertet werden. Dabei handelte es sich in 10 Fällen um Primärtumoren und in 13 Fällen um ein Lokalrezidiv. In drei Fällen handelt es sich bei der Tumormanifestation um Lymphknotenmetastasen und in 14 Fällen um Fernmetastasen.

Das mittlere Volumen der Tumormanifestationen bei ihrem jeweiligen ersten Untersuchungszeitpunkt betrug  $35,51 \text{ cm}^3 \pm 74,05 \text{ cm}^3$  (Range:  $0,67 \text{ cm}^3 - 321,27 \text{ cm}^3$ ).

Von den 34 in die Studie eingeschlossenen Patienten mit 40 beurteilbaren Tumormanifestationen lagen insgesamt 121 auswertbare MRT-Untersuchungen vor. Dabei kamen 14 Tumormanifestationen nur in 2 Untersuchungen zur Darstellung und konnten ausgewertet werden. 14 Tumoren kamen in je genau 3 Untersuchungen auswertbar zur Darstellung. 2 Manifestationen kamen gemeinsam in 13 MRT-Untersuchungen zur Darstellung, was dem Maximum an auswertbaren Untersuchungen eines Patienten entspricht. Die übrigen 25 Untersuchungen verteilten sich auf Patienten mit 4 bis 6 Untersuchungen. Jede Tumormanifestation kam im Durchschnitt 3,55-mal ( $\pm 2,40$ ) zur Darstellung. Durchschnittlich wurden  $1,16 \pm 0,43$  Tumormanifestationen pro MRT-Untersuchung ausgewertet. Dies ergibt sich daraus, dass in 3 MRT-Untersuchungen eines Patienten jeweils drei distinkte Läsionen ausgewertet wurden und in 13 MRT-Untersuchungen eines anderen Patienten jeweils zwei Läsionen ausgewertet wurden. Bei insgesamt drei weiteren Patienten lagen zwar auch zwei separate, distinkte Tumormanifestationen vor und wurden auch einzeln ausgewertet, jedoch kamen hier die beiden Läsionen nie in derselben MRT zur Darstellung.

Insgesamt konnten daher von den 40 Tumormanifestationen 142 ADC-Werte analysiert werden. (Pro Patient also durchschnittlich  $4,18 \text{ ADC-Werte} \pm 4,15$ ; Range: 2 - 26.) 31 Messungen waren aus Pre-staging-Untersuchungen, 34 aus Abschlussstaging-Untersuchungen; 29 aus Zwischenstaging-Untersuchungen; 41 aus Follow-Up-Untersuchungen und 7 aus nicht näher bezeichneten Untersuchungsanlässen.

Der mittlere ADC-Wert von Tumoren ungeachtet des Manifestationsortes von INSS-Stadium-4-Patienten ( $n = 27$ ) betrug  $147,71 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 60,95 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  [min.  $48,84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383,33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ] und der mittlere ADC-Wert von Tumoren von INSS-Stadium-3-Patienten ( $n = 7$ )  $147,68 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 47,58 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  [min.

76,88 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s; max. 295,93 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s]. Der Unterschied ist nicht signifikant (p = 0,6).

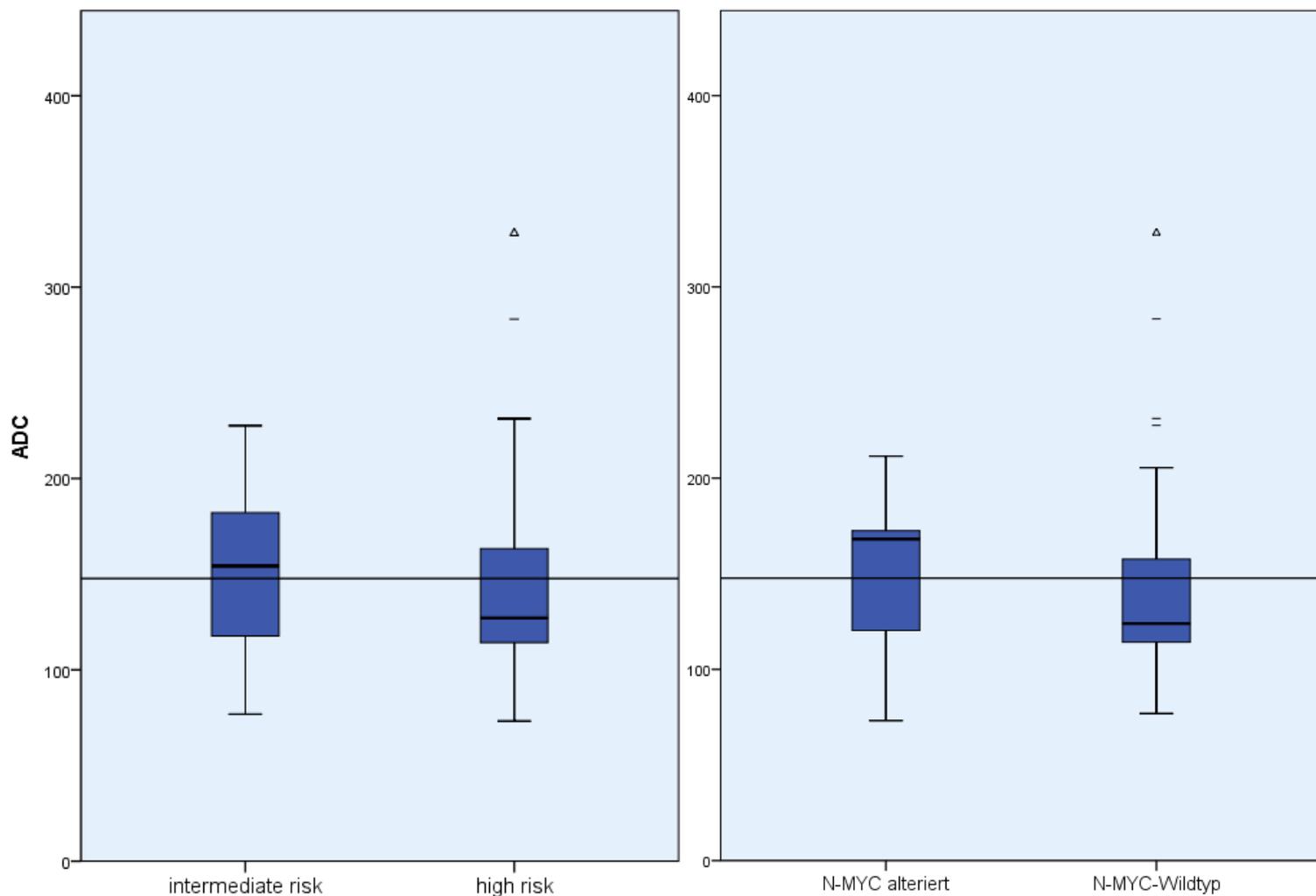
Der mittlere ADC-Wert N-MYC-positiver Tumoren (n = 11) betrug unabhängig vom Manifestationsort und dem INSS-Stadium 138,94 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s ± 57,37 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s [min. 55,54 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s; max. 279,68 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s], der von N-MYC-negativen Tumoren (n = 17) 151,91 mm<sup>2</sup>/s x 10<sup>-7</sup> ± 61,73 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s [min. 48,84 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s; max. 383,33 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s] (vgl. Abb. 2). Auch hier war der Unterschied nicht signifikant (p = 0,2).

Der mittlere ADC-Wert aller Messungen von Tumoren von high-risk-Patienten nach INRG (n = 26) betrug 141,43 mm<sup>2</sup>/s x 10<sup>-7</sup> ± 59,27 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s [min. 48,84 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s; max. 383,33 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s] und der von Tumoren von intermediate-risk-Patienten nach INRG (n = 8) 169,26 mm<sup>2</sup>/s x 10<sup>-7</sup> ± 50,86 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s [min. 76,88 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s; max. 295,93 x 10<sup>-7</sup> mm<sup>2</sup>/s] (vgl. Abb. 2). Dieser Unterschied war signifikant (p = 0,02) (vgl. Abb. 3).

Die Mittelwerte wurden übersichtlich in Tabelle 2 gelistet.

Parametergruppen	n	ØADC ± SD [10 <sup>-7</sup> mm <sup>2</sup> /s]	min.   max. [10 <sup>-7</sup> mm <sup>2</sup> /s]	p
<u>INSS-Stadium</u>				
4	27	<b>147,71</b> ± 60,95	48,84   383,33	0,6
3	7	<b>147,68</b> ± 47,58	76,88   295,93	
<u>N-MYC</u>				
positiv	11	<b>138,94</b> ± 57,37	55,54   279,68	0,2
negativ	17	<b>151,91</b> ± 61,73	48,84   383,33	
<u>INRG-Risk-Group</u>				
high-risk	26	<b>141,43</b> ± 59,27	48,84   383,33	0,02
intermediate-risk	8	<b>169,26</b> ± 50,86	76,88   295,93	

**Tabelle 2:** Mittlere ADC-Werte ± Standardabweichung [min. | max.] aller Tumormanifestationen in Abhängigkeit von den klinischen Parametern und zugehörigen Gruppierungen bzw. dem molekularen Status. Innerhalb der jeweiligen Parametergruppen zeigte sich lediglich ein signifikanter Unterschied der nach INRG-Risk-Group stratifizierten ADC-Mittelwerte aus der high-risk gegenüber der intermediate-risk Gruppe (p = 0,02).



**Abbildung 3:** Boxplot-Darstellung der ADC-Werte der Tumormanifestation unterteilt nach INRG-Risikogruppen (links) und N-MYC-Status (rechts) mit eingezeichnetem Mittelwert aller Messungen als Referenz (Ausreißer, min./max. in Whisker bzw. einzeln). Während die ADC-Werte in Abhängigkeit vom N-MYC-Status sich nicht signifikant unterschieden ( $p = 0,2$ ), war der Unterschied der ADC-Werte für die INRG-Risikogruppen unabhängig von der Lokalisation des Tumors statistisch signifikant ( $p = 0,02$ ).

Für 70 Messwerten lag eine Aussage zum Krankheitsverlauf vor und es konnte ein entsprechender Bezugspunkt (BL) zur Errechnung von  $\Delta ADC$ -Werten festgelegt werden.

Von diesen wurden 24 Messwerte während oder am Ende einer durchgeführten AK-Therapie, 17 während oder am Ende einer durchgeführten Chemotherapie, 1 während oder am Ende einer durchgeführten Radiochemotherapie, 2 während oder am Ende einer durchgeführten MiBG-Therapie, 2 nach Durchführung einer autologen

Stammzellentransplantation und 25 im Rahmen von Follow-Up-Untersuchungen nach Therapieabschluss erhoben.

Von den insgesamt 70  $\Delta ADC$ -Werten waren 5  $\Delta ADC$ -Regress, 50  $\Delta ADC$ -Stable und 15  $\Delta ADC$ -Progress waren insgesamt 22  $er\Delta ADC$ -Werte: Dabei 4  $er\Delta ADC$ -Regress, 11  $er\Delta ADC$ -Stable, 7  $er\Delta ADC$ -Progress. (Wobei hier durchschnittlich  $88,36 \text{ d} \pm 13,40 \text{ d}$  zwischen Bezugspunkt und betrachteter Untersuchung lagen.)

Die mittlere Differenz des in der ersten Untersuchung erhobenen ADC-Werts gegenüber des ADC-Werts der letzten Untersuchung aller Tumormanifestation war  $11,78 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 63,08 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ , was einem mittleren Anstieg von  $20,43 \% \pm 62,42 \%$  entspricht.

Die mittlere Differenz aller ADC-Werte, die, wie oben beschrieben, mit einer BL verglichen werden konnten ( $n = 70$ ), betrug gegenüber der BL im Mittel  $\Delta ADC$ -Gesamt =  $3,36 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 40,55 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ . Dies entspricht einem mittleren Anstieg von  $3,86 \% \pm 24,75 \%$ .

Der Mittelwert der  $\Delta ADC$ -Werte mit Regress ( $n = 5$ ) betrug im Mittel  $\Delta ADC$ -Regress =  $48,45 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 40,64 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ . Dies entspricht einem mittleren Anstieg von  $31,34 \% \pm 22,45 \%$ .

Der Mittelwert der  $\Delta ADC$ -Werte mit stable disease ( $n = 50$ ) betrug im Mittel  $\Delta ADC$ -Stable =  $8,65 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 26,70 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ . Dies entspricht einem mittleren Anstieg von  $7,36 \% \pm 20,62 \%$ .

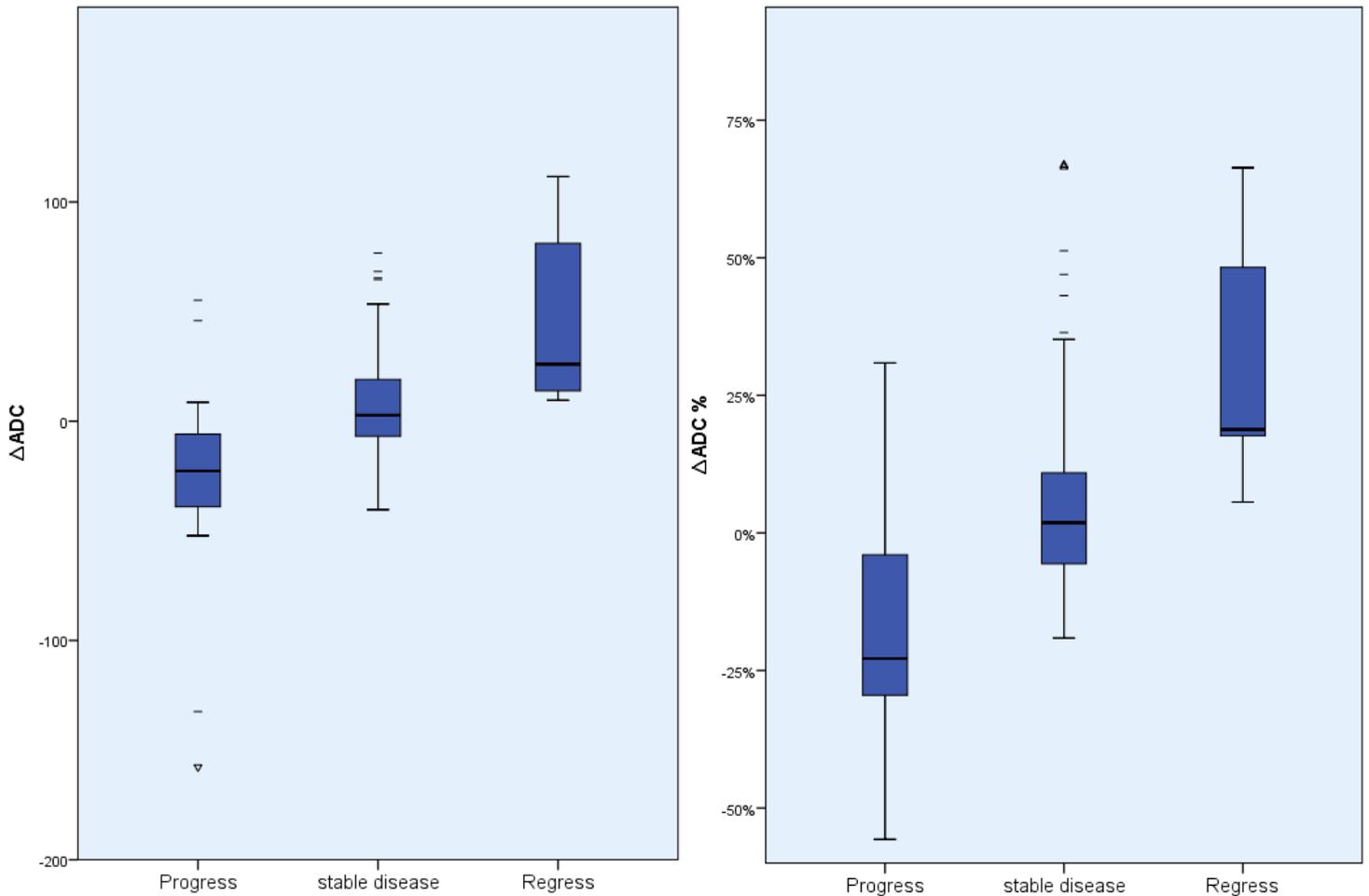
Der Mittelwert der  $\Delta ADC$ -Werte mit Progress ( $n = 15$ ) betrug im Mittel  $\Delta ADC$ -Progress =  $-29,31 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 53,92 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ . Dies entspricht einem mittleren Abfall von  $16,96 \% \pm 23,36 \%$ .

Die Mittelwerte der  $\Delta ADC$ -Werte in ihrer Gesamtheit und nach Krankheitsverlauf wurden in Tabelle 3 gelistet.

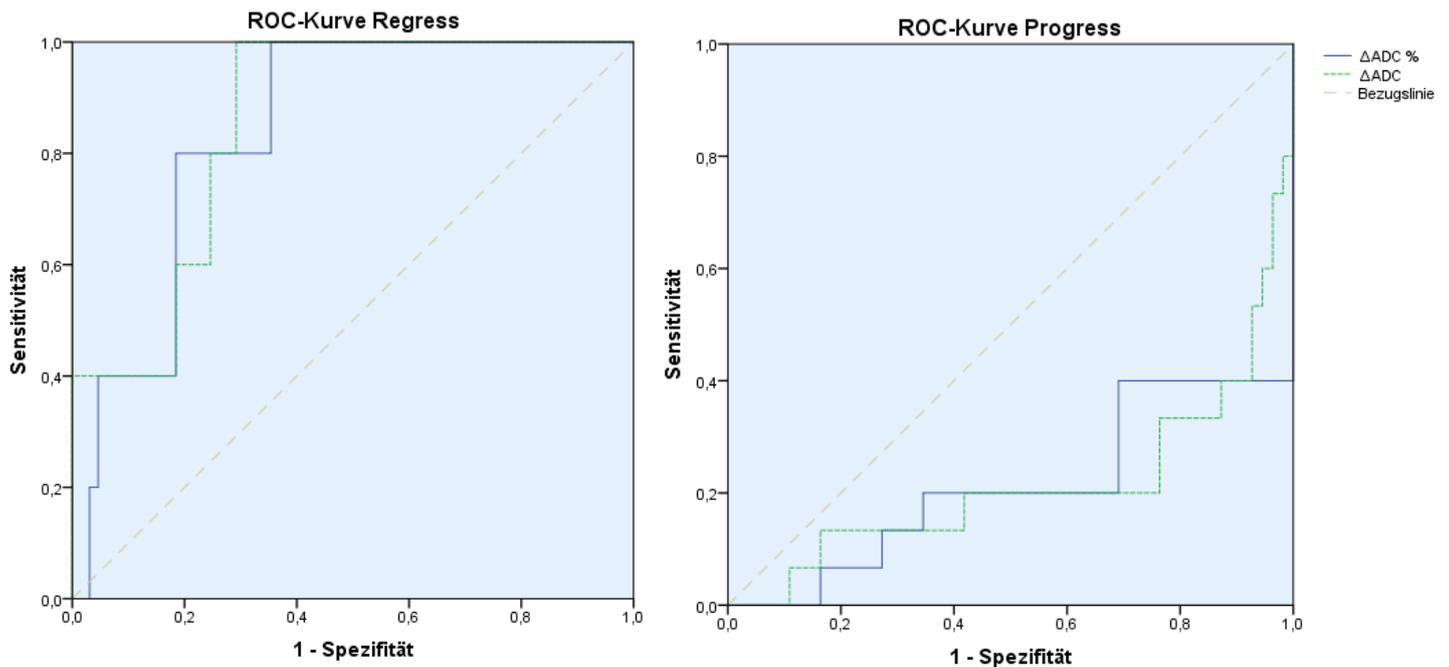
	n	$\bar{\Delta ADC} \pm SD [10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}]$	$\bar{\Delta ADC} \pm SD [\%]$	p gegenüber Regress (absolut   prozentual)
Gesamt	70	<b>3,36</b> ± 40,55	<b>3,86</b> ± 24,75	
Regress	5	<b>48,45</b> ± 40,64	<b>31,34</b> ± 22,45	
stable disease	50	<b>8,65</b> ± 26,70	<b>7,36</b> ± 20,62	0,02   0,01
Progress	15	<b>-29,31</b> ± 53,92	<b>-16,96</b> ± 23,36	<0,01   <0,01

**Tabelle 3:** Mittlere  $\Delta ADC$ -Werte absolut und prozentual anhand Krankheitsverlauf aufgeteilt. Dabei zeigt sich ein signifikanter ADC-Anstieg bei Tumor-Regress gegenüber einer stabilen Erkrankung und gegenüber Progress (absolut  $p = 0,02$  bzw.  $<0,01$ , prozentual  $p = 0,01$  bzw.  $<0,01$ ).

Die Unterschiede zwischen den mittleren  $\Delta ADC$ -Werten (absolut und prozentual) nach Krankheitsverlauf sind signifikant: zwischen  $\Delta ADC$ -Regress und  $\Delta ADC$ -Stable absolut  $p = 0,02$  und prozentual  $p = 0,01$ ; zwischen  $\Delta ADC$ -Progress und  $\Delta ADC$ -Stable absolut und prozentual je  $p < 0,01$ ; zwischen  $\Delta ADC$ -Regress und  $\Delta ADC$ -Progress absolut und prozentual je  $p < 0,01$  (vgl. Abb. 4 + 5). Die Effektgröße ist hierbei stets mindestens mäßig bis überwiegend groß ( $r > 0,3$ ).



**Abbildung 4:** Boxplot der absoluten bzw. der prozentualen  $\Delta ADC$ -Werte nach Krankheitsverlauf (Ausreißer, min./max. in Whisker bzw. einzeln). Dabei zeigt sich ein absoluter sowie relativer ADC-Anstieg bei Tumor-Regress gegenüber einer stabilen Erkrankung und einem Tumor-Progress bzw. ein absoluter sowie relativer ADC-Abfall bei Tumor-Progress gegenüber einer stabilen Erkrankung und einem Tumor-Regress. Insbesondere finden sich keine negativen  $\Delta ADC$ -Werte im Falle eines Tumor-Regress.



**Abbildung 5:** ROC-Kurven der absoluten (grün) und prozentualen (blau)  $\Delta ADC$ -Werte zur Regress- bzw. Progressvorhersage. Dabei zeigt sich, dass sowohl ein ADC-Abfall als Parameter bei Tumor-Progress, aber insbesondere auch ein ADC-Anstieg als Parameter bei Tumor-Regress eine hohe Diskriminierungsfähigkeit aufweisen.

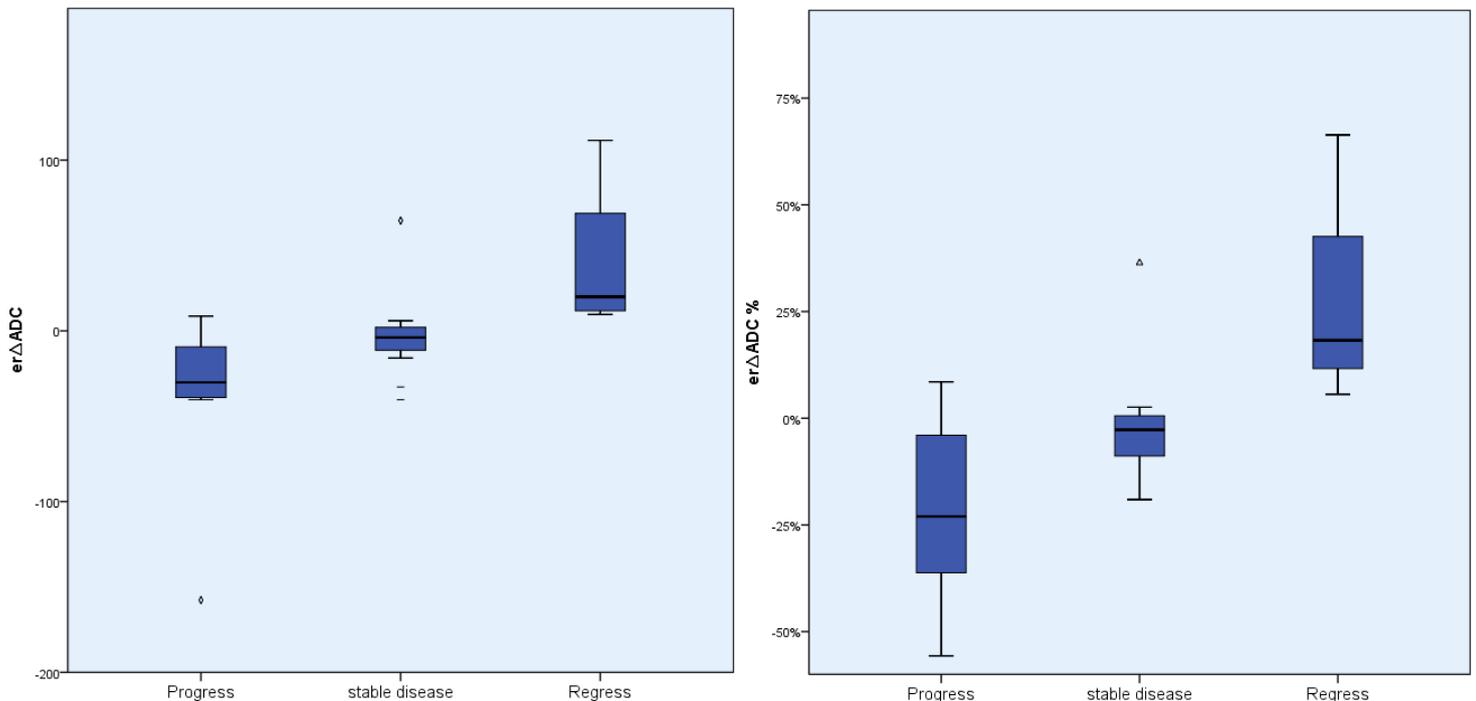
Die Auswertung der  $er\Delta ADC$ -Werte analog zur Auswertung der  $\Delta ADC$ -Werte ergab folgende Werte:

	n	$\bar{\phi}er\Delta ADC \pm SD [10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}]$	$\bar{\phi}er\Delta ADC \pm SD [\%]$	p gegenüber Regress (absolut   prozentual)
Gesamt	22	<b>-6,78</b> $\pm$ 48,21	<b>2,99</b> $\pm$ 25,44	
Regress	4	<b>40,28</b> $\pm$ 48,03	<b>27,11</b> $\pm$ 26,84	
stable disease	11	<b>-3,11</b> $\pm$ 26,85	<b>-2,14</b> $\pm$ 14,72	0,01   0,01
Progress	7	<b>-39,44</b> $\pm$ 55,10	<b>-21,51</b> $\pm$ 23,21	<0,01   0,01

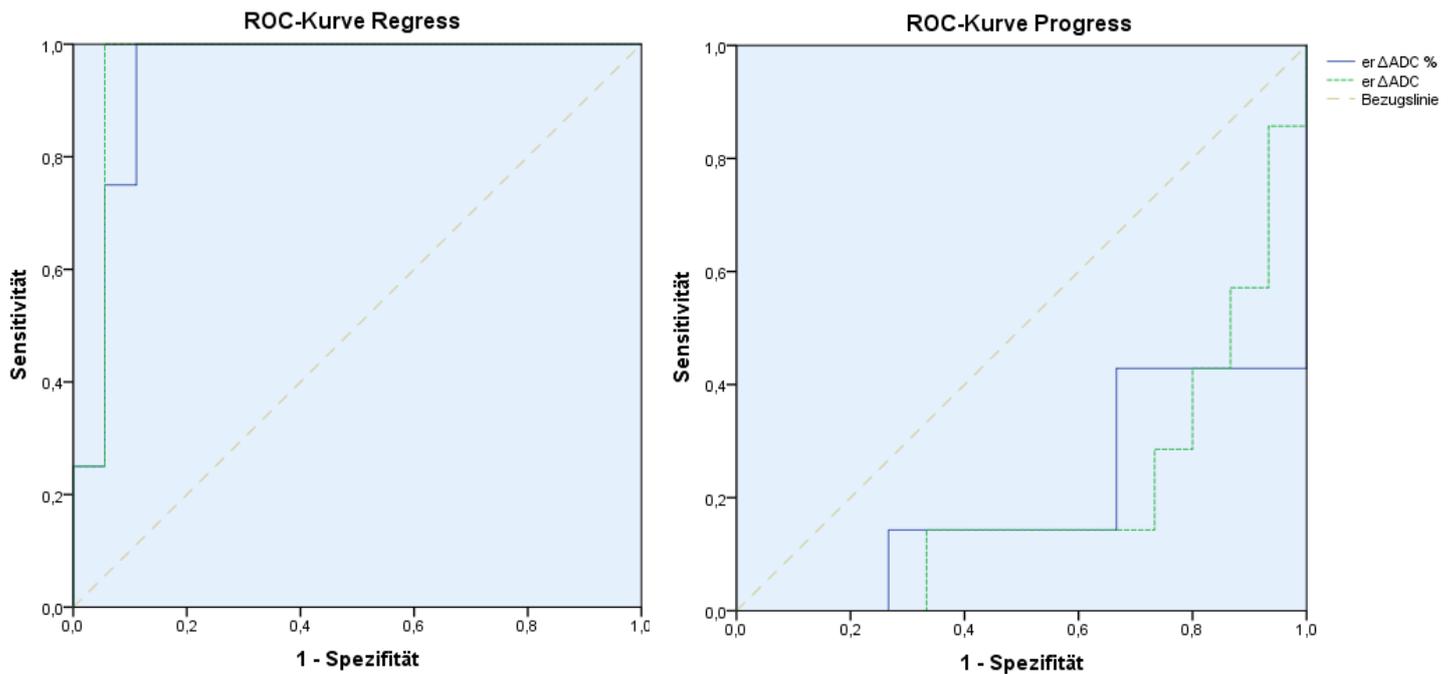
**Tabelle 4:** Mittlere  $er\Delta ADC$ -Werte absolut und prozentual anhand Krankheitsverlauf aufgeteilt. Dabei zeigt sich ein signifikanter absoluter sowie relativer ADC-Anstieg in den ersten 120 Tagen nach Therapiebeginn bei Tumor-Regress gegenüber einer stabilen Erkrankung und gegenüber Progress (absolut  $p = 0,01$  bzw.  $<0,01$ , prozentual  $p = 0,01$  bzw.  $0,01$ ).

Unterschiede zwischen den mittleren  $er\Delta ADC$ -Werten (absolut und prozentual) nach Krankheitsverlauf sind teils signifikant: zwischen  $er\Delta ADC$ -Regress und  $er\Delta ADC$ -Stable absolut und prozentual  $p = 0,01$ ; zwischen  $er\Delta ADC$ -Regress und  $er\Delta ADC$ -Progress absolut  $p < 0,01$  und prozentual  $p = 0,01$ . Die Effektgröße ist hierbei stets mindestens mäßig bis groß ( $r > 0,3$ ).

Die Unterschiede der zwischen *er* $\Delta$ ADC-Progress und *er* $\Delta$ ADC-Stable sind nicht signifikant: absolut  $p = 0,11$  und prozentual  $p = 0,09$  (vgl. Abb. 6 + 7).

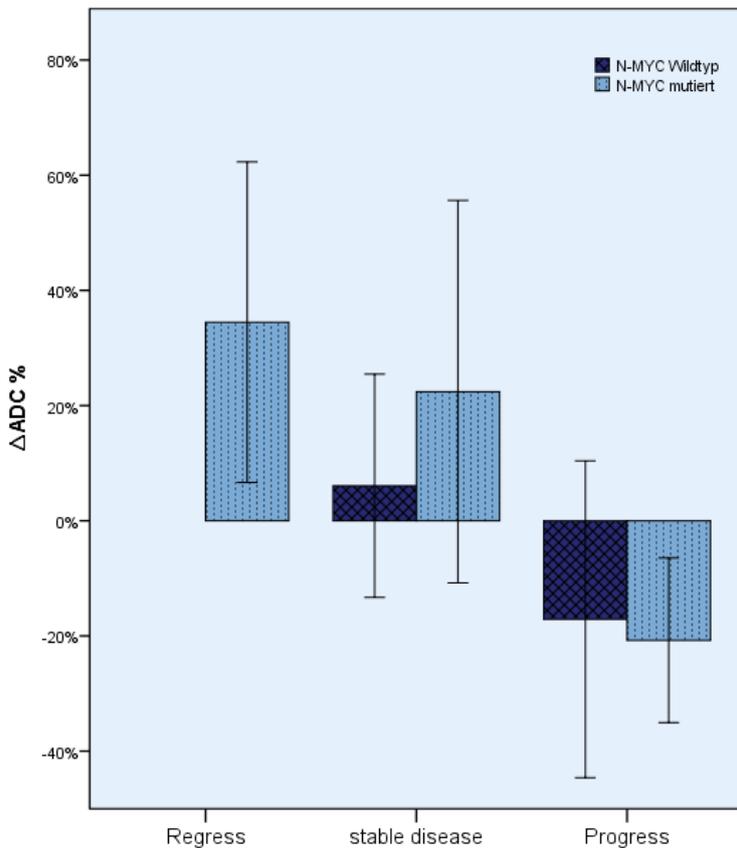


**Abbildung 6:** Boxplot der absoluten bzw. der prozentualen *er* $\Delta$ ADC-Werte nach Krankheitsverlauf (Ausreißer, min./max. in Whisker bzw. einzeln). Dabei zeigt sich ein absoluter sowie relativer ADC-Anstieg bei Tumor-Regress gegenüber einer stabilen Erkrankung und einem Tumor-Progress bzw. ein absoluter sowie relativer ADC-Abfall bei Tumor-Progress gegenüber einer stabilen Erkrankung und einem Tumor-Regress. Insbesondere finden sich keine negativen *er* $\Delta$ ADC-Werte im Falle eines Tumor-Regress.

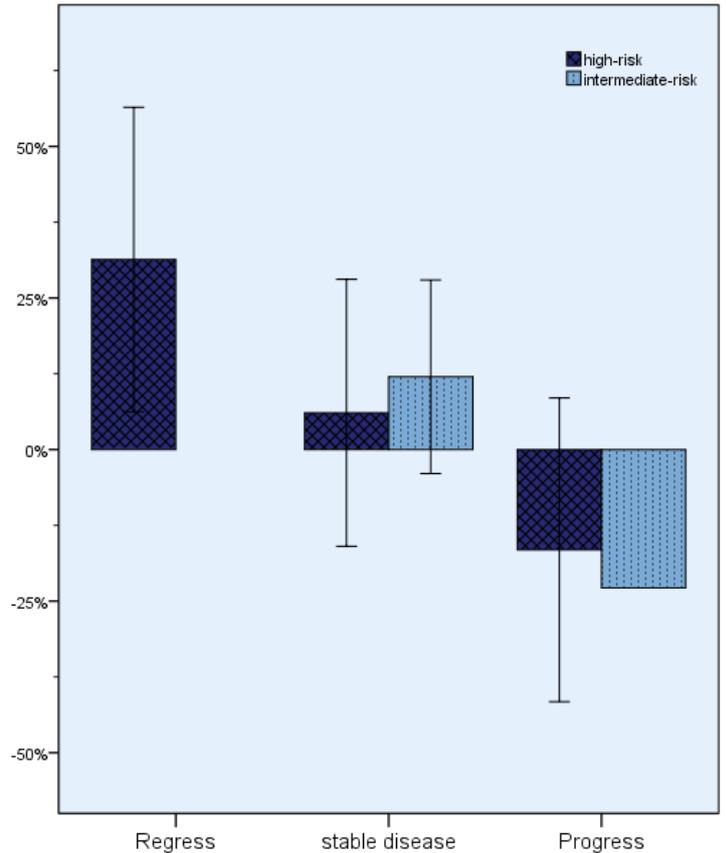


**Abbildung 7:** ROC-Kurven der absoluten (grün) und prozentualen (blau)  $er\Delta ADC$ -Werte zur Regress- bzw. Progressvorhersage. Dabei zeigt sich, dass sowohl ein ADC-Abfall als Parameter bei Tumor-Progress, aber insbesondere auch ein ADC-Anstieg als Parameter bei Tumor-Regress eine hohe Diskriminierungsfähigkeit aufweisen.

Weiter wurden die  $\Delta ADC$ -Werte unter Berücksichtigung des Krankheitsverlaufs wie oben beschrieben zusätzlich anhand der erhobenen klinischen und humangenitischen Parametern untersucht. Dabei zeichnete sich, wie anhand der Abbildung 8 zu sehen ist, kein wesentlicher Unterschied der ADC-Veränderungen zwischen diesen Gruppen ab.



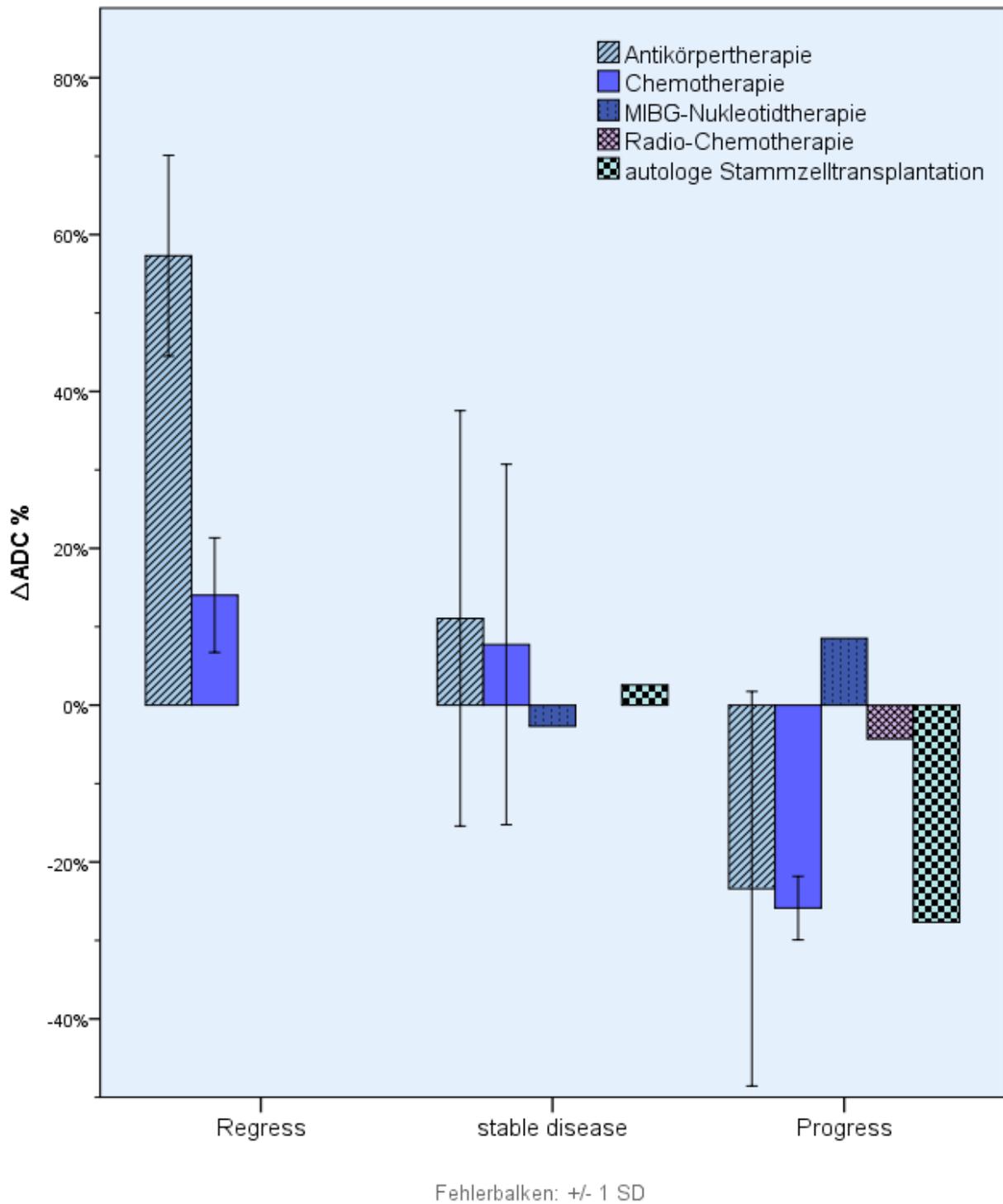
Fehlerbalken: +/- 1 SD



Fehlerbalken: +/- 1 SD

**Abbildung 8:** Mittlere prozentuale  $\Delta ADC$ -Werte nach N-MYC-Status und nach INRG-Risikogruppen. Signifikante Unterschiede konnten dabei hier nicht zwischen den Änderungen in Abhängigkeit des N-MYC-Status bzw. der INRG-Risk-Group gesehen werden.

Die  $\Delta ADC$ -Werte wurden auch nach Therapieform unter beibehaltener Ordnung nach Krankheitsverlauf untersucht. So zeigte sich beispielsweise sowohl bei einem Regress unter Antikörpertherapie als auch bei einem Regress unter Chemotherapie ein mittlerer Anstieg des ADC-Werts um  $57,32 \% \pm 12,80 \%$  bzw.  $14,03 \% \pm 7,31 \%$  gegenüber einem jeweiligen Abfall des ADC-Werts im Falle eines Progresses um  $23,41 \% \pm 25,16 \%$  unter Antikörpertherapie bzw. um  $25,88 \% \pm 20,62 \%$  unter Chemotherapie. Signifikante Unterschiede konnten jedoch auch hier nicht zwischen den Änderungen in Abhängigkeit der Therapieform gesehen werden.



**Abbildung 9:** Mittlere prozentuale  $\Delta ADC$ -Werte nach Therapieform und nach Krankheitsverlauf. Signifikante Unterschiede konnten dabei auch hier nicht zwischen den Änderungen in Abhängigkeit der Therapieform gesehen werden.

$\emptyset\Delta ADC \pm SD$	AK-Therapie	Chemotherapie	MIBG-Nukleotidtherapie	Radiotherapie	Stammzell-Tx
n	23	17	2	1	2
Gesamt [10-7 mm <sup>2</sup> /s]	-0,2 ± 62,48	2,29 ± 20,78	2,36 ± 8,86	-5,73	-13,68 ± 27,76
Gesamt [%]	3,09 ± 33,94	4,89 ± 22,61	2,92 ± 7,94	-4,31	-12,55 ± 21,4
Regress [10-7 mm <sup>2</sup> /s]	96,35 ± 21,52	16,52 ± 8,54			
Regress [%]	57,32 ± 12,8	14,03 ± 7,31			
stable disease [10-7 mm <sup>2</sup> /s]	12,85 ± 34,62	4,77 ± 17,64	-3,91		5,95
stable disease [%]	11,06 ± 26,5	7,73 ± 22,99	-2,7		2,57
Progress [10-7 mm <sup>2</sup> /s]	-45,55 ± 69,41	33,96 ± 5,32	8,63	-5,73	-33,31
Progress [%]	-23,41 ± 25,16	-25,88 ± 4,05	8,54	-4,31	-27,68

**Tabelle 5:** Mittlere  $\Delta ADC$ -Werte  $\pm$  SD nach Therapieform und nach Krankheitsverlauf. Signifikante Unterschiede konnten dabei nicht zwischen den Änderungen in Abhängigkeit der Therapieform gesehen werden.

# Diskussion

Die MRT ist als Staging-Untersuchung bei kindlichen Tumorerkrankungen, wie auch beim Neuroblastom, meist die Methode der Wahl. Gründe hierfür sind die fehlende Strahlenbelastung im Vergleich zu röntgenstrahlenbasierten Methoden, welche es besonders bei Kindern zu vermeiden gilt, der hohe Weichteilkontrast, die gute Verfügbarkeit und die Reproduzierbarkeit bzw. die Vergleichbarkeit.<sup>11,32</sup> Die zur Anwendung kommenden Protokolle umfassen dabei häufig diffusionsgewichtete Sequenzen, sodass eine ADC-Map verfügbar ist.<sup>14,18,33</sup> Der diagnostische Mehrwert der ADC-Maps variiert dabei stark. Eine mögliche Anwendung mit direktem Mehrwert für den Patienten kann das Monitoring einer Neuroblastomerkrankung unter Therapie darstellen. So geben rein morphologische Methoden häufig in den ersten Monaten nach Therapiebeginn/-umstellung keine befriedigende Auskunft über ein Therapieansprechen bzw. ein Therapieversagen. Hier kann die Veränderung des mittleren ADC-Werts als Indikator dienen, wie hier bereits dargestellt werden konnte.

**Die hier vorliegenden Ergebnisse konnten, trotz einiger Einschränkungen, einen klaren Zusammenhang der ADC-Veränderungen mit dem Therapieansprechen, auch bereits innerhalb der ersten 120 Tagen nach Therapiebeginn/-umstellung, demonstrieren.**

Unter anderem werden die Ergebnisse durch eine sehr starke Varianz der gemessenen ADC-Werte limitiert. Indikativ fällt hier eine sehr hohe Standardabweichung unabhängig von der Kategorisierung unter allen ADC-Werten auf ( $\pm 63,08 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ). Hierfür gibt es multifaktorielle Ursachen: Zum einen entstammen die MRT-Untersuchungen aus multiplen Einrichtungen und wurden mit Geräten verschiedener Hersteller mittels unterschiedlicher b-Werte erstellt. Zwar sind ADC-Karten eine Methode zur Erzeugung vergleichbarer Daten von diffusionsgewichteten Verfahren, trotzdem ist hier nach wie vor eine gewisse Varianz je nach Akquise erwartbar.

Zum anderen bestanden erhebliche Qualitätsschwankungen und –einbußen bezüglich Artefaktvermeidung und Rauschunterdrückung. Insbesondere die Durchführung von langwierigeren MRT-Sequenzen bei Kindern leidet regelmäßig unter Compliance-

bedingten Bewegungsartefakten. Derartige Störungsquellen haben weiterhin spürbaren Einfluss auf ADC-Werte.

Auch ist die Tumorphomogenität in Kombination mit der teils niedrigeren Auflösung von ADC-Maps Quelle starker Schwankungen. Nekrosen, (multi-)zystische Anteile und Einblutungen sowie Tumordesmoplasie können nicht immer sicher von soliden Tumoranteilen getrennt gemessen werden und verfälschen den Messwert. Hier wurde versucht mittels Bildfusion und anschließender Kontrolle zumindest eine möglichst akkurate Abgrenzung der ROI zu gewährleisten. Kleinfokale Nicht-Tumorkomponenten konnten dabei allerdings nicht immer ganz ausgeschlossen werden. Sehr kleine Tumoren konnten vereinzelt nicht gemessen werden (vgl. Ausschlusskriterien), so dass bspw. initiale Tumoren in frühen Stadien und kleine, regressive Resttumoren möglicherweise unterrepräsentiert sind-

Weiter wurden Tumoren unterschiedlichen Lokalisationen untersucht. Neben teils etwas anderen MRT-Sequenzen je nach Körperregion mit den so entstandenen bereits beschriebenen Varianzen, ist das ortsständige, peritumoröse Gewebe naturgemäß unterschiedlich. Bei kleinen Tumoren kann nicht mit abschließender Sicherheit gewährleistet werden, dass im Randbereich der ROIs kein ortsständiges Gewebe erfasst ist. Auch sind diffuse und disseminierte Tumoringfiltrate, insbesondere bei Metastasen möglich. Hier liegen Tumorzellen zwischen ortsständigen Zellen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass der ADC-Wert nicht völlig unabhängig vom umgebenden Gewebe ist.

Neben dieser Varianz mit einhergehender, eingeschränkter Vergleichbarkeit der Messwerte, lassen sich auch weitere klassische Limitationen des retrospektiven Studiendesigns ausmachen. So konnte nicht für jede, insbesondere externe, Untersuchung eine sichere zeitliche Einordnung in Bezug auf eine stattgehabte Therapie gemacht werden. Fehlende oder ungenaue Informationen zu zum Teil im fremdsprachigen Ausland stattgefundenen Therapien ließen sich oft nicht mehr vollständig und verlässlich rekonstruieren. Ähnliche Unklarheiten des längerfristigen Verlaufs einiger Tumorerkrankungen ließen sich zum Teil ebenfalls nicht ausräumen. Insbesondere Follow-Ups auswärtiger Patienten lagen oft nur unvollständig vor. Des Weiteren wurden nicht für jeden Patienten molekulargenetische Untersuchungen durchgeführt wobei dem N-Myc-Status eine hohe prognostische Relevanz zugesprochen wird welche sich konsequenterweise auch in den ADC-Veränderungen widerspiegeln könnte.<sup>7,8,10,34</sup>

Die Limitationen des retrospektiven Designs mit der damit verbundenen Notwendigkeit selektiver Einschluss- und Ausschlusskriterien von zu betrachtenden Untersuchungen führten trotz eines zunächst großen Kollektivs zu einer geringeren Zahl an Fällen mit auswertbaren Messungen vor und nach Therapie zu denen auch Informationen zum Krankheitsverlauf/Therapieansprechen vorhanden waren. Insbesondere solche Untersuchungen am Ende einer Therapie mit Regress der Tumorerkrankung fanden sich vergleichsweise wenige. Naheliegend sind hierfür auch die schlechte Prognose und das erwartbar geringe Therapieansprechen von Neuroblastomen im fortgeschrittenen Stadium mitverantwortlich.

Trotz dieser Einschränkungen und Hindernissen konnten signifikante Zusammenhänge zwischen Diffusion bzw. ADC(-Veränderungen) und Therapieansprechen gezeigt werden. So korrespondiert eine positive Veränderung des ADC-Werts mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eines Therapieansprechens und Regresses bzw. ein Abfall des ADC-Werts mit einer größeren Wahrscheinlichkeit eines Progresses. Geringe Veränderungen des ADC-Werts oder ein Gleichbleiben des Wertes zeigten sich dagegen besonders oft bei stabilen Krankheitsverläufen. Diese Korrelationen sind dabei auch bereits schon nach maximal 120 Tagen nach Therapiebeginn signifikant nachweisbar.

Derartige Zusammenhänge sind auf einer Linie mit den bisherigen Veröffentlichungen zu diesem Thema<sup>23-27</sup> und passen zur theoretischen Grundüberlegung welche sich aus histopathologischen Erkenntnissen und physikalischer Grundlage der Technik ergibt. Die hier gewonnenen Erkenntnisse legen nahe, dass die Veränderungen des ADC-Werts als radiologischer Marker eines Therapieansprechens bewertet werden können. Insbesondere sind auch im Zeitraum der ersten drei Monate bzw. 120 Tagen nach Therapiebeginn signifikante Korrelationen zwischen ADC-Veränderungen und Therapieansprechen erkennbar. Klassische bildmorphologische Kriterien sind in diesem Zeitraum oft nicht ausreichend um eine sichere Aussage bezüglich eines Therapieansprechens zu tätigen. Hier könnte eine ADC-Wertbestimmung weitere Auskünfte geben und so frühzeitig eine Prognose bezüglich des Therapieerfolges liefern. Derartige Informationen sind für eine potentielle Therapieumstellung bzw. einen Therapieabbruch von höchster Relevanz.

Ob anhand der ADC-Veränderungen allein eine sichere Prognose getätigt werden sollte und ob sich hieraus definitive Konsequenzen für die Therapie ableiten lassen, muss anhand prospektiver Studien geprüft werden. Progressive Studien könnten Aufschluss darüber geben ob sich für den Patienten signifikante Vorteile einer anhand der ADC-Veränderungen vorgenommenen Therapieumstellung ergeben.

Die theoretischen, zugrundeliegenden histologischen und physikalischen Zusammenhänge ließen sich, wie es bereits bei anderen Tumorentitäten geschehen ist,<sup>22,23,25,35</sup> mittels einer vergleichenden Studie zwischen pathologischem Befund (insb. Zelldichte), ADC-Wert und Therapieerfolg vor und nach Therapiebeginn erkennbar machen.

Die im Moment in den diagnostischen Fächern zu beobachtende Entwicklung von künstlicher-Intelligenz-gestützter (Unterstützungs-)Systemen mittels Deep-Learning erlauben es auch die hier gesehenen Korrelationen weiter zu festigen und auszubauen. So können derartige Systeme bereits jetzt eine Vielzahl von Volumetrierungsaufgaben akkurat erledigen. Der so, über mehreren Schichten gewinnbare ADC-Wert verspricht weniger anfällig gegenüber Artefakten zu sein. Weiter ist es möglich Deep-Learning Algorithmen mit einer Vielzahl an Informationen zu speisen, wobei der ADC-Wert des Tumors nur einer sein muss. Korrelationen mit histologischen, molekularpathologischen, laborchemischen und bildmorphologischen Kriterien sind möglich. Die prädikative Bedeutung des ADC-Werts ist dabei noch nicht endgültig abzusehen, jedoch sind Studien wie die vorliegende, diesbezüglich bereits vielversprechend.

# Zusammenfassung

Das Neuroblastom, ist der häufigste extrakranielle, maligne, solide, kindliche Tumor und in etwa 37 % der Fälle ist das Tumorleiden bei der Erstdiagnose bereits in einem fortgeschrittenen Stadium mit eingeschränkter Resektabilität oder metastatischer Ausbreitung. Das Therapieregime umfasst je nach Stadium: Tumorresektion, zum Teil auch nach neoadjuvanter Therapie; insbesondere bei unvollständiger Resektion folgt dann meist eine weitere adjuvante Therapie; bei fehlender Resektabilität können konservative Therapieformen mit kurativem Ansatz zum Einsatz kommen.

Für Staging und Therapiemonitoring werden Kontrastmittel-MRT genutzt. Oft werden dabei auch diffusionsgewichtete Aufnahmen (DWI) durchgeführt, welche die Bestimmung mittlerer ADC-Werte (apparent diffusion coefficient) zur quantitativen Beurteilung von Diffusion in einem Tumors ermöglichen. Hieraus lassen sich unter anderem Rückschlüsse auf histologische Tumoreigenschaften ziehen. Derartige Erkenntnisse finden auch zunehmend Beachtung im Monitoring von Therapieansprechen maligner Läsionen: U.a. wurde ein Anstieg des ADC-Werts bei Ansprechen von Karzinomen auf Chemotherapie beschrieben. Die Veränderungen des ADC-Werts waren dabei zum Teil bereits messbar, bevor eine Größenreduktion des Tumors beobachtet werden konnte. Übliche Kriterien zur Bestimmung von Therapieansprechen können also durch ADC-Werte ergänzt werden, um so möglicherweise eine frühzeitigere Aussage bezüglich des Therapieansprechens zu treffen. Bisherige Erkenntnisse zur DWI bei Neuroblastomen zeigen ein vergleichbares Bild. **Allerdings konnte keine Aussage über eine frühzeitige Änderung des ADC-Werts bei Therapieansprechen getroffen werden.**

In der vorliegenden Arbeit sollten drei Fragestellungen beantwortet werden:

Kommt es bei Neuroblastomen unter Therapie zu einer (frühzeitigen) Veränderung des ADC-Werts als Ausdruck therapie-assoziiertes Veränderungen? Falls ja, ist sie abhängig von der Therapieform und können die ADC-Veränderungen als prognostische Marker dienen?

Es wurden alle hausinternen und externen MRT-Untersuchungen von Patienten mit Neuroblastomerkrankung der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Greifswald aus dem Zeitraum von 06.2007 bis 08.2014 ausgewertet. Die MRT-

Untersuchungen wurden eingeteilt in: Prestaging = Untersuchung vor Start der jeweiligen Therapieform; Zwischenstaging = Untersuchung während laufender Therapie; Abschlussstaging = Untersuchung nach Abschluss der jeweiligen Therapieform; Follow-Up = Folgeuntersuchung nach Abschlussstaging ohne Therapiebezug. Zur Bewertung des Krankheitsverlaufs wurde eine Einteilung in „Progress“ und „stable disease“ bzw. „Regress“ anhand der jeweiligen Abschlussstagings vorgenommen. Zur Bestimmung der jeweiligen ADC-Werte wurde eine Region of Interest (ROI) entlang der Grenzen aller Tumormanifestation eingezeichnet.

Zur Berechnung von ADC-Veränderungen ( $\Delta ADC$ ) wurde, wenn vorhanden, als baseline und Bezugspunkt dabei immer das jeweilige MRT des Prestaging bzw. bei Therapien, welche direkt im Anschluss an vorherige Therapien erfolgten, das zugehörige, vorhergegangene Staging genutzt (n = 45). Bei follow-up Untersuchungen wurde als Bezugspunkt die jeweils vorhergegangene Untersuchung herangezogen (n=25). Die  $\Delta ADC$  teilen sich auf in  $\Delta ADC$ -Regress bei Regress (n = 5);  $\Delta ADC$ -Stable bei stable disease (n = 50) und  $\Delta ADC$  bei Progress (n = 15). Außerdem wurden solche zusätzlich ausgewählt, deren Errechnung eine Untersuchung unter Therapie nutzte und sie zwischen 60 und 120 d von der jeweiligen baseline entfernt stattfand: *er* $\Delta ADC$ -Regress (n = 4), *er* $\Delta ADC$ -Stable (n = 11) und *er* $\Delta ADC$ -Progress (n = 7).

Unterschiede wurden mittels Mann-Whitney-Test auf Signifikanz getestet (Signifikanzniveau  $p < 0.05$ ).

Das Neuroblastomregister der Klinik für Kinder und Jugendmedizin der Universitätsmedizin Greifswald umfasste zum Studienzeitpunkt 113 Patienten von denen 79 Patienten anhand Ausschlusskriterien ausschieden, konnten 34 Patienten mit insgesamt 40 auswertbaren Tumormanifestationen und 121 diffusionsgewichteten MRT-Untersuchungen eingeschlossen werden. Bei 27 Patienten lag eine Neuroblastomerkrankung im Stadium IV nach INSS vor und in 7 Fällen eine Neuroblastomerkrankung im Stadium III nach INSS. Bei 11 Tumorerkrankungen lag eine positive N-MYC-Expression vor, 17 Patienten wurden auf N-MYC negativ getestet (6 Fälle keine Angaben). 26 Patienten wurden der high-risk-Gruppe nach INRG zugeordnet und 8 Patienten der intermediate-risk-Gruppe.

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied der ADC-Mittelwerte aus der high-risk gegenüber der intermediate-risk Gruppe nach INRG.

Bei Betrachtung des Krankheitsverlaufs kam es insgesamt bei Regress zu einem deutlichen Anstieg und beim Progress zu einem deutlichen Abfall des ADC-Werts. **Die Unterschiede zwischen den mittleren  $\Delta ADC$ -Werten (absolut und prozentual) nach Krankheitsverlauf waren dabei signifikant: zwischen  $\Delta ADC$ -Regress und  $\Delta ADC$ -Stable; zwischen  $\Delta ADC$ -Progress und  $\Delta ADC$ -Stable sowie zwischen  $\Delta ADC$ -Regress und  $\Delta ADC$ -Progress. Auch waren die Unterschiede zwischen den mittleren  $er\Delta ADC$ -Werten (absolut und prozentual) nach Krankheitsverlauf teils signifikant: zwischen  $er\Delta ADC$ -Regress und  $er\Delta ADC$ -Stable sowie zwischen  $er\Delta ADC$ -Regress und  $er\Delta ADC$ -Progress.** In Abhängigkeit von der Therapieform, N-MYC-Status und Risiko-Gruppen konnten keine zusätzlichen signifikanten Unterschiede der  $\Delta ADC$  gesehen werden.

Die hier vorliegenden Ergebnisse konnten einen klaren Zusammenhang der ADC-Veränderungen mit dem Therapieansprechen, auch bereits innerhalb der ersten 120 Tagen nach Therapiebeginn, demonstrieren. Derartige Zusammenhänge sind auf einer Linie mit den bisherigen Veröffentlichungen zu diesem Thema und passen zur theoretischen Überlegung welche sich aus Histopathologie und physikalischer Grundlage ergibt. So korrespondiert ein Anstieg des ADC-Werts mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eines Therapieansprechens bzw. ein Abfall mit einer größeren Wahrscheinlichkeit eines Progresses. Geringe Veränderungen / ein Gleichbleiben des Wertes zeigten sich dagegen besonders oft bei stabilen Krankheitsverläufen. Diese Korrelationen sind dabei auch bereits schon nach maximal 120 Tagen nach Therapiebeginn signifikant. Klassische bildmorphologische Kriterien sind in diesem Zeitraum oft nicht ausreichend um eine sichere Aussage bezüglich Therapieansprechen zu tätigen. Hier kann der ADC bzw. seine Veränderung Auskunft geben und so frühzeitig eine Prognose bezüglich des Therapieerfolges liefern.

# Anhang

Pat.	<b>AK-Therapie</b>			<b>Progress</b>			
1	Prestaging	2. Zyklus	letzter Zyklus				
	328,186	315,444	383,333	Metastase			1
	92,118	51,837	73,902	Metastase			2
	283,273	125,568	150,864	Rezidiv			3
	<b>AK-Therapie</b>			<b>stabile Erkr.</b>			
2	Prestaging	2. Zyklus	letzter Zyklus				
	131,933	177,484	242,089	216,402	28.07.2014	220,648	Metastase
	<b>Chemo</b>			<b>stabile Erkr.</b>			
3	Prestaging	1. Zyklus	letzter Zyklus	Prestaging			
	73,175	104,727	122,117	116,751			Primärtumor
	<b>AK-Therapie</b>			<b>stabile Erkr.</b>			
4	Prestaging	2. Zyklus	letzter Zyklus				
	188,684	155,778	199,833	LKs			6
	<b>AK-Therapie</b>			<b>Regress</b>			
5	Prestaging	2. Zyklus	letzter Zyklus				
	143,802	168,106	279,677	249,237			Primärtumor
	<b>Chemo</b>						
6	Prestaging						
	85,360	101,521	Rezidiv				8
	<b>AK-Therapie</b>			<b>Regress</b>			
7		letzter Zyklus	Followup				
		105,061	207,431	Metastasen			9
	<b>Chemo</b>		<b>Chemo</b>				
8	1. Zyklus	Prestaging					
	156,519	202,843	Primärtumor				10
9	Followup	Followup					
	109,369	87,825	Rezidiv				11
	<b>AK-Therapie</b>			<b>stabile Erkr.</b>			
10	Prestaging	3. Zyklus	letzter Zyklus				
	211,495	171,182	234,576	Rezidiv			12
	<b>Chemo</b>			<b>Regress</b>			
11	Prestaging	letzter Zyklus					
	171,426	181,048	Rezidiv				13
12	Followup	Followup					
	79,925	64,646	LKs				14
13	Followup	Followup	Followup				
	99,605	76,875	98,852	Rezidiv			15
	<b>AK-Therapie</b>			<b>stabile Erkr.</b>			
14	2. Zyklus	3. Zyklus	letzter Zyklus	Followup			
	98,265	163,644	148,653	194,558			Rezidiv
	<b>Chemo</b>						
14	Prestaging	Followup	Followup				
	65,891	69,667	144,434	Metastase			17
	<b>Chemo</b>		<b>Radiochemo</b>				
15	Prestaging	Prestaging	Followup				
	71,017	72,280	73,694	Rezidiv			18
	<b>AK-Therapie</b>			<b>stabile Erkr.</b>			
16	Prestaging	letzter Zyklus					
	157,254	174,670	Metastasen				19
	<b>AK-Therapie</b>			<b>Progress</b>			
17	3. Zyklus	6. Zyklus	letzter Zyklus				
	209,000	83,227	48,836	Metastasen			20
	<b>Chemo</b>			<b>stabile Erkr.</b>			
18	Prestaging	letzter Zyklus					
	108,181	115,826	Primärtumor				21



# Literaturverzeichnis

- 1 Abele, N., Langner, S., Felbor, U., Lode, H. & Hosten, N. Quantitative Diffusion-Weighted MRI of Neuroblastoma. *Cancers* **15**, 1940 (2023).
- 2 Berthold, F., Spix, C., Kaatsch, P. & Lampert, F. Incidence, Survival, and Treatment of Localized and Metastatic Neuroblastoma in Germany 1979-2015. *Paediatr Drugs* **19**, 577-593 (2017).
- 3 Simon, T. *et al.* 2017 GPOH Guidelines for Diagnosis and Treatment of Patients with Neuroblastic Tumors. *Klin Padiatr* **229**, 147-167 (2017).
- 4 Shimada, H. *et al.* Terminology and morphologic criteria of neuroblastic tumors: recommendations by the International Neuroblastoma Pathology Committee. *Cancer* **86**, 349-363 (1999).
- 5 Shimada, H. *et al.* The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system). *Cancer* **86**, 364-372 (1999).
- 6 Uryu, K. *et al.* Identification of the genetic and clinical characteristics of neuroblastomas using genome-wide analysis. *Oncotarget* **8**, 107513-107529 (2017).
- 7 Rickman, D. S., Schulte, J. H. & Eilers, M. The Expanding World of N-MYC-Driven Tumors. *Cancer Discov* **8**, 150-163 (2018).
- 8 Nakazawa, A. *et al.* Correlation between the International Neuroblastoma Pathology Classification and genomic signature in neuroblastoma. *Cancer Sci* **106**, 766-771 (2015).
- 9 Louis, C. U. & Shohet, J. M. Neuroblastoma: molecular pathogenesis and therapy. *Annu Rev Med* **66**, 49-63 (2015).
- 10 Huang, M. & Weiss, W. A. Neuroblastoma and MYCN. *Cold Spring Harb Perspect Med* **3**, a014415 (2013).
- 11 McCarville, M. B. Imaging neuroblastoma: what the radiologist needs to know. *Cancer Imaging* **11 Spec No A**, S44-47 (2011).
- 12 Cohn, S. L. *et al.* The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG Task Force report. *J Clin Oncol* **27**, 289-297 (2009).
- 13 Chen, A. M., Trout, A. T. & Towbin, A. J. A review of neuroblastoma image-defined risk factors on magnetic resonance imaging. *Pediatr Radiol* **48**, 1337-1347 (2018).
- 14 Swift, C. C., Eklund, M. J., Kraveka, J. M. & Alazraki, A. L. Updates in Diagnosis, Management, and Treatment of Neuroblastoma. *Radiographics* **38**, 566-580 (2018).
- 15 Hämatologie, G. f. P. O. u. in *S1-Leitlinie 025-008 Neuroblastom* (AWMF, AWMF online, 2019).
- 16 Newman, E. A. & Nuchtern, J. G. Recent biologic and genetic advances in neuroblastoma: Implications for diagnostic, risk stratification, and treatment strategies. *Semin Pediatr Surg* **25**, 257-264 (2016).
- 17 Mueller, I. *et al.* Tolerability, response and outcome of high-risk neuroblastoma patients treated with long-term infusion of anti-GD(2) antibody ch14.18/CHO. *MAbs* **10**, 55-61 (2018).
- 18 Nievalstein, R. A. & Littooi, A. S. Whole-body MRI in paediatric oncology. *Radiol Med* **121**, 442-453 (2016).
- 19 Backens, M. Grundlagen und Technik der diffusionsgewichteten MR-Bildgebung und der Diffusions-Tensor-Bildgebung. *Der Radiologe* **55**, 762-770 (2015).
- 20 Baliyan, V., Das, C. J., Sharma, R. & Gupta, A. K. Diffusion weighted imaging: Technique and applications. *World J Radiol* **8**, 785-798 (2016).
- 21 Chavhan, G. B. & Caro-Dominguez, P. Diffusion-weighted imaging in pediatric body magnetic resonance imaging. *Pediatr Radiol* **46**, 847-857 (2016).
- 22 Surov, A., Meyer, H. J. & Wienke, A. Correlation between apparent diffusion coefficient (ADC) and cellularity is different in several tumors: a meta-analysis. *Oncotarget* **8**, 59492-59499 (2017).

- 23 Driessen, J. P. *et al.* Diffusion-weighted MR imaging in laryngeal and hypopharyngeal carcinoma: association between apparent diffusion coefficient and histologic findings. *Radiology* **272**, 456-463 (2014).
- 24 Partridge, S. C., Nissan, N., Rahbar, H., Kitsch, A. E. & Sigmund, E. E. Diffusion-weighted breast MRI: Clinical applications and emerging techniques. *J Magn Reson Imaging* **45**, 337-355 (2017).
- 25 Jiang, R. *et al.* Diffusion tensor imaging of breast lesions: evaluation of apparent diffusion coefficient and fractional anisotropy and tissue cellularity. *Br J Radiol* **89**, 20160076 (2016).
- 26 Ludwig, J. M., Camacho, J. C., Kokabi, N., Xing, M. & Kim, H. S. The Role of Diffusion-Weighted Imaging (DWI) in Locoregional Therapy Outcome Prediction and Response Assessment for Hepatocellular Carcinoma (HCC): The New Era of Functional Imaging Biomarkers. *Diagnostics (Basel)* **5**, 546-563 (2015).
- 27 Demir, S., Altinkaya, N., Kocer, N. E., Erbay, A. & Oguzkurt, P. Variations in apparent diffusion coefficient values following chemotherapy in pediatric neuroblastoma. *Diagn Interv Radiol* **21**, 184-188 (2015).
- 28 Kocaoğlu, M. & Bulakbaşı, N. Monitorization of chemotherapy response using diffusion-weighted imaging in neuroblastoma. *Diagn Interv Radiol* **22**, 108 (2016).
- 29 Neubauer, H., Li, M., Müller, V. R., Pabst, T. & Beer, M. Diagnostic Value of Diffusion-Weighted MRI for Tumor Characterization, Differentiation and Monitoring in Pediatric Patients with Neuroblastic Tumors. *Rofo* **189**, 640-650 (2017).
- 30 Eisenhauer, E. A. *et al.* New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* **45**, 228-247 (2009).
- 31 Park, J. R. *et al.* Revisions to the International Neuroblastoma Response Criteria: A Consensus Statement From the National Cancer Institute Clinical Trials Planning Meeting. *J Clin Oncol* **35**, 2580-2587 (2017).
- 32 Voss, S. D. Staging and following common pediatric malignancies: MRI versus CT versus functional imaging. *Pediatr Radiol* **48**, 1324-1336 (2018).
- 33 Davidoff, A. M. Neuroblastoma. *Semin Pediatr Surg* **21**, 2-14 (2012).
- 34 Brodeur, G. M. *et al.* Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. *J Clin Oncol* **11**, 1466-1477 (1993).
- 35 Chen, X. *et al.* Meta-analysis of quantitative diffusion-weighted MR imaging in the differential diagnosis of breast lesions. *BMC Cancer* **10**, 693 (2010).

# Englischsprachige Originalarbeit



Article

## Quantitative Diffusion-Weighted MRI of Neuroblastoma

Niklas Abele <sup>1,2,\*</sup>, Soenke Langner <sup>1,3</sup>, Ute Felbor <sup>4,5</sup>, Holger Lode <sup>6</sup> and Norbert Hosten <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Radiology, Germany University of Greifswald, 17475 Greifswald, Germany

<sup>2</sup> Institute of Pathology, University of Erlangen, 91054 Erlangen, Germany

<sup>3</sup> Department of Radiology, University of Rostock, 18057 Rostock, Germany

<sup>4</sup> Department of Human Genetics, University of Greifswald, 17475 Greifswald, Germany

<sup>5</sup> Interfaculty Institute of Genetics and Functional Genetics, University of Greifswald, 17475 Greifswald, Germany

<sup>6</sup> Department of Pediatric Hematology and Oncology, University of Greifswald, 17475 Greifswald, Germany

\* Correspondence: niklas.abele@uk-erlangen.de

**Simple Summary:** In this study quantified diffusion weighted imaging in MRI was analyzed in neuroblastoma. We were able to show a significant increase of apparent diffusion coefficient in regressive diseases and a decrease for progressive diseases. This was even true within the first 120 days after the start of therapy.

**Abstract:** Neuroblastoma is the most common extracranial, malignant, solid tumor found in children. In more than one-third of cases, the tumor is in an advanced stage, with limited resectability. The treatment options include resection, with or without (neo-/) adjuvant therapy, and conservative therapy, the latter even with curative intent. Contrast-enhanced MRI is used for staging and therapy monitoring. Diffusion-weighted imaging (DWI) is often included. DWI allows for a calculation of the apparent diffusion coefficient (ADC) for quantitative assessment. Histological tumor characteristics can be derived from ADC maps. Monitoring the response to treatment is possible using ADC maps, with an increase in ADC values in cases of a response to therapy. Changes in the ADC value precede volume reduction. The usual criteria for determining the response to therapy can therefore be supplemented by ADC values. While these changes have been observed in neuroblastoma, early changes in the ADC value in response to therapy are less well described. In this study, we evaluated whether there is an early change in the ADC values in neuroblastoma under therapy; if this change depends on the form of therapy; and whether this change may serve as a prognostic marker. We retrospectively evaluated neuroblastoma cases treated in our institution between June 2007 and August 2014. The examinations were grouped as ‘prestaging’, ‘intermediate staging’, ‘final staging’, and ‘follow-up’. A classification of “progress”, “stable disease”, or “regress” was made. For the determination of ADC values, regions of interest were drawn along the borders of all tumor manifestations. To calculate ADC changes ( $\Delta ADC$ ), the respective MRI of the prestaging was used as a reference point or, in the case of therapies that took place directly after previous therapies, the associated previous staging. In the follow-up examinations, the previous examination was used as a reference point. The  $\Delta ADC$  were grouped into  $\Delta ADC_{regress}$  for regressive disease,  $\Delta ADC_{stable}$  for stable disease, and  $\Delta ADC$  for progressive disease. In addition, examinations at 60 to 120 days from the baseline were grouped as  $er\Delta ADC_{regress}$ ,  $er\Delta ADC_{stable}$ , and  $er\Delta ADC_{progress}$ . Any differences were tested for significance using the Mann–Whitney test (level of significance:  $p < 0.05$ ). In total, 34 patients with 40 evaluable tumor manifestations and 121 diffusion-weighted MRI examinations were finally included. Twenty-seven patients had INSS stage IV neuroblastoma, and seven had INSS stage III neuroblastoma. A positive N-Myc expression was found in 11 tumor diseases, and 17 patients tested negative for N-Myc (with six cases having no information). 26 patients were assigned to the high-risk group according to INRG and eight patients to the intermediate-risk group. There was a significant difference in mean ADC values from the high-risk group compared to those from the intermediate-risk group, according to INRG. The differences between the mean  $\Delta ADC$  values (absolute and percentage) according to the course of the disease were significant: between  $\Delta ADC_{regress}$  and  $\Delta ADC_{stable}$ , between  $\Delta ADC_{progress}$  and  $\Delta ADC_{stable}$ , as well as between  $\Delta ADC_{regress}$  and  $\Delta ADC_{progress}$ . The



**Citation:** Abele, N.; Langner, S.; Felbor, U.; Lode, H.; Hosten, N. Quantitative Diffusion-Weighted MRI of Neuroblastoma. *Cancers* **2023**, *15*, 1940. <https://doi.org/10.3390/cancers15071940>

Academic Editor: Hyunsuk Shim

Received: 26 January 2023

Revised: 6 March 2023

Accepted: 8 March 2023

Published: 23 March 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

differences between the mean  $er\Delta ADC$  values (absolute and percentage) according to the course of the disease were significant: between  $er\Delta ADC_{regress}$  and  $er\Delta ADC_{stable}$ , as well as between  $er\Delta ADC_{regress}$  and  $er\Delta ADC_{progress}$ . Forms of therapy, N-Myc status, and risk groups showed no further significant differences in mean ADC values and  $\Delta ADC/er\Delta ADC$ . A clear connection between the ADC changes and the response to therapy could be demonstrated. This held true even within the first 120 days after the start of therapy: an increase in the ADC value corresponds to a probable response to therapy, while a decrease predicts progression. Minimal or no changes were seen in cases of stable disease.

**Keywords:** neuroblastoma; DWI; MRI; biomarker; quantitative image analysis; pathology

## 1. Introduction

Neuroblastoma, an embryonic tumor originating in the sympathetic nervous system, is the most common extracranial malignant solid tumor in children [1]. Neuroblastoma is said to have a high degree of variability in terms of site of manifestation and prognosis. In about 37% of cases, the tumor is already at an advanced stage with limited resectability or metastatic spread when it is first diagnosed. The overall ten-year survival rate in a 2004 cohort was 72% [1].

Primary manifestations are mostly found in children younger than six years old and are mainly localized in the adrenal glands and the sympathetic trunk or the paraganglia [2]. The histopathological examination using an open biopsy offers the highest level of certainty for confirming the diagnosis and is considered the procedure of choice [2,3]. Histologically, the tumor is predominantly solid and made up of densely packed, round-celled, basophilic cells, with several subtypes being recognized that can be classified according to International Neuroblastoma Pathology Classification criteria [2–4]. Among other indicators, a lower proportion of stroma correlates with a more aggressive course of the disease [3,4]. As part of the tissue examination, an analysis for N-Myc amplification and possible chromosome aberrations is usually also carried out [5]. In particular, tumors with N-Myc amplification are said to have a poorer prognosis [6–9].

In the initial tumor staging of the neuroblastoma, whole-body or magnetic resonance imaging (MRI) of the affected body regions is planned.

An essential part of the MRI staging examination should include staging according to the INSS (International Neuroblastoma Staging System) and risk stratification according to the INRGSS (International Neuroblastoma Risk Group Staging System) [10–12]. Other diagnostic standards or supplementary examinations include ultrasound examinations, X-ray examinations including computed tomography,  $Tc^{99m}$ -scintigraphy,  $^{123}I$ - and  $^{131}I$ -MIBG, and  $^{18}F$ -fluorodeoxyglucose PET/CT [13].

Neuroblastoma diseases are usually treated within the framework of studies and are based on the respective study protocols. Depending on the stage and IDRFs, the therapy regimen usually includes tumor resection. In many cases, further adjuvant therapy follows. In the absence of resectability, non-surgical forms of therapy can be used primarily and with a curative approach [14]. In addition to chemotherapy (including high-dose therapy cycles with autologous stem cell transplantation) and radiotherapy,  $^{131}I$ -MIBG therapy and immunological therapy using antibody administration (AB) are used [2,15,16].

Even if a uniform MRI protocol in childhood tumor diseases has not yet been established, T2-weighted (T2w) and T2w fat-saturated (T2w fs) images (e.g., STIR), as well as T1-weighted (T1w) images, acquired before and after the administration of a gadolinium-based contrast agent, are standard practice. In addition, diffusion-weighted sequences are utilized [17]. Diffusion-weighted imaging (DWI) allows the visualization of functional tissue properties, providing information about the diffusion of water in the tissue in vivo [18,19]. If images with at least two  $b$ -values are recorded in a diffusion-weighted sequence, the so-called ADC value (apparent diffusion coefficient) can be calculated in the form of a parameter map. In the calculated ADC parameter maps, facilitated diffusion,

e.g., in the context of edema due to inflammation, appears as an increased ADC value and is therefore light, while restricted diffusion with a reduced ADC value, e.g., in cell-rich tumors or a stroke, appears dark [20].

A connection between diffusion or the ADC value and the histological properties of tissues, such as the cell density of tumors, has been shown several times [21]. For example, it has been shown that carcinomas of the ENT area or tumors of the breast could be classified and evaluated more accurately with the help of diffusion-weighted imaging [22–24]. The positive correlation between the tumor stroma content and ADC value and the negative correlation between tumor cellularity and the ADC value should be emphasized [22].

DWI also comes into play when monitoring the response to the treatment of malignant lesions; among other observations, a significant increase in the ADC value was found when hepatocellular carcinoma responded to chemotherapy as an expression of the altered ultrastructure. The changes in the ADC value were already measurable before a reduction in the size of the tumor could be observed. The usual criteria for determining the response to therapy can therefore be supplemented by considering ADC values in order to possibly make an earlier statement regarding the response to therapy [25].

If one considers previous findings on the importance of DWI in neuroblastoma, a less well-studied but comparable picture emerges. In 2014, Demir et al. showed that the ADC value of eleven examined neuroblastomas under chemotherapy increased significantly in response to therapy [26]. However, no statement could be made about an early change in the ADC value that could be measured before the end of the approximately five-month therapy to indicate the response to therapy [27]. In 2017, Neubauer et al., taking into account similar previous studies, found that the ADC value of neuroblastoma differed from the ADC values of neuroblastic tumors with lower malignancy in childhood that were eligible for differential diagnosis. The DWI can therefore be of great help in the diagnosis of such lesions [28].

The current study answers the following questions:

1. Is there an (early) change in the ADC values in neuroblastoma under therapy as an expression of therapy-associated changes in the ultrastructure of the tumor?
2. If there is a change in the ADC values of the tumors, does this depend on the form of therapy?
3. Can therapy-associated changes in the ADC value serve as a prognostic marker in patients with neuroblastoma?

## 2. Materials and Methods

As part of the study, all in-house and external MRI examinations of patients with neuroblastoma disease from the period June 2007 to August 2014 were retrospectively evaluated. For this purpose, the collective was taken from the register of the Clinic for Pediatric and Adolescent Medicine, Greifswald.

The inclusion criteria were the following:

1. The presence of a histologically confirmed neuroblastoma disease with at least one solid manifestation and at least two MRI examinations in the specified period so that the tumor manifestations to be examined were presented at least twice.
2. If an MIBG scintigraphy was available, a tracer recording of the tumor manifestation was required that could be delineated in the MRI in the MIBG scintigraphy (MIBG).
3. Available MRI data, including pre- and post-contrast T1w sequences, T2w sequences, and DWI images, were required.

The clinical parameters were taken from interdisciplinary tumor conferences and from external doctors' letters.

Each patient was placed into a risk group according to the INRG; the stage according to INSS was also taken from the protocols of the tumor boards or the doctors' letters if the relevant information was available. In the absence of information (four cases), the classification for the study was defined post hoc by a radiological specialist (>10 years of professional experience). The IDRFs were also taken from the protocols of the tumor boards

and the doctors' letters, as well as the radiological findings. In the absence of sufficient information regarding IDRFs, no IDRFs were reported. If possible, the INRG stage was taken directly from the protocols of the tumor boards or the doctors' letters. Otherwise, it was determined post hoc from the IDRFs. If neither the INRG stage nor the IDRFs were known, the INRG stage was determined according to INRG Cohn et al. [11] from the INSS stage. Finally, the patients were classified into risk groups (high, intermediate, low, and very low) according to INRG Cohn et al. In the case of insufficient information and missing factors, the value was noted, which resulted in a higher classification when dividing the patients into risk groups. In addition, the forms of therapy carried out were recorded in detail.

Furthermore, if available, the molecular genetic N-Myc status (basic helix–loop–helix protein 37) was also recorded.

Based on the data collected in this way, the MRI examinations were divided into the following points in time:

Prestaging: examination before the start of the respective form of therapy.

Intermediate staging: examination during ongoing therapy.

Final staging: examination after completion of the respective form of therapy.

Follow-up: follow-up examination after the final staging without any therapy reference.

Other: investigation without known cause for investigation.

To assess the course of the disease, a classification was made, i.e., “progressive disease” (PD) and “stable disease” (StD) or “partial response” (PR) and “complete response” (CR), according to the INRC based on the respective final staging, whereby the categories CR and PR were combined (regress) [29,30]. The categorization was based on the extent of the tumor or the absence and occurrence of possible new manifestations in the MRI and was also compared with the written assessment of the respective examination if this was available. As a reference point or baseline (BL), the respective prestaging, or, in the case of therapies that took place directly after previous therapies, the associated previous staging was used. For follow-up examinations, the previous examination was used as a reference point.

If there was no final staging examination that met the inclusion criteria mentioned, any findings from the imaging examinations carried out were used solely for the purpose of assessing the course of the disease.

In the event of disagreement between the radiological or nuclear medicine findings and the clinical assessment, the consensus decision of the interdisciplinary tumor conferences was used to assess the response to therapy.

Since the MRI examinations were carried out both in-house and externally, the examination protocols and sequence parameters used varied accordingly. However, all investigations were performed at 1.5 T using a surface coil for signal detection.

Diffusion-weighted images with the diffusion factors  $b = 0/800 \text{ s/mm}^2$  were available for all included patients. If the calculated ADC parameter map was not available, it was calculated using the ADC plug-in (<https://github.com/mribri999/ADCmap>) (accessed on 15 October 2014) in OsiriX (v.3.4.1, Pixmeo SARL, Bernex, Switzerland).

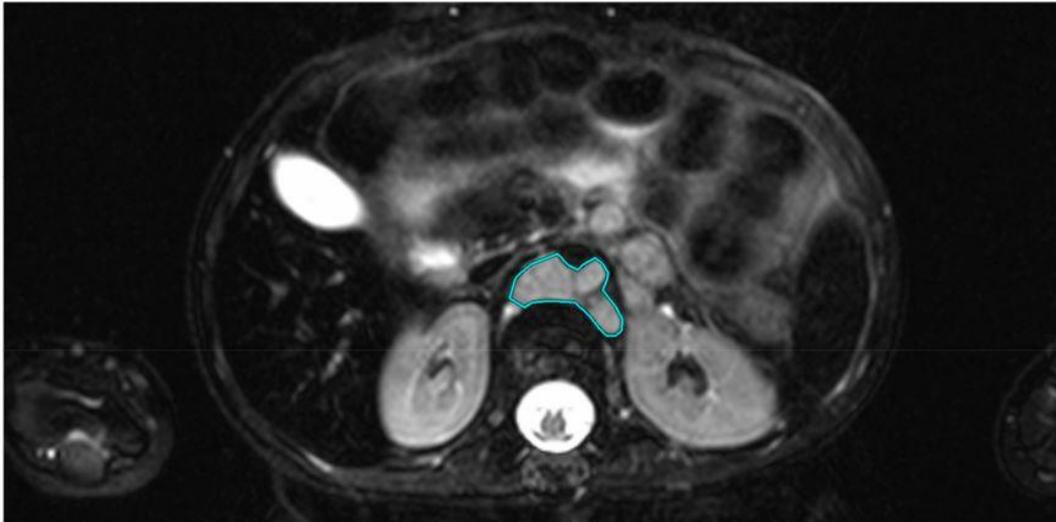
The collected image data of the patient collective were transferred to an OsiriX workstation (v.3.4.1, Pixmeo SARL, Bernex, Switzerland) for further evaluation.

To determine the ADC values, a “closed polygon”, a region of interest (ROI) along the borders of the tumor manifestation, was drawn on the axial slice images. The tumor manifestation was identified according to the respective radiological findings or the tumor board protocol. If multiple tumor manifestations were present, the largest solid manifestation was selected for each organ. An analogous procedure was chosen for lymph node manifestations. For the definition of the ROI, the anatomical sequence in which the tumor could best be delineated was chosen. This selection was the responsibility of the evaluator.

The ADC parameter map was then fused with the image of the selected anatomical sequence using the OsiriX fusion tool (v.3.4.1, Pixmeo SARL, Bernex, Switzerland), and the

ROI was, thus, copied onto the ADC parameter map. Attention was paid to the anatomical congruence of both sequences. If there was a mismatch, the ROI was corrected manually.

In addition, the tumor volume was determined for each observed tumor manifestation. For this purpose, in the axial sequence with the best visibility of the respective tumor manifestation, the tumor was manually drawn with the “closed polygon” drawing tool in OsiriX (see Figure 1), and then the “compute volume” function was used to calculate the volume semi-automatically.



**Figure 1.** Axial T1-weighted image of a 2-year-old patient with stage IV neuroblastoma. The tumor is located para-aortally. The region of interest (ROI) is shown in turquoise, drawn using the “closed polygon” tool.

The continuous variables are presented as the mean  $\pm$  standard deviation.

For further evaluation, three categories were formed from the determined ADC values and the calculated differences according to the course of the disease:

$\Delta ADC_{regress}$ : the difference between the ADC value of the examined manifestation determined by means of ROI analysis and the associated ADC value of the corresponding reference point at regress.

$\Delta ADC_{stable}$ : the difference between the ADC value of the examined manifestation determined by means of ROI analysis and the associated ADC value of the corresponding reference point at stable disease.

$\Delta ADC_{progress}$ : the difference between the ADC value of the examined manifestation determined by means of ROI analysis and the associated ADC value of the corresponding reference point at progress.

Additional  $\Delta ADC$  values were selected whose calculation involved the use of an examination during therapy, providing this examination took place at least 60 and at most 120 days from the BL of the respective therapy. (Now called  $er\Delta ADC_{regress}$ ,  $er\Delta ADC_{stable}$ , and  $er\Delta ADC_{progress}$ , respectively.)

These values were also compared with one another, considering the clinical parameters (N-Myc, age, gender, type of therapy, stage, tumor size, tumor location, primary/secondary/lymph node metastasis/recurrence) and the absolute ADC values.

For illustration, the results are presented using box plots, histograms, and ROCs.

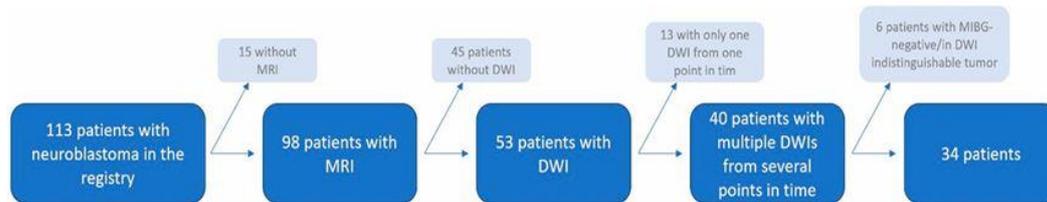
Differences were tested for significance using the Mann–Whitney test. A significance level of  $p < 0.05$  was set a priori.

The statistical evaluation was carried out using Microsoft Excel (v.1808, Microsoft Office Professional 2019, Redmond, WA, USA) and SPSS Statistics (v.24, SPSS IBM, Armonk, NY, USA).

The responsible ethics committee in Greifswald approved the study. Due to the retrospective nature of the study, written consent was not required.

### 3. Results

The neuroblastoma registry of the Clinic for Pediatrics and Adolescent Medicine at the University Medical Center, Greifswald, included 113 patients. Imaging was not available for 15 patients. Of the 98 patients with available imaging, 45 patients were excluded because no diffusion-weighted images were available. A further 13 of the remaining 53 patients were excluded because the diffusion-weighted images were only available from one study time point. A further six patients were excluded because the tumor-suspected lesions could not be evaluated with certainty due to their size in the diffusion-weighted images or because the lesions in the MIBG scintigraphy were negative; thus, 34 patients remained available for the final analysis (see Figure 2).



**Figure 2.** Flow chart illustrating the patient collective and the excluded patients.

The youngest patient was 12 months old at the time of the first imaging, and the oldest patient was 26 years old. (Average age at the time of the initial examination  $6.8 \pm 5.8$  a.)

Twenty-seven patients had INSS stage IV neuroblastoma, and seven had INSS stage III neuroblastoma.

Two or more IDRFs were present in 22 patients, and  $\leq 1$  IDRF was present in four. In eight cases, there was no information regarding IDRFs. Positive N-Myc expression was present in 11 tumor diseases, and 17 patients tested negative for N-Myc. In six cases, there was no information on N-Myc status.

Twenty-six patients were assigned to the high-risk group according to the INRG, and eight patients were assigned to the intermediate-risk group. No patient fell into the low-risk or very low-risk group (see Table 1).

A total of 40 tumor manifestations were evaluated in the 34 included patients. Ten cases were primary tumors, and 13 cases were local recurrences. In three cases, the tumor manifestation was lymph node metastases, and in 14 cases, there were distant metastases.

The mean volume of the tumor manifestations at their respective first examination time was  $35.51 \text{ cm}^3 \pm 74.05 \text{ cm}^3$  (range:  $0.67 \text{ cm}^3$ – $321.27 \text{ cm}^3$ ).

Of the 34 patients included in the study with 40 evaluable tumor manifestations, a total of 121 evaluable MRI examinations were available.

In total, 14 tumor manifestations were presented in only two examinations and could be evaluated. Moreover, 14 tumors were evaluated in exactly three examinations each. Two manifestations were presented together in 13 MRI examinations, which corresponds to the maximum number of evaluable examinations of a patient. The remaining 25 examinations were distributed among patients, with four to six examinations. Each tumor manifestation presented an average of 3.55 times ( $\pm 2.40$ ). On average,  $1.16 \pm 0.43$  tumor manifestations were evaluated per MRI examination. This results from the fact that in 3 MRI examinations

of one patient, three distinct lesions were evaluated, and in 13 MRI examinations of another patient, two lesions were evaluated. A total of three other patients also had two separate, distinct tumor manifestations and were also evaluated individually, but the two lesions were never displayed in the same MRI.

**Table 1.** Distribution of patients by INSS, IRDFs, INRG, and N-Myc status.

Total	34
INSS Stage	
III	7
IV	27
IRDFs	
≤1	4
≥2	22
INRG Stage	
intermediate-risk	8
high-risk	26
N-Myc	
wild-type	17
mutated	11
NI	6

In total, 142 ADC values were analyzed from the 40 tumor manifestations (an average of 4.18 ADC values  $\pm$  4.15 per patient; range: 2–26). Of these, 31 measurements were from pre-staging examinations; 34 were from final staging examinations; 29 were from intermediate staging investigations; 41 were from follow-up investigations; and seven were from unspecified investigations.

The mean ADC of the tumors, regardless of the site of onset, of INSS stage IV patients ( $n = 27$ ) was  $147.71 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 60.95 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $48.84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383.33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), and the mean ADC value of tumors from INSS stage III patients ( $n = 7$ ) was  $147.68 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 47.58 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $76.88 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $295.93 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ). The difference was not significant ( $p = 0.6$ ).

The mean ADC value of N-Myc-positive tumors ( $n = 11$ ) was  $138.94 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 57.37 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $55.54 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $279.68 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), and that of N-Myc-negative tumors ( $n = 17$ ) was  $151.91 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 61.73 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $48.84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383.33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ) (see Figure 2). Again, the difference was not significant ( $p = 0.2$ ).

The mean ADC value of all measurements of tumors from high-risk patients according to INRG ( $n = 26$ ) was  $141.43 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 59.27 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $48.84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383.33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ) and that of tumors in intermediate-risk patients according to INRG ( $n = 8$ ) was  $169.26 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 50.86 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $76.88 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $295.93 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ) (see Figure 2). This difference was significant ( $p = 0.02$ ) (see Figure 3).

The mean values are listed in Table 2.

A statement on the course of the disease was available for 70 measured values, and a corresponding reference point (BL) for the calculation of  $\Delta\text{ADC}$  values could be determined.

Of these, 24 values were measured during or at the end of an AB therapy cycle, 17 during or at the end of a chemotherapy cycle, one during or at the end of a radio-chemotherapy cycle, two during or at the end of a MiBG therapy cycle, two after an autologous stem cell transplantation, and 25 in the context of follow-up examinations after the end of therapy.

of one patient, three distinct lesions were evaluated, and in 13 MRI examinations of another patient, two lesions were evaluated. A total of three other patients also had two separate, distinct tumor manifestations and were also evaluated individually, but the two lesions were never displayed in the same MRI.

**Table 1.** Distribution of patients by INSS, IRDFs, INRG, and N-Myc status.

Total	34
INSS Stage	
III	7
IV	27
IRDFs	
≤1	4
≥2	22
INRG Stage	
intermediate-risk	8
high-risk	26
N-Myc	
wild-type	17
mutated	11
NI	6

In total, 142 ADC values were analyzed from the 40 tumor manifestations (an average of 4.18 ADC values  $\pm$  4.15 per patient; range: 2–26). Of these, 31 measurements were from prestaging examinations; 34 were from final staging examinations; 29 were from intermediate staging investigations; 41 were from follow-up investigations; and seven were from unspecified investigations.

The mean ADC of the tumors, regardless of the site of onset, of INSS stage IV patients ( $n = 27$ ) was  $147.71 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 60.95 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $48.84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383.33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), and the mean ADC value of tumors from INSS stage III patients ( $n = 7$ ) was  $147.68 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 47.58 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $76.88 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $295.93 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ). The difference was not significant ( $p = 0.6$ ).

The mean ADC value of N-Myc-positive tumors ( $n = 11$ ) was  $138.94 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 57.37 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $55.54 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $279.68 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), and that of N-Myc-negative tumors ( $n = 17$ ) was  $151.91 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 61.73 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $48.84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383.33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ) (see Figure 2). Again, the difference was not significant ( $p = 0.2$ ).

The mean ADC value of all measurements of tumors from high-risk patients according to INRG ( $n = 26$ ) was  $141.43 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 59.27 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $48.84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383.33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ) and that of tumors in intermediate-risk patients according to INRG ( $n = 8$ ) was  $169.26 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 50.86 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $76.88 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $295.93 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ) (see Figure 2). This difference was significant ( $p = 0.02$ ) (see Figure 3).

The mean values are listed in Table 2.

A statement on the course of the disease was available for 70 measured values, and a corresponding reference point (BL) for the calculation of  $\Delta\text{ADC}$  values could be determined.

Of these, 24 values were measured during or at the end of an AB therapy cycle, 17 during or at the end of a chemotherapy cycle, one during or at the end of a radio-chemotherapy cycle, two during or at the end of a MiBG therapy cycle, two after an autologous stem cell transplantation, and 25 in the context of follow-up examinations after the end of therapy.

of one patient, three distinct lesions were evaluated, and in 13 MRI examinations of another patient, two lesions were evaluated. A total of three other patients also had two separate, distinct tumor manifestations and were also evaluated individually, but the two lesions were never displayed in the same MRI.

**Table 1.** Distribution of patients by INSS, IRDFs, INRG, and N-Myc status.

Total	34
INSS Stage	
III	7
IV	27
IRDFs	
≤1	4
≥2	22
INRG Stage	
intermediate-risk	8
high-risk	26
N-Myc	
wild-type	17
mutated	11
NI	6

In total, 142 ADC values were analyzed from the 40 tumor manifestations (an average of 4.18 ADC values  $\pm$  4.15 per patient; range: 2–26). Of these, 31 measurements were from pre-staging examinations; 34 were from final staging examinations; 29 were from intermediate staging investigations; 41 were from follow-up investigations; and seven were from unspecified investigations.

The mean ADC of the tumors, regardless of the site of onset, of INSS stage IV patients ( $n = 27$ ) was  $147.71 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 60.95 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $48.84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383.33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), and the mean ADC value of tumors from INSS stage III patients ( $n = 7$ ) was  $147.68 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 47.58 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $76.88 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $295.93 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ). The difference was not significant ( $p = 0.6$ ).

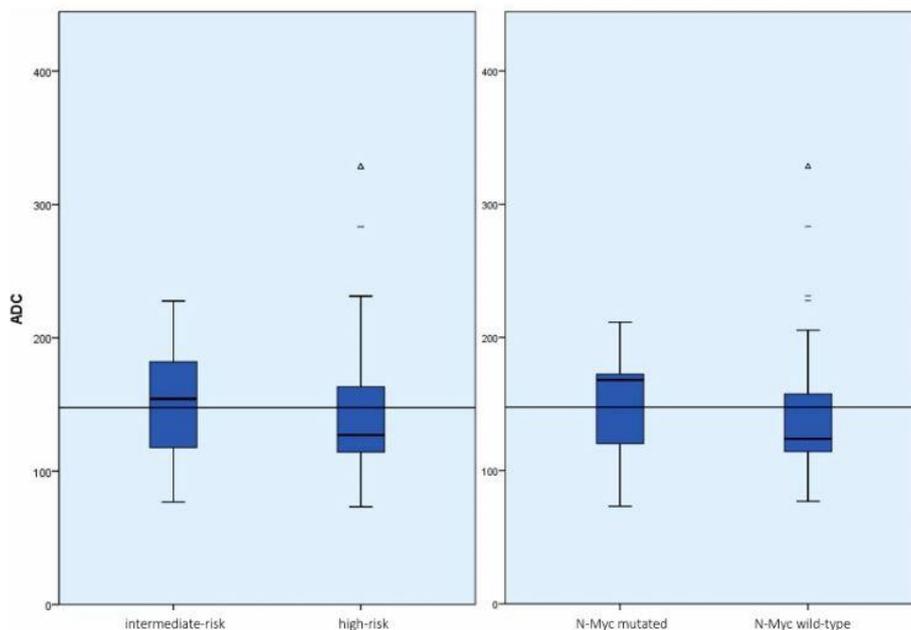
The mean ADC value of N-Myc-positive tumors ( $n = 11$ ) was  $138.94 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 57.37 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $55.54 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $279.68 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ), and that of N-Myc-negative tumors ( $n = 17$ ) was  $151.91 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 61.73 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $48.84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383.33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ) (see Figure 2). Again, the difference was not significant ( $p = 0.2$ ).

The mean ADC value of all measurements of tumors from high-risk patients according to INRG ( $n = 26$ ) was  $141.43 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 59.27 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $48.84 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $383.33 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ) and that of tumors in intermediate-risk patients according to INRG ( $n = 8$ ) was  $169.26 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 50.86 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$  (min.  $76.88 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ; max.  $295.93 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ) (see Figure 2). This difference was significant ( $p = 0.02$ ) (see Figure 3).

The mean values are listed in Table 2.

A statement on the course of the disease was available for 70 measured values, and a corresponding reference point (BL) for the calculation of  $\Delta\text{ADC}$  values could be determined.

Of these, 24 values were measured during or at the end of an AB therapy cycle, 17 during or at the end of a chemotherapy cycle, one during or at the end of a radio-chemotherapy cycle, two during or at the end of a MiBG therapy cycle, two after an autologous stem cell transplantation, and 25 in the context of follow-up examinations after the end of therapy.



**Figure 3.** Boxplot representation of the ADC values of the tumor manifestation divided into INRG risk groups (left) and N-Myc status (right) with the mean of all measurements plotted as a reference. While the ADC values as a function of N-Myc status did not differ significantly ( $p = 0.2$ ), the difference in ADC values for the INRG risk groups was statistically significant regardless of the location of the tumor ( $p = 0.02$ ). (dashes = mild outliers; triangles = extreme outliers).

**Table 2.** Mean ADC values (bold)  $\pm$  standard deviation (min. | max.) of all tumor manifestations depending on the clinical parameters and associated groupings or the molecular status. Within the respective parameter groups, there was only a significant difference in the ADC mean values stratified according to the INRG risk group between the high-risk group and the intermediate-risk group ( $p = 0.02$ ).

Clinical Groups	n	$\bar{\Delta}ADC \pm SD$ [ $10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ]	Min.   Max. [ $10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ]	<i>p</i>
INSS stage				
4	27	<b>147.71</b> $\pm$ 60.95	48.84   383.33	
3	7	<b>147.68</b> $\pm$ 47.58	76.88   295.93	0.6
N-MYC				
positive	11	<b>138.94</b> $\pm$ 57.37	55.54   279.68	
negative	17	<b>151.91</b> $\pm$ 61.73	48.84   383.33	0.2
INRG risk group				
high-risk	26	<b>141.43</b> $\pm$ 59.27	48.84   383.33	0.02
intermediate-risk	8	<b>169.26</b> $\pm$ 50.86	76.88   295.93	

Of the total of 70  $\Delta ADC$  values, 5 were  $\Delta ADC_{regress}$ , 50 were  $\Delta ADC_{stable}$ , and 15 were  $\Delta ADC_{progress}$ ; a total of 22 were  $er\Delta ADC$  values: 4  $er\Delta ADC_{regress}$ , 11  $er\Delta ADC_{stable}$ , and

seven  $er\Delta ADC_{progress}$  (there was an average of  $88.36 \text{ d} \pm 13.40 \text{ d}$  between the reference point and the examination under consideration).

The mean difference of the ADC value measured in the first examination compared to the ADC value of the last examination of all tumor manifestations was  $11.78 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 63.08 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ , which corresponds to a mean increase of  $20.43\% \pm 62.42\%$ .

The mean difference of all ADC values compared with a BL, as described above ( $n = 70$ ), was, on average,  $\Delta ADC = 3.36 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 40, 55 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ . This corresponds to a mean increase of  $3.86\% \pm 24.75\%$ .

The mean value of the  $\Delta ADC$  values with regress ( $n = 5$ ) was  $\Delta ADC_{regress} = 48.45 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 40.64 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ . This corresponds to a mean increase of  $31.34\% \pm 22.45\%$ .

The mean of the  $\Delta ADC$  values with stable disease ( $n = 50$ ) averaged  $\Delta ADC_{stable} = 8.65 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 26.70 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ . This corresponds to a mean increase of  $7.36\% \pm 20.62\%$ .

The mean value of the  $\Delta ADC$  values with progress ( $n = 15$ ) was  $\Delta ADC_{progress} = -29.31 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 53.92 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ . This corresponds to an average drop of  $16.96\% \pm 23.36\%$ .

The mean values of the  $\Delta ADC$  values in their entirety and by course of the disease are listed in Table 3.

**Table 3.** Mean  $\Delta ADC$  values (bold) in absolute and percentage terms based on the course of the disease. There was a significant ADC increase in tumor regression compared to stable disease and compared to progress (absolute  $p = 0.02$  or  $<0.01$ , percentage  $p = 0.01$  or  $<0.01$ ).

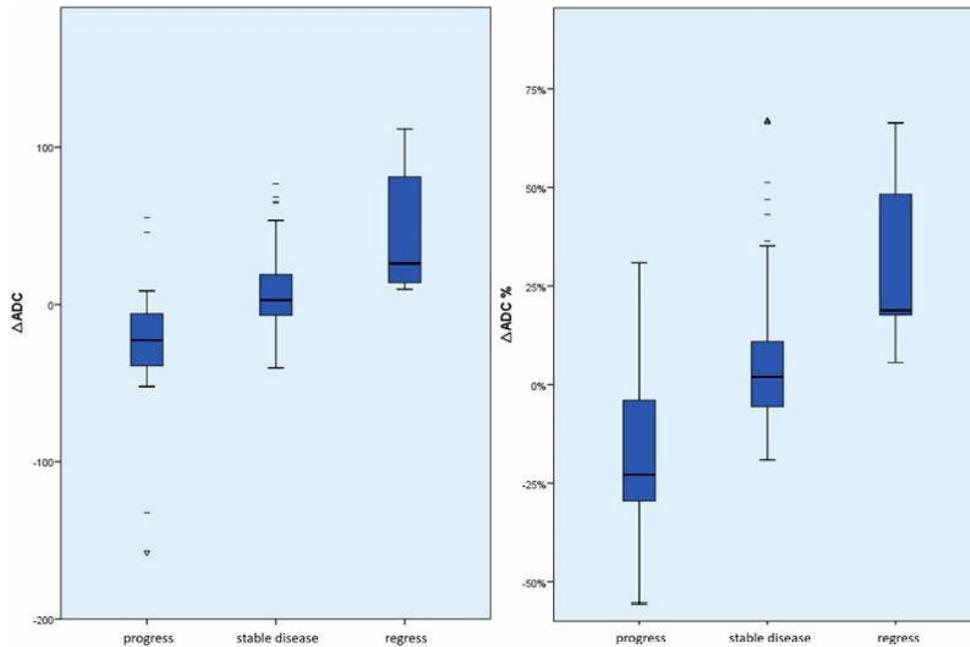
	n	$\Delta ADC \pm SD [10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}]$	$\Delta ADC \pm SD [\%]$	$p$ Compared to Regress (Absolute   Percentage)
total	70	<b>3.36</b> $\pm$ 40.55	<b>3.86</b> $\pm$ 24.75	
regress	5	<b>48.45</b> $\pm$ 40.64	<b>31.34</b> $\pm$ 22.45	
stable disease	50	<b>8.65</b> $\pm$ 26.70	<b>7.36</b> $\pm$ 20.62	0.02   0.01
progress	15	<b>-29.31</b> $\pm$ 53.92	<b>-16.96</b> $\pm$ 23.36	<0.01   <0.01

The differences between the mean  $\Delta ADC$  values (absolute and percentage) according to the course of the disease were significant between  $\Delta ADC_{regress}$  and  $\Delta ADC_{stable}$  (absolute  $p = 0.02$  and percentage  $p = 0.01$ ); between  $\Delta ADC_{progress}$  and  $\Delta ADC_{stable}$  (absolute and percentage each  $p < 0.01$ ); and between  $\Delta ADC_{regress}$  and  $\Delta ADC_{progress}$  (absolute and percentage each  $p < 0.01$ ) (see Figures 4 and 5). The effect size was always at least moderately to predominantly large ( $r > 0.3$ ).

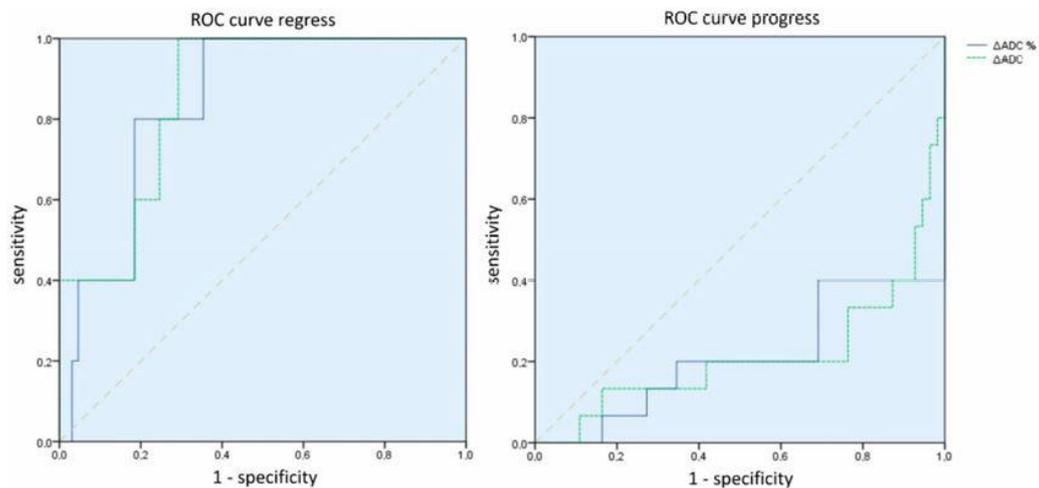
The evaluation of the  $er\Delta ADC$  values analogously to the evaluation of the  $\Delta ADC$  values resulted in the values presented in Table 4.

The differences between the mean  $er\Delta ADC$  values (absolute and percentage) according to the course of the disease were significant between  $er\Delta ADC_{regress}$  and  $er\Delta ADC_{stable}$  (absolute and percentage  $p = 0.01$ ) and between  $er\Delta ADC_{regress}$  and  $er\Delta ADC_{progress}$  (absolute  $p < 0.01$  and percentage  $p = 0.01$ ). The effect size was always at least moderate to large ( $r > 0.3$ ).

The differences between  $er\Delta ADC_{progress}$  and  $er\Delta ADC_{stable}$  were not significant (absolute  $p = 0.11$  and percentage  $p = 0.09$ ) (see Figures 6 and 7).



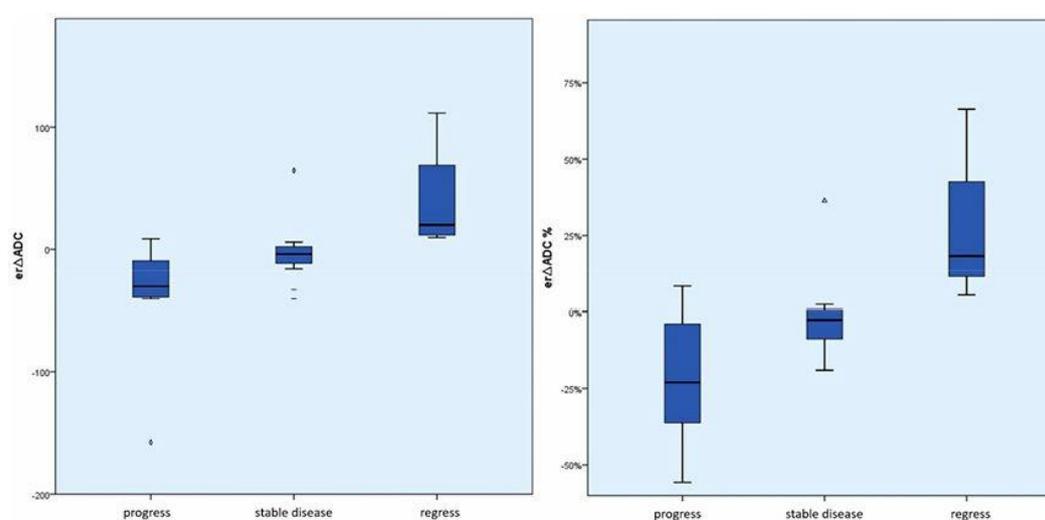
**Figure 4.** Box plot of the absolute or percentage  $\Delta ADC$  values according to the course of the disease. This shows an absolute and relative ADC increase in tumor regression compared to stable disease and tumor progression or an absolute and relative ADC decrease in tumor progression compared to stable disease and tumor regression. In particular, there were no negative  $\Delta ADC$  values in the case of tumor regression. (dashes = mild outliers; triangles = extreme outliers).



**Figure 5.** ROC curves of the absolute (green) and percentage (blue)  $\Delta ADC$  values for regress and progress prediction. It is shown that both an ADC decrease as a parameter in tumor progression and, in particular, an ADC increase as a parameter in tumor regression have a high ability to discriminate.

**Table 4.** Mean  $er\Delta ADC$  values (bold) in absolute and percentage terms based on the course of the disease. There was a significant absolute and relative ADC increase in the first 120 days after the start of therapy with tumor regression compared to stable disease and compared to progress (absolute  $p = 0.01$  or  $<0.01$ , percentage  $p = 0.01$ ).

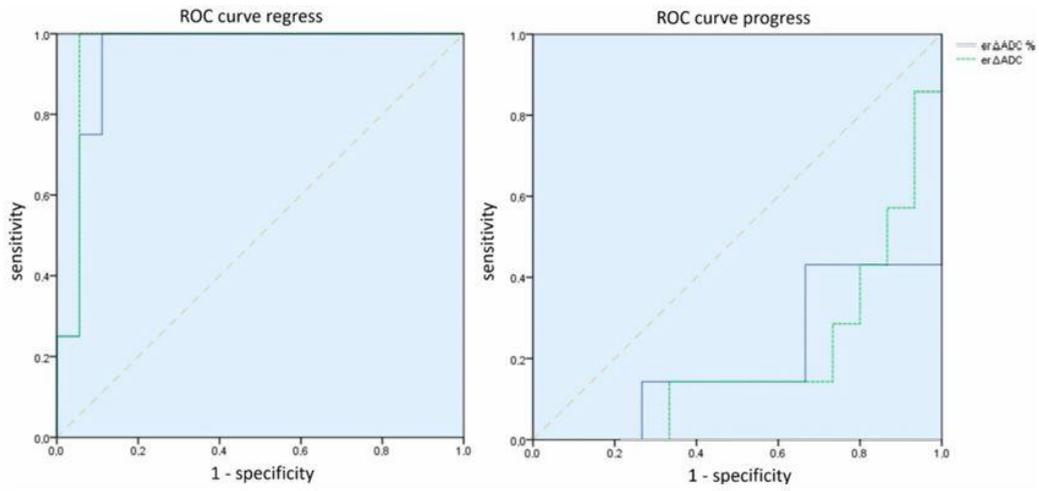
	n	$\bar{er}\Delta ADC \pm SD [10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}]$	$\bar{er}\Delta ADC \pm SD [\%]$	$p$ Compared to Regress (Absolute Percentage)
total	22	$-6.78 \pm 48.21$	<b><math>2.99 \pm 25.44</math></b>	
regress	4	<b><math>40.28 \pm 48.03</math></b>	<b><math>27.11 \pm 26.84</math></b>	
stable disease	11	$-3.11 \pm 26.85$	$-2.14 \pm 14.72$	0.01   0.01
progress	7	$-39.44 \pm 55.10$	$-21.51 \pm 23.21$	$<0.01$   0.01



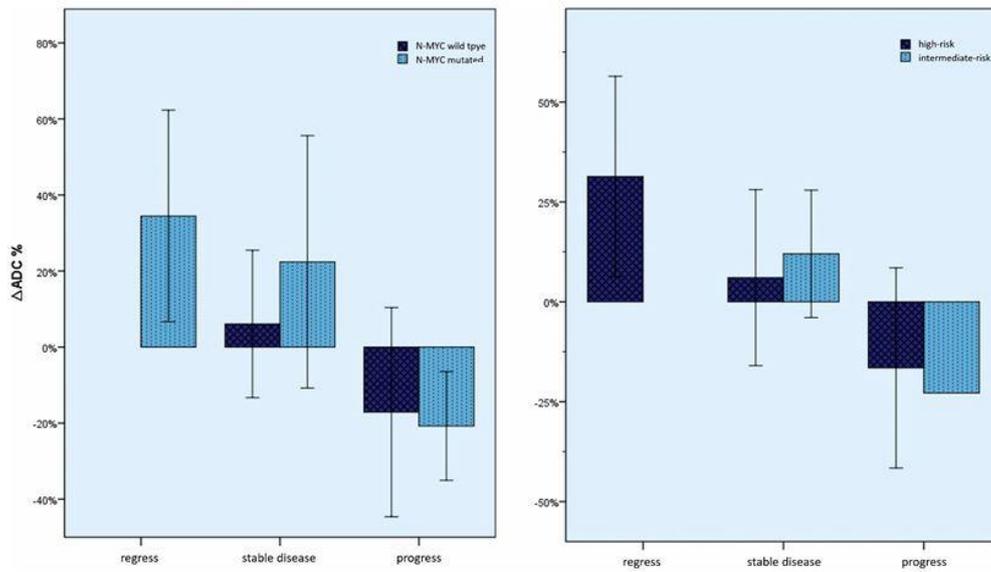
**Figure 6.** Box plot of the absolute or percentage  $er\Delta ADC$  values according to the course of the disease (outliers, min./max. in whiskers or individually). This shows an absolute and relative ADC increase in tumor regression compared to stable disease and tumor progression or an absolute and relative ADC decrease in tumor progression compared to stable disease and tumor regression. In particular, there were no negative  $er\Delta ADC$  values in the case of tumor regression. (dashes = mild outliers; triangles = extreme outliers).

Furthermore, the  $\Delta ADC$  values were also examined, considering the course of the disease as described above, using the clinical and human genetic parameters that were collected. As can be seen in Figure 8, there was no significant difference in the ADC changes between these groups.

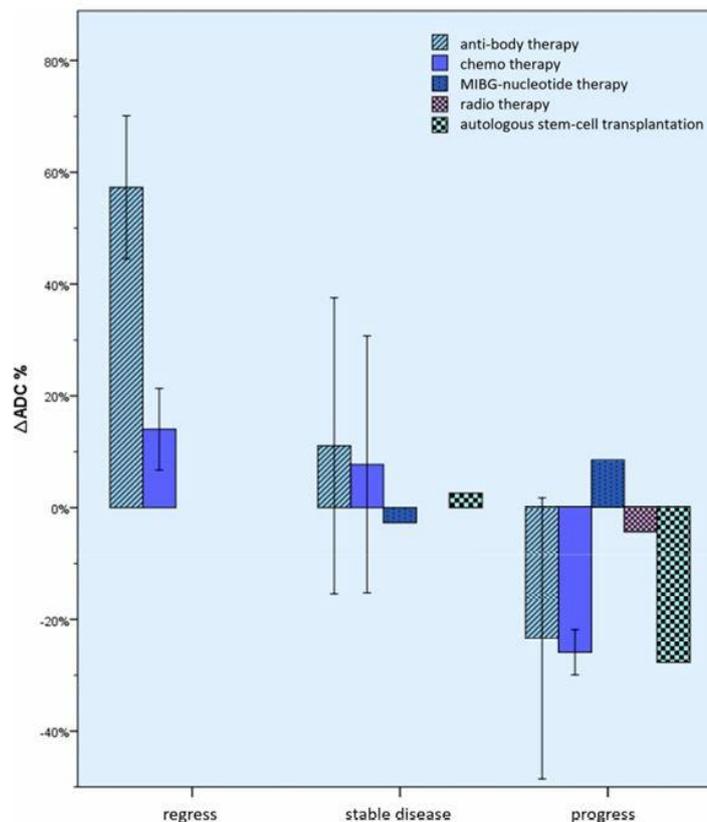
The  $\Delta ADC$  values were also examined according to the type of therapy while maintaining the order according to the course of the disease (Figure 9 and Table 5). For example, there was a mean increase in the ADC value of 57.32% in the case of both regression under antibody therapy and regression under chemotherapy,  $\pm 12.80\%$  or  $14.03\% \pm 7.31\%$  versus a  $23.41\% \pm 25.16\%$  decrease in ADC in case of progression with antibody therapy, and by  $25.88\% \pm 20.62\%$  with chemotherapy. However, here too, no significant differences could be seen between the changes depending on the type of therapy.



**Figure 7.** ROC curves of the absolute (green) and percentage (blue)  $er\Delta ADC$  values for regress and progress prediction. It is shown that both an ADC decrease as a parameter in tumor progression and, in particular, an ADC increase as a parameter in tumor regression have a high ability to discriminate.



**Figure 8.** Mean percentage  $\Delta ADC$  values (whiskers = 1 SD) by N-Myc status and by INRG risk groups. Significant differences could not be seen here between the changes depending on the N-Myc status or the INRG risk group.



**Figure 9.** Mean percentage  $\Delta ADC$  values (whiskers = 1 SD) according to the type of therapy and disease progression. Here, too, significant differences could not be seen between the changes depending on the type of therapy.

**Table 5.** Mean  $\Delta ADC$  values (bold)  $\pm$  SD according to the type of therapy and the course of the disease. Significant differences could not be seen between the changes depending on the type of therapy.

$\emptyset \Delta ADC \pm SD$	Anti-Body Therapy	Chemo Therapy	MIBG-Nucleotide Therapy	Radio Therapy	Stem-Cell Transplantation
n	23	17	2	1	2
total [ $10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ]	<b>-0.20</b> $\pm$ 62.48	<b>2.29</b> $\pm$ 20.78	<b>2.36</b> $\pm$ 8.86	-5.73	<b>-13.68</b> $\pm$ 27.76
total [%]	<b>3.09</b> $\pm$ 33.94	<b>4.89</b> $\pm$ 22.61	<b>2.92</b> $\pm$ 7.94	-4.31	<b>-12.55</b> $\pm$ 21.40
regress [ $10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ]	<b>96.35</b> $\pm$ 21.52	<b>16.52</b> $\pm$ 8.54			
regress [%]	<b>57.32</b> $\pm$ 12.80	<b>14.03</b> $\pm$ 7.31			
stable disease [ $10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ]	<b>12.85</b> $\pm$ 34.62	<b>4.77</b> $\pm$ 17.64	<b>-3.91</b>		<b>5.95</b>
stable disease [%]	<b>11.06</b> $\pm$ 26.50	<b>7.73</b> $\pm$ 22.99	<b>-2.70</b>		<b>2.57</b>
progress [ $10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ]	<b>-45.55</b> $\pm$ 69.41	<b>33.96</b> $\pm$ 5.32	<b>8.63</b>	-5.73	<b>-33.31</b>
progress [%]	<b>-23.41</b> $\pm$ 25.16	<b>-25.88</b> $\pm$ 4.05	<b>8.54</b>	-4.31	<b>-27.68</b>

#### 4. Discussion

MRI is usually the method of choice as a staging examination for childhood tumor diseases, as well as for neuroblastoma. The reasons for this are the lack of radiation exposure compared to X-ray-based methods, the high soft-tissue contrast, and good availability, as well as reproducibility [10,31]. The protocols used often include diffusion-weighted sequences so that an ADC is available [13,17,32]. The diagnostic added value of the ADC maps varies greatly. A possible application with direct added value for the patient could be the monitoring of a neuroblastoma disease under therapy. For example, purely morphological methods often do not provide satisfactory information about treatment response or treatment failure in the first few months after the start of therapy or changeover. Here, the change in the mean ADC value can serve as an indicator, as has been shown in this study.

The results presented here were able to demonstrate a connection between the ADC changes and the response to therapy, even within the first 120 days (four months) after the start of therapy.

However, the results are limited by the strong variance of the measured ADC values. Indicatively, a high standard deviation, independent of the categorization, stands out among all ADC values ( $\pm 63.08 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}$ ). There are multifactorial reasons for this: MRI examinations were obtained from multiple institutions and were created with devices from different manufacturers using different b values. Additionally, there were significant quality fluctuations and losses in terms of artefact avoidance and noise reduction. In particular, the performance of lengthy MRI sequences in children regularly suffers from compliance-related movement artifacts. The tumor inhomogeneity, in combination with the sometimes lower resolution of ADC maps, is a further source of strong fluctuations. Necrosis, cystic parts, and hemorrhages, as well as tumor desmoplasia, cannot always be reliably measured separately from solid tumor parts. Here, an attempt was made to ensure the most accurate possible delineation of the ROI by means of image fusion and subsequent control. Very small tumors could not be measured in isolated cases (see the exclusion criteria), so, for example, initial tumors in early stages and small, regressive residual tumors are possibly underrepresented. Furthermore, tumors in different localizations were examined. In addition to sometimes slightly different MRI sequences depending on the body, the local peritumoral tissue is naturally different. In the case of small tumors, it cannot be guaranteed that no local tissue is detected in the edge area of the ROIs. Diffuse and disseminated tumor infiltrates, especially in the case of metastases, are also possible. Here, tumor cells lie between local cells, so it can be assumed that the ADC value is not independent of the surrounding tissue.

In addition, classic limitations of the retrospective study design can also be identified: It was not possible to make a reliable chronological classification in relation to a therapy that took place for every examination, especially external ones. Missing or inaccurate information on therapies that sometimes took place in foreign-language countries can often no longer be completely and reliably reconstructed. Similar ambiguities about the long-term course of some tumor diseases could also not be resolved in some cases. In particular, follow-ups of other patients were often incomplete. Furthermore, molecular genetic investigations were not carried out for every patient, with the N-Myc status being assigned high prognostic relevance, which could consequently also be reflected in the ADC changes [6,7,9,33]. This led to a need for selective inclusion and exclusion criteria from the examinations and, thus, a smaller number of cases with analyzable measurements before and after therapy, despite an initially large collective. In particular, such examinations at the end of therapy with regression of the tumor were comparatively few. The poor prognosis and the expected low response to therapy of neuroblastomas in the advanced stages are also responsible for this.

Despite these limitations and obstacles, significant correlations between diffusion or ADC changes and response to therapy could be shown. A positive change in the ADC value corresponds to a higher probability of a therapy response and regression, and a drop

in the ADC value corresponds to a greater probability of progression. In particular, there were no negative  $\Delta ADC$  values in the case of tumor regression. On the other hand, small changes in the ADC value or the value remaining the same were particularly common in stable diseases. These correlations were even significantly detectable after a maximum of 120 days after the start of therapy.

$\Delta ADC_{stable}$  was, on average, slightly positive, suggesting a minimal change to the ultrastructure of the tumor. This might be due to a minimal response to therapy which is too insignificant to warrant classification as regression according to INRC. However, this remains speculative.

Our findings are in line with the previous publications on this topic [22–26] and fit the basic theoretical considerations that result from histopathological findings and the physical basis of the technique.

The knowledge gained here suggests that the changes in the ADC value can be evaluated as an additional radiological marker of therapy response. In particular, significant correlations between ADC changes and response to therapy could also be seen in the first 120 days after the start of therapy. Classic image morphological criteria are often not sufficient enough during this period to make a reliable statement regarding a therapy response. Here, an ADC value determination could provide further information and, thus, help to give an early prognosis regarding the success of a given therapy. Such information is of the highest relevance for a potential change of therapy or its discontinuation.

Whether a reliable prognosis should be made based on the ADC changes alone and whether definitive consequences for the therapy can be derived from this must be examined on the basis of prospective studies. Progressive studies could shed light on whether there are significant benefits for the patient from a therapy change based on the ADC changes.

The theoretical, underlying histological and physical relationships could be identified, similar to other tumor entities, [21,22,24,34] by means of a comparative study between pathological findings (especially cell density), the ADC value, and therapy success before and after the start of therapy.

The development of artificial intelligence-supported systems using deep learning, which can currently be observed in the diagnostic subjects, also allows the correlations seen here to be further consolidated and expanded. Systems of this type can already accurately carry out a large number of volumetric tasks. The ADC value that can be obtained in this way over several layers promises to be less susceptible to artifacts. It is also possible to feed deep learning algorithms with a large amount of information, of which the ADC value of the tumor is merely one part. Correlations with histological, molecular pathological, laboratory, chemical, and image morphological criteria are possible. The predictive importance of the ADC value cannot yet be definitively foreseen, but research, such as the current study, is already promising in this regard:

## 5. Conclusions

We were able to demonstrate a clear connection between ADC changes and response to therapy in neuroblastoma, even within the first 120 days of therapy: A positive change in the ADC value corresponds to a higher probability of a therapy response and regression, and a drop in the ADC value corresponds to a greater probability of progression.

**Author Contributions:** Conceptualization, N.H.; Methodology, N.A. and S.L.; Formal analysis, N.A. and S.L.; Resources, H.L.; Data curation, H.L.; Writing—original draft, N.A.; Writing—review & editing, S.L., U.F. and N.H.; Visualization, N.A.; Supervision, S.L. and N.H.; Funding acquisition, N.H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Institutional Ethics Committee of the University Hospital of Greifswald, Germany.

**Informed Consent Statement:** Patient consent was waived due to the anonymous and retrospective study-design.

**Data Availability Statement:** Data is unavailable for sharing due to privacy and ethical restrictions.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Berthold, F.; Spix, C.; Kaatsch, P.; Lampert, F. Incidence, Survival, and Treatment of Localized and Metastatic Neuroblastoma in Germany 1979–2015. *Paediatr. Drugs* **2017**, *19*, 577–593. [CrossRef] [PubMed]
- Simon, T.; Hero, B.; Schulte, J.H.; Deubzer, H.; Hundsdorfer, P.; von Schweinitz, D.; Fuchs, J.; Schmidt, M.; Prasad, V.; Krug, B.; et al. 2017 GPOH Guidelines for Diagnosis and Treatment of Patients with Neuroblastic Tumors. *Klin. Padiatr.* **2017**, *229*, 147–167. [CrossRef] [PubMed]
- Shimada, H.; Ambros, I.M.; Dehner, L.P.; Hata, J.I.; Joshi, V.V.; Roald, B. Terminology and morphologic criteria of neuroblastic tumors: Recommendations by the International Neuroblastoma Pathology Committee. *Cancer* **1999**, *86*, 349–363. [CrossRef]
- Shimada, H.; Ambros, I.M.; Dehner, L.P.; Hata, J.I.; Joshi, V.V.; Roald, B.; Stram, D.O.; Gerbing, R.B.; Lukens, J.N.; Matthay, K.K.; et al. The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system). *Cancer* **1999**, *86*, 364–372. [CrossRef]
- Uryu, K.; Nishimura, R.; Kataoka, K.; Sato, Y.; Nakazawa, A.; Suzuki, H.; Yoshida, K.; Seki, M.; Hiwatari, M.; Isobe, T.; et al. Identification of the genetic and clinical characteristics of neuroblastomas using genome-wide analysis. *Oncotarget* **2017**, *8*, 107513–107529. [CrossRef] [PubMed]
- Rickman, D.S.; Schulte, J.H.; Eilers, M. The Expanding World of N-MYC-Driven Tumors. *Cancer Discov.* **2018**, *8*, 150–163. [CrossRef]
- Nakazawa, A.; Haga, C.; Ohira, M.; Okita, H.; Kamijo, T.; Nakagawara, A. Correlation between the International Neuroblastoma Pathology Classification and genomic signature in neuroblastoma. *Cancer Sci.* **2015**, *106*, 766–771. [CrossRef]
- Louis, C.U.; Shohet, J.M. Neuroblastoma: Molecular pathogenesis and therapy. *Annu. Rev. Med.* **2015**, *66*, 49–63. [CrossRef]
- Huang, M.; Weiss, W.A. Neuroblastoma and MYCN. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2013**, *3*, a014415. [CrossRef]
- McCarville, M.B. Imaging neuroblastoma: What the radiologist needs to know. *Cancer Imaging* **2011**, *11*, S44–S47. [CrossRef]
- Cohn, S.L.; Pearson, A.D.; London, W.B.; Monclair, T.; Ambros, P.F.; Brodeur, G.M.; Faldut, A.; Hero, B.; Iehara, T.; Machin, D.; et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: An INRG Task Force report. *J. Clin. Oncol.* **2009**, *27*, 289–297. [CrossRef] [PubMed]
- Chen, A.M.; Trout, A.T.; Towbin, A.J. A review of neuroblastoma image-defined risk factors on magnetic resonance imaging. *Pediatr. Radiol.* **2018**, *48*, 1337–1347. [CrossRef] [PubMed]
- Swift, C.C.; Eklund, M.J.; Kravka, J.M.; Alazraki, A.L. Updates in Diagnosis, Management, and Treatment of Neuroblastoma. *Radiographics* **2018**, *38*, 566–580. [CrossRef] [PubMed]
- Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie. S1-Leitlinie 025-008 Neuroblastom (AWMF, AWMF Online, 2019). Available online: [https://register.awmf.org/assets/guidelines/025-008\\_S1\\_Neuroblastom\\_2019-07\\_01.pdf](https://register.awmf.org/assets/guidelines/025-008_S1_Neuroblastom_2019-07_01.pdf) (accessed on 23 January 2020).
- Newman, E.A.; Nuchtern, J.G. Recent biologic and genetic advances in neuroblastoma: Implications for diagnostic, risk stratification, and treatment strategies. *Semin. Pediatr. Surg.* **2016**, *25*, 257–264. [CrossRef] [PubMed]
- Mueller, I.; Ehlert, K.; Endres, S.; Pill, L.; Siebert, N.; Kietz, S.; Brock, P.; Garaventa, A.; Valteau-Couanet, D.; Janzek, E.; et al. Tolerability, response and outcome of high-risk neuroblastoma patients treated with long-term infusion of anti-GD(2) antibody ch14.18/CHO. *MAbs* **2018**, *10*, 55–61. [CrossRef] [PubMed]
- Nievelstein, R.A.; Littooi, A.S. Whole-body MRI in paediatric oncology. *Radiol. Med.* **2016**, *121*, 442–453. [CrossRef]
- Backens, M. Grundlagen und Technik der diffusionsgewichteten MR-Bildgebung und der Diffusions-Tensor-Bildgebung. *Der. Radiol.* **2015**, *55*, 762–770. [CrossRef]
- Baliyan, V.; Das, C.J.; Sharma, R.; Gupta, A.K. Diffusion weighted imaging: Technique and applications. *World J. Radiol.* **2016**, *8*, 785–798. [CrossRef] [PubMed]
- Chavhan, G.B.; Caro-Dominguez, P. Diffusion-weighted imaging in pediatric body magnetic resonance imaging. *Pediatr. Radiol.* **2016**, *46*, 847–857. [CrossRef]
- Surov, A.; Meyer, H.J.; Wienke, A. Correlation between apparent diffusion coefficient (ADC) and cellularity is different in several tumors: A meta-analysis. *Oncotarget* **2017**, *8*, 59492–59499. [CrossRef]
- Driessen, J.P.; Caldas-Magalhaes, J.; Janssen, L.M.; Pameijer, F.A.; Kooij, N.; Terhaar, C.H.J.; Grolman, W.; Philippens, M.E.P. Diffusion-weighted MR imaging in laryngeal and hypopharyngeal carcinoma: Association between apparent diffusion coefficient and histologic findings. *Radiology* **2014**, *272*, 456–463. [CrossRef] [PubMed]
- Partridge, S.C.; Nissan, N.; Rahbar, H.; Kitsch, A.E.; Sigmund, E.E. Diffusion-weighted breast MRI: Clinical applications and emerging techniques. *J. Magn. Reson. Imaging* **2017**, *45*, 337–355. [CrossRef] [PubMed]
- Jiang, R.; Ma, Z.; Dong, H.; Sun, S.; Zeng, X.; Li, X. Diffusion tensor imaging of breast lesions: Evaluation of apparent diffusion coefficient and fractional anisotropy and tissue cellularity. *Br. J. Radiol.* **2016**, *89*, 20160076. [CrossRef] [PubMed]

25. Ludwig, J.M.; Camacho, J.C.; Kokabi, N.; Xing, M.; Kim, H.S. The Role of Diffusion-Weighted Imaging (DWI) in Locoregional Therapy Outcome Prediction and Response Assessment for Hepatocellular Carcinoma (HCC): The New Era of Functional Imaging Biomarkers. *Diagnostics* **2015**, *5*, 546–563. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Demir, S.; Altinkaya, N.; Kocer, N.E.; Erbay, A.; Oguzkurt, P. Variations in apparent diffusion coefficient values following chemotherapy in pediatric neuroblastoma. *Diagn. Interv. Radiol.* **2015**, *21*, 184–188. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Kocaoğlu, M.; Bulakbaşı, N. Monitorization of chemotherapy response using diffusion-weighted imaging in neuroblastoma. *Diagn. Interv. Radiol.* **2016**, *22*, 108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Neubauer, H.; Li, M.; Müller, V.R.; Pabst, T.; Beer, M. Diagnostic Value of Diffusion-Weighted MRI for Tumor Characterization, Differentiation and Monitoring in Pediatric Patients with Neuroblastic Tumors. *Rofo* **2017**, *189*, 640–650. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Eisenhauer, E.A.; Therasse, P.; Bogaerts, J.; Schwartz, L.H.; Sargent, D.; Ford, R.; Dancey, J.; Arbuck, S.; Gwyther, S.; Mooney, M.; et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur. J. Cancer* **2009**, *45*, 228–247. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Park, J.R.; Bagatell, R.; Cohn, S.L.; Pearson, A.D.; Villablanca, J.G.; Berthold, F.; Burchill, S.; Boubaker, A.; McHugh, K.; Nuchtern, J.G.; et al. Revisions to the International Neuroblastoma Response Criteria: A Consensus Statement from the National Cancer Institute Clinical Trials Planning Meeting. *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35*, 2580–2587. [[CrossRef](#)]
31. Voss, S.D. Staging and following common pediatric malignancies: MRI versus CT versus functional imaging. *Pediatr. Radiol.* **2018**, *48*, 1324–1336. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Davidoff, A.M. Neuroblastoma. *Semin. Pediatr. Surg.* **2012**, *21*, 2–14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Brodeur, G.M.; Pritchard, J.; Berthold, F.; Carlsen, N.L.; Castel, V.; Castelberry, R.P.; De Bernardi, B.; Evans, A.E.; Favrot, M.; Hedborg, F. Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. *J. Clin. Oncol.* **1993**, *11*, 1466–1477. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Chen, X.; Li, W.L.; Zhang, Y.L.; Wu, Q.; Guo, Y.M.; Bai, Z.L. Meta-analysis of quantitative diffusion-weighted MR imaging in the differential diagnosis of breast lesions. *BMC Cancer* **2010**, *10*, 693. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

# Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät, keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Datum: 14.11.2023

---

Niklas Abele