

Aus der
Radiologischen Universitätsklinik Tübingen
Abteilung Diagnostische und Interventionelle Radiologie

Inaugural-Dissertation

**Computertomographische Texturanalyse zur Differenzierung
von chronischer lymphatischer Leukämie und diffus
großzelligem B-Zell-Lymphom bei Richter Transformation**

**zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Hofmann, Johannes Baptist

2024

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. M. S. Horger
2. Berichterstatter: Professorin Dr. E. Staebler

Tag der Disputation: 18.11.2024

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	6
Abkürzungsverzeichnis	7
Teil 1	8
1.1 Einleitung	8
1.2 Richter Transformation	9
1.2.1 Inzidenz	9
1.2.2 Prädisponierende Faktoren bei der Entstehung der Richter Transformation	9
1.2.3 Prognostische Faktoren bei Patienten mit einer Richter Transformation	9
1.2.4 Histopathologie der Richter Transformation	11
1.2.5 Vorgehensweise bei Verdacht auf eine Richter Transformation	12
1.2.6 Bildgebende Diagnostik	12
1.2.7 Histologie	13
1.2.8 Differenzialdiagnose	14
1.2.9 Pathogenese	15
1.2.10 Therapie	18
1.3 Chronische lymphatische Leukämie	23
1.3.1 Klinische Stadieneinteilung und Prognose	24
1.3.2 Prognostische Marker	26
1.3.3 Symptome	27
1.3.4 Laboranomalien	29
1.4 Computertomographie Texturanalyse	31
1.4.1 Grundkonzepte der Texturanalyse	31
1.4.2 Onkologische Anwendungen	33
1.4.3 Herausforderungen, Einschränkungen und Unbekannte	33
1.4.4 Zukünftige Richtungen und klinische Umsetzung	35
Teil 2	37
2.1 Zielsetzung	37
2.2 Methodik	38
2.1.1 CT Untersuchungsprotokoll	42

2.1.2	CT-Textur-Bildanalyse	43
2.1.3	Histologie	46
2.1.4	Statistische Auswertung	46
2.2	Ergebnisse	47
2.3	Diskussion	56
2.4	Zusammenfassung	63
	Literaturverzeichnis	65
	Eigenanteilserklärung	77
	Veröffentlichungen	78
	Danksagung	90

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Modifiziertes klinisches Rai-Staging-System für chronische lymphatische Leukämie (Rai & Montserrat, 1987)	25
Tabelle 2	Computertomographische Texturanalysewerte bei Patienten mit indolenter CLL (n = 26) und Patienten mit DLBCL des Richter-Syndroms (n = 18) auf CT-Bildern der portalvenösen Phase unter Verwendung eines Grobfilters.	48
Tabelle 3	Computertomographische Texturanalysewerte bei Patienten mit aggressiver CLL (n = 8) und Patienten mit DLBCL des Richter-Syndroms (n = 18) auf CT-Bildern der portalvenösen Phase unter Verwendung eines Grobfilters.	51
Tabelle 4	Computertomographische Texturanalysewerte bei Patienten mit indolenter und aggressiver CLL (n = 34) und Patienten mit DLBCL des Richter-Syndroms (n = 18) auf CT-Bildern der portalvenösen Phase unter Verwendung eines Grobfilters.	54

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Axiales Bild einer Computertomographie des Oberbauches bei einem Patienten mit Richter-Syndrom.	39
Abb. 2	Axiales Bild einer Computertomographie des Beckens bei einem Patienten mit Richter-Syndrom.	40
Abb. 3	Axiales Bild einer Computertomographie des Mittelbauchs bei einem Patienten mit CLL.	41
Abb. 4	Axiales Bild einer Computertomographie des Mittelbauchs bei einem Patienten mit CLL.	42
Abb. 5	Computertomografische Texturanalyse (CTTA) eines Patienten mit DLBCL aufgrund der Richter Transformation mit großen Lymphom-Massen im Retroperitoneum.	45
Abb. 6	ROC-Kurven zur Unterscheidung zwischen Patienten mit indolenter CLL und Patienten mit DLBCL, die durch das Richter-Syndrom verursacht wird.	49
Abb. 7	ROC-Kurven zur Unterscheidung zwischen Patienten mit aggressiver CLL und Patienten mit DLBCL, die durch das Richter-Syndrom verursacht wird.	52
Abb. 8	ROC-Kurven zur Unterscheidung zwischen Patienten mit sowohl aggressiver als auch indolenter CLL und Patienten mit DLBCL, die durch das Richter-Syndrom verursacht wird.	55

Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area under Curve
B2M	Beta-2-Mikroglobulin
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CT	Computertomographie
CTTA	Computertomographie Texturanalyse
DLBCL	Diffuses großzelliges B-Zell Lymphom
FDG	F-Fluordesoxyglucose
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungsanalyse
HL	Hodgkin-Lymphom
IGHV	Immunglobulin Heavy Chain Variable
LDH	Laktatdehydrogenase
LDT	Lymphozyten-Verdoppelungszeit
MRT	Magnetresonanztomographie
MVD	Mikrogefäßdichte
NPV	Negativer prädiktiver Wert
PC	Proliferationszentren
PET	Positronenemissionstomographie
PPV	Positiver prädiktiver Wert
ROI	Region of interest
ROC	Receiver Operating Characteristics
RS	Richter-Syndrom
RT	Richter-Transformation
SLL	Kleinzelliges lymphozytisches Lymphom
SUV	Standard uptake value
VOI	Interessenvolumen (Volume of interest)

Teil 1

1.1 Einleitung

Die chronische lymphatische Leukämie (CLL) ist gekennzeichnet durch die Akkumulation und Proliferation monoklonaler B-Zellen mit einem charakteristischen Immunphänotyp. Die CLL ist die häufigste Leukämie bei Erwachsenen in der westlichen Welt (Hallek et al., 2008). Die CLL zeigt eine Inzidenz von ca. 6/100 000 Einwohnern und ist damit die häufigste Leukämie in Deutschland. Im Geschlechtervergleich erkranken Männer häufiger als Frauen an der CLL (Relation 1,9:1,4). Das mediane Erkrankungsalter bei der Diagnose der CLL ist 73 Jahre und betrifft somit vorwiegend ältere Menschen (Barnes et al., 2016).

Die Richter Transformation (RT), oder das Richter-Syndrom, ist ein klinisch-pathologischer Begriff, der die rasche Entwicklung eines histologisch nachgewiesenen aggressiven Lymphoms bei einem Patienten mit CLL beschreibt (Lortholary et al., 1964). Das diffuse großzellige B-Zell Lymphom (DLBCL) ist bei Patienten mit einer RT am häufigsten zu sehen. In seltenen Fällen (9-13 %) kann bei einer RT auch ein klassisches Hodgkin Lymphom entstehen (Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006). Die Entwicklung eines Lymphoms bei einem CLL Patienten wurde erstmals von Maurice N. Richter im Jahre 1928 beschrieben. Dieser verwendete dafür damals den Ausdruck „generalised redicular cell sarcoma“. Der Begriff „Richter's syndrome“ wurde jedoch erst 1964 von Lortholary et al. verwendet, um ein neu aufgetretenes DLBCL bei 14 CLL Patienten zu beschreiben (Lortholary et al., 1964).

Wie zuvor beschrieben, erkranken die meisten Patienten mit einer RT an einem DLBCL. Eine Mehrzahl von Faktoren kann die Entstehung einer RT beeinflussen. Das durch eine RT entstandene DLBCL unterscheidet sich vom de novo DLBCL nicht nur im klinischen Bild der Erkrankung, sondern auch dessen Biologie (Tsimberidou & Keating, 2005).

1.2 Richter Transformation

1.2.1 Inzidenz

In der Zusammenschau vielfacher Studien konnte gezeigt werden, dass eine RT, nämlich die Transformation einer CLL zu einem DLBCL, in 10 % der Fälle entsteht (Tsimberidou & Keating, 2005). Die Inzidenzrate pro Jahr bei diesen Patienten beläuft sich auf 0,5-1 % (Jamroziak, Tadmor, Robak, & Polliack, 2015). Die Entwicklung einer RT entsteht häufiger bei Männern als bei Frauen (55-81%) und tritt meist zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr auf. Die mediane Zeit von der Diagnose einer CLL bis zur RT liegt im Bereich von zwei bis vier Jahren (Bendali et al., 2020).

1.2.2 Prädisponierende Faktoren bei der Entstehung der Richter Transformation

Die prädisponierenden Faktoren wurden erstmals in der Pilotstudie von Rossi et al. im Jahre 2008 beschrieben. Diese Studie beinhaltete 185 CLL Patienten und Patienten mit CLL und RT. Folgende Faktoren prädisponieren bei der Entstehung einer RT bei CLL Patienten (Rossi et al., 2008):

- Expression von CD38 (CD38 \geq 30 %)
- Stereotypisierter B-Zell Rezeptor
- Benutzung des IGHV4-39 Gen
- Telomerlänge < 5000 Basenpaare
- Lymphknoten > 3 cm
- Fehlen von del13q14

1.2.3 Prognostische Faktoren bei Patienten mit einer Richter Transformation

Historisch gesehen ging die Diagnose einer RT mit einer verheerenden Prognose mit einer mittleren Überlebenszeit von 5 bis 8 Monaten einher (Tsimberidou & Keating, 2005).

Eine der größten RT-Studien aus dem Jahre 2006 schloss 148 Patienten mit einer histologisch gesicherten RT ein. Von diesen 148 Patienten wurden 136 Patienten therapiert und davon 130 Patienten in der Studie verwertbar. Die Gesamt-Ansprechrates der verschiedenen Therapieregime war 39 %, wobei 12 % eine Komplettremission erfuhren (Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006).

Dieselbe Studie schlug den Richter's Transformation Score vor (Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006). Diese fünf Faktoren, die einen negativen Verlauf für Patienten mit einer Richtertransformation prognostizieren sind:

- Performance-Status (ECOG-Index) > 1
- Erhöhte Laktatdehydrogenase (LDH) > 1,5 × Normwert
- Thrombozytenzahl < 100 × 10⁹/l
- Tumorgroße > 5 cm
- Vorhergegangene Therapien > 1

Die Patienten wurden in vier Kategorien eingeteilt, basiert auf der Anzahl der Risikofaktoren zur Zeit ihrer Vorstellung: niedrige Risikokategorie (Score: 0-1), niedrige-mittlere Risikokategorie (Score: 2), mittlere-hohe Risikokategorie (Score: 3) und hohe Risikokategorie (Score 4-5). Die mittlere Überlebenszeit war in der niedrigen Risikogruppe 1,12 Jahre, in der niedrigen-mittleren Risikogruppe 0,9 Jahre, in der mittleren-hohen Risikogruppe 0,33 Jahre und in der hohen Risikogruppe 0,2 Jahre. (Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006)

Eine weitere Studie, welche 86 Patienten mit einer histologisch gesicherten RT untersuchte, zeigte eine mediane Überlebenszeit ab der Diagnosestellung einer RT von 19 Monaten. Anhand dieser Studie wurden die folgenden drei Faktoren aufgezeigt, welche eine verkürzte Überlebenszeit voraussagten (Fan et al., 2012):

- Patienten im einem Performance-Status > 1
- Ausbleiben einer vollständigen Remission nach Induktionstherapie für eine RT
- Nachweis einer TP53-Gendisruption nach molekularer Analyse

Patienten im einem Performance-Status > 1 hatten eine schlechte Prognose unabhängig von den beiden weiteren Faktoren. Diese Patienten hatten eine mediane Überlebenszeit von 7,8 Monaten. Von allen 86 Patienten hatten diejenigen die beste Prognose, welche einen Performance-Status < 1 sowie eine vollständige Remission nach Induktionstherapie als auch den fehlenden Nachweis einer TP53-Gendisruption hatten. Diese Patienten hatten eine 5-Jahresüberlebensrate von 70 %. Alle anderen Patienten mit einer RT hatten eine intermediäre Prognose und eine Überlebenszeit von 24,6 Monaten. (Fan et al., 2012)

Des Weiteren spielte die klonale Verwandtschaft zwischen der RT und der zugrunde liegenden CLL eine wichtige Rolle. Diese klonale Verwandtschaft wurde in 63 Patienten überprüft, davon waren 79 % der RT klonal verwandt. Die Patienten, welche ein nicht klonal verwandtes DLBCL aufwiesen, hatten eine signifikante längere mittlere Überlebenszeit, nämlich 63 Monate, als Patienten mit einem klonal verwandten DLBCL (mittlere Überlebenszeit: 14 Monate). Diese mittlere Überlebenszeit bei nicht klonal verwandten DLBCL ähnelten sehr der mittleren Überlebenszeit bei einer de novo DLBCL. Die Ergebnisse deuten an, dass ein Anteil der RT-Patienten mit einer nicht klonal verwandten DLBCL möglicherweise von dieser DLBCL geheilt werden könnten. Weitere prospektive Studien sind hierzu nötig, um zu bestätigen, dass nicht klonal verwandte DLBCL in Zusammenhang mit einer CLL ähnliche Prognosen erzielen wie eine de novo DLBCL. (Fan et al., 2012)

1.2.4 Histopathologie der Richter Transformation

Eine Biopsie eines betroffenen Lymphknotens oder eines betroffenen Organs ist notwendig, um die Diagnose der RT zu bestätigen. Die Probenentnahme kann sowohl durch eine Stanzbiopsie als auch durch eine Exzision erfolgen. Eine

Feinnadelaspiration ist nicht suffizient. Diese Erstdiagnose oder die Bestätigung der RT sollte von einem erfahrenen Pathologen im Bereich der Lymphomdiagnostik erfolgen.

Die Proben der RT zeigen große atypische Zellen mit zentroblastischer/immunoblastischer Morphologie. Über 80 % des DLBCL in einer RT weisen einen Keimzellcenter-Phänotyp auf (MUM1/RF4 Expression). Nur wenige Fälle zeigen eine Variation des Keimzellcenters (CD10 und BCL6 Expression) (Mao et al., 2007).

1.2.5 Vorgehensweise bei Verdacht auf eine Richter Transformation

Der behandelnde Arzt sollte den Verdacht auf eine RT stellen, wenn sich der Allgemeinzustand des CLL-Patienten rapide verschlechtert. Dazu gehört das Auftreten neuer B-Symptomatik, in Form von Nachtschweiß, Gewichtsverlust oder Fieber ohne Nachweis eines Infektionsherdes. Weitere Zeichen für eine mögliche neuentstandene RT ist die deutliche Vergrößerung der Lymphknoten (> 5 cm) sowie extranodale Manifestationen. Dazu gehören das Zentrale Nervensystem, die Augen, die Tonsillen, die Lunge, die Leber, der Magen, die Hoden und die Haut. Besonders muss auf ein rapides, ausgeprägtes Größenwachstum der nodalen und extranodalen Tumormanifestationen geachtet werden, bei denen häufig eine Größenverdopplung der größten Läsion innerhalb von 3 Monaten geschieht. Des Weiteren sollte auf eine Erhöhung der Serum Laktatdehydrogenase (LDH) oder des Kalziumspiegels geachtet werden (Hyperkalzämie). Die Hyperkalzämie kann mit oder ohne lytische Knochenläsion auftreten. Zusätzlich tritt eine Panzytopenie häufig auf. Auch eine monoklonale Gammopathie ist möglich. (Jain & O'Brien, 2012; Omoti & Omoti, 2008)

1.2.6 Bildgebende Diagnostik

Zur genauen Bestimmung des Ausgangsstadiums bzw. der Tumorausbreitung sollte zuerst eine weiterführende Schnittbildgebung mittels einer Computertomographie (CT) oder in seltenen ausgewählten Fällen, z.B. bei einer Allergie auf iodhaltiges Kontrastmittel, auch mittels einer Magnetresonanztomographie

(MRT) durchgeführt werden. Falls eine Biopsie notwendig ist, kann diese CT-gesteuert oder sonographisch-gesteuert durchgeführt werden.

Des Weiteren ist auch ein PET-CT (Positronen-Emissions-Tomographie) sehr hilfreich bei der Diagnosestellung. Hierzu wird der Tracer ^{18}F -Fluorodesoxyglucose (^{18}F -FDG) intravenös verabreicht. Die Aufnahme des Tracers im Untersuchungsgebiet kann wegweisend sein. Somit weisen in der Regel maximale Standard uptake values (SUV_{max})-Werte von $< 5-6$ eine progrediente CLL auf wobei im Falle von SUV_{max} -Werten von > 7 am ehesten eine RT vorliegt. Es besteht eine geringe Trennschärfe bei den SUV_{max} -Werten 5-7. Zusätzlich kann die Läsion mit der höchsten Aufnahme detektiert werden, um anschließend eine Biopsie durchzuführen. Besonders vor einer Biopsie bei Verdacht auf multiple Läsionen sollte ein PET-CT mit ^{18}F -FDG Tracer durchgeführt werden, um die bestmögliche Biopsiestelle zu erkennen. Nichtsdestotrotz bleibt das oberste Kriterium zur Entscheidung der Punktionstelle, ob der chirurgische oder bioptische Zugangsweg das möglichst niedrige Risiko für den Patienten darstellt (Bruzzi et al., 2006; Mauro et al., 2015; Papajik et al., 2014).

1.2.7 Histologie

Histologisch zeigt sich bei Patienten mit einer RT zumeist das Bild eines DLBCL (Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006). Nur eine Minderheit zeigt die histologischen Merkmale eines Hodgkin-Lymphoms (Bockorny, Codreanu, & Dasanu, 2012). In einigen Fällen haben die CLL Zellen und die Zellen in einer RT einen gemeinsamen klonalen Ursprung (Mao et al., 2007; Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006), wobei in anderen Fällen offenbar RT Zellen de novo entstanden sind (Matolcsy, Casali, & Knowles, 1995).

Die Diagnose der RT ist meist anspruchsvoll und sollte aus diesem Grund von einem erfahrenen Pathologen in den Gebiet Hämatookologie eingestuft werden. Diese Herausforderung der richtigen Diagnostik einer RT zeigte eine Studie, in der nur in 83 % der Fälle, die zuvor als RT identifiziert wurden, eine RT bestätigte. (Soilleux et al., 2016)

Die Diagnose einer RT des DLBCL-Typs kann schwierig sein, da eine progressive CLL bei Fehlen einer echten RT einen erhöhten Prozentsatz „large cells“ aufweisen kann. Die Diagnose der RT sollte auf Fälle mit konfluierenden Blättern von zentroblasten- oder immunoblastenartigen großen neoplastischen Zellen beschränkt werden. (Soilleux et al., 2016)

1.2.8 Differenzialdiagnose

Verschiedene Krankheitsbilder können sich ähnlich präsentieren wie der Verlauf einer RT. Eine ausführliche histopathologische Evaluation der befallenen nodalen oder extranodalen Bereiche ist essenziell zur Differenzierung dieser verschiedenen Krankheiten, welche wiederum von höchster Bedeutung ist, da sich die daraus resultierenden Therapien deutlich unterscheiden.

1.2.8.1 Beschleunigte CLL

Proliferationszentren (PC) sind das Merkmal des an der CLL beteiligten lymphatischen Gewebes. Eine beschleunigte CLL wird diagnostiziert, wenn die Patienten erweiterte Proliferationszentren aufweisen, die eine hohe Proliferationsrate aufweisen (entweder $> 2,4$ Mitosen/PC oder $Ki-67 > 40\%$ /PC). Die Patienten weisen in der Regel höhere LDH-Spiegel. Die mediane Überlebenszeit von Patienten mit akzelerierter CLL ist mit 34 Monaten deutlich länger im Vergleich zu Patienten mit RT, bei denen die mediane Überlebenszeit 4,3 Monate beträgt. (Gine et al., 2010)

1.2.8.2 M. Hodgkin Variante der Richter Transformation

Die Hodgkin-Variante der RT ist eine seltene Entität (Bockorny et al., 2012). Die Hodgkin-Variante der RT ist mit der Epstein-Barr-Virus (EBV)-Positivität assoziiert. Die Sternberg-Reed Zellen bei der Hodgkin-Variante der RT haben eine höhere CD20-Expression. Chemotherapieschemata, welche bei der Behandlung des Hodgkin-Lymphoms eingesetzt werden, sind mit schlechteren Ergebnissen im Vergleich zu den Ergebnissen beim primären Hodgkin-Lymphom verbunden (Abruzzo et al., 2002; Ansell, Li, Lloyd, & Phyllyk, 1999).

1.2.8.3 EBV-assoziierte lymphoproliferative Erkrankung

Patienten mit CLL haben inhärente Immundefekte, welche durch die Wirkung der Chemotherapie noch verstärkt werden können. Purinanaloga und monoklonale Antikörper wie Alemtuzumab können für die Reaktivierung des EBV in lymphatischen Geweben prädisponieren. Patienten mit einer EBV-assoziierten lymphoproliferativen Erkrankung können sich rasch vergrößernde Lymphknoten und progressive klinische Symptome aufweisen. Die histopathologische Beurteilung imitiert die eines altersbedingten DLBCL bei älteren Menschen (Asano et al., 2009) oder eines klassischen Hodgkin-Lymphoms, jedoch können diese Entitäten durch Experten der Hämatopathologie von einer EBV-assoziierten lymphoproliferativen Erkrankung unterschieden werden (durch das Vorhandensein anderer Marker des diffusen großzelligen B-Zell-Lymphoms, wie z.B. immunoblastische, zentroblastische Morphologie und MUM1/CD10/bcl2/bcl6-Expression in monoklonalen B-Zellen). Bei der EBV-assoziierten lymphoproliferativen Erkrankung ist die Morphologie polymorph, mit vorherrschender geographischer Nekrose. Der Krankheitsverlauf der EBV-assoziierten lymphoproliferativen Erkrankung ist sehr variabel und reicht von einer spontanen Regression bis hin zur Notwendigkeit einer Therapie (z.B. Monotherapie mit Rituximab oder Argininbutyrat mit Cidofovir). Bemerkenswert ist, dass eine Fehldiagnose dieser Entität bei DLBCL zu einer unnötigen Verabreichung einer intensiven Chemotherapie führen kann (Louissaint et al., 2012; Roschewski & Wilson, 2012).

1.2.9 Pathogenese

Die molekulare Pathogenese der RT ist wahrscheinlich ein komplexer, vielstufiger Prozess, welcher letztendlich zur Replikation eines malignen Klons eines germinalen oder post-germinalen B-Zell Ursprungs führt. Dieser Prozess manifestiert sich als ein DLBCL.

Es gibt 3 mögliche Ursprünge eines aggressiven Klons:

- Das diffuse großzellige B-Zell-Lymphom kann aus der zugrundeliegenden CLL entstehen.
- Das diffuse großzellige B-Zell-Lymphom kann eine Evolution von einem biklonalen Phänotyp in einer CLL darstellen.
- Das diffuse großzellige B-Zell-Lymphom kann einen neuen Klon darstellen.

In diversen Studien wurden Fälle anhand der Analyse von Immunglobulin-Isotypen (Harousseau et al., 1981), Gen-Rearrangements der schweren Immunglobulin-Kette (Tsimberidou & Keating, 2005) und chromosomalen Anomalien (Rossi et al., 2011) untersucht. Obwohl die DLBCL, welche durch Transformation anderer niedriggradiger Lymphome entsteht, fast immer klonal verwandt ist, wurde in ersten Berichten von RT festgestellt, dass die DLBCL nur in etwa 60 % der Fälle durch klonale Evolution aus der zugrunde liegenden CLL entsteht (Foon, Thiruvengadam, Saven, Bernstein, & Gale, 1993). Einige der Fälle in dieser ersten Studie hatten jedoch einen mehrdeutigen Ursprung und neuere Studien deuten darauf hin, dass die DLBCL und CLL häufiger klonale Ursprünge haben, und zwar in 90 bis 100 % der Fälle (Bea et al., 2002; Robertson et al., 1993). Signifikante Unterschiede im Immunphänotyp, zum Beispiel der Verlust von CD5 oder CD23, können bei der RT unabhängig von der klonalen Beziehung zur zugrunde liegenden CLL auftreten (Mao et al., 2007).

Der Erwerb neuer zytogenetischer Anomalien ist in der Entwicklung der CLL auch ohne histologische Transformation üblich, aber auch mit der RT assoziiert (Bea et al., 2002). Eine Studie, in der neun gepaarte CLL-Richter-Proben untersucht wurden, ergab, dass die CLL im Durchschnitt etwa 20 neue genetische Läsionen während des Transformationsprozesses erworben hat (Fabbri et al., 2013). Diese Studie zeigte, dass Mutationen von TP53 und NOTCH1 ebenso häufig vorkommen wie eine Störung von CDKN2A/2B, ein Ereignis, das zuvor nicht beschrieben, aber bei 30 % der Fälle dieser Kohorte beobachtet wurde (Fabbri et al., 2013). Eine multiinstitutionelle Studie von 86 Patienten mit RT berichtete, dass die häufigsten genetischen Anomalien mit einer Störung von TP53 (47 %) oder einer anomalen c-MYC-Expression (26 %) assoziiert waren (Rossi et al., 2011). Die Störung von TP53 trat häufiger bei DLBCL auf, die klonal mit CLL verwandt

war (60 gegenüber 23 %), während die c-MYC-Abweichung in Fällen, die klonal mit CLL verwandt oder klonal nicht mit CLL verwandt waren, ebenso häufig auftrat (jeweils etwa 30 %). Es wurde über eine ausgeprägte Aneuploidie mit einem normalen oder nahezu normalen Karyotyp bei RT berichtet, die aus einer zuvor unbehandelte CLL hervorging (Chena et al., 2002; Fitzgerald, McEwan, Hamer, & Beard, 1980).

Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungsstudien (FISH) an mikrodisssektierten großen Zellen im Knochenmark von CLL-Patienten mit RT haben eine höhere Inzidenz des Verlusts von 11q (ATM) und 17p (p53) sowie von Chromosom 20 in den größeren DLBCL-ähnlichen Zellen als in den benachbarten kleinen CLL-Zellen festgestellt (J. N. Lee et al., 2003). Andere spezifische Anomalien, die mit RT assoziiert sind, umfassen den Erwerb der Trisomie 12 (Brynes, McCourty, Sun, & Koo, 1995) sowie Verluste von 8p und Chromosom 9 (Bea et al., 2002).

Das Fehlen einer somatischen Hypermutation der variablen Region der schweren Immunglobulinkette (IgVH) bei der CLL ist mit einer fortschreitenden Erkrankung und einer schlechten Prognose assoziiert. Es überrascht nicht, dass einige wenige kleine Studien herausgefunden haben, dass die meisten Fälle von RT anscheinend auf diese IgVH-unmutierten CLLs zurückzuführen sind (Smit et al., 2006; Timar et al., 2004). Interessanterweise wiesen vier der fünf RT, die mit der zugrunde liegenden CLL nicht klonal waren, mutierte IgVH-Gene auf (Mao et al., 2007).

Es gibt jedoch einige Hinweise darauf, dass Fälle von RT die Fähigkeit zur somatischen Hypermutation erwerben, ähnlich wie viele Fälle von DLBCL. RT-Fälle zeigten höhere Werte von aktivierungsinduzierter Cytidin-Deaminase (AID) und Hypermutation von c-MYC, PAX-5 und RhoH, die hingegen nicht auftraten bei ihren Vorgänger-CLL oder CLL, die sich nicht transformierten (Reiniger et al., 2006; Smit et al., 2006).

Es wurde auch berichtet, dass Mutationen einzelner Tumorsuppressor- und Zellzyklus-Regulator-Gene mit RT assoziiert sind. TP53-Genmutationen sind häufig und wurden bei 3 von 7 RT-Tumoren im Vergleich zu 6 von 40 CLLs festgestellt (Gaidano et al., 1991).

Das Epstein-Barr-Virus (EBV) wurde intermittierend in die Pathogenese der RT verwickelt. Die größte pathologische Studie der Mayo-Klinik fand heraus, dass bei 4 von 25 (16 %) der Patienten mit DLBCL-RT der Nachweis von EBV im DLBCL durch Expression des latenten Membranproteins (LMP) oder EBV-DNA oder -RNA erfolgte (Ansell et al., 1999). Obwohl die pathogene Rolle des Virus unklar ist, sind die Beweise für seine Beteiligung wahrscheinlich am größten bei der Hodgkin-Lymphom-Variante der RT, bei der EBV in den RS-Zellen in der Mehrzahl der wenigen berichteten Fälle gefunden werden kann (Tsimberidou & Keating, 2005; Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006).

1.2.10 Therapie

1.2.10.1 Therapieoptionen der DLBCL Variante der RT

Die meisten Patienten mit der DLBCL Variante der RT werden mit einer Kombination aus Chemotherapeutika behandelt, welche auch bei Patienten mit einer de novo DLBCL verwendet werden, um in erster Linie die Krankheitssymptome zu mildern und die Krankheitslast zu minimalisieren. Leider ist eine Komplettremission nach Chemotherapie bei Patienten mit einer klonal verwandten RT, meist nur von kurzer Dauer und die Behandlung mit Chemotherapeutika allein ist lediglich ein palliativer Therapieansatz. Nichtsdestotrotz wurden Langzeitüberlebende bei zusätzlicher allogener Blutstammzellentransplantation nach chemosensitiver RT beschrieben. Unglücklicherweise ist die Zahl der für die Blutstammzellentransplantation geeigneten Patienten in stabiler Remission klein.

Die Evidenz bezüglich der Therapie der RT basiert zumeist auf prospektiven Daten einarmiger Studien sowie den Daten anderer aggressiver B-Zell Neoplasien. Aufgrund der nicht zufrieden stellenden Resultate mit den aktuell verfügbaren

Therapieoptionen, sollten Patienten mit einer RT ermutigt werden, wenn möglich, an klinischen Studien zu neuen Therapieoptionen teilzunehmen.

Da eine RT meist nicht lokalisiert auftritt, spielt die Radiotherapie meist eine untergeordnete Rolle und ist lediglich eine palliative Therapieoption. Analog zur Vorgehensweise einer DLBCL in einem begrenztem Stadium, ist eine adjuvante Radiotherapie dementsprechend nur in einer lokalisiert aufgetreten RT zu erwägen.

1.2.10.2 Chemotherapie der DLBCL Variante der Richter Transformation

In den meisten Fällen wird eine Kombination aus Anthrazyklin- oder platinhaltiger Chemotherapeutika Regime zur Behandlung der DLBCL Variante der RT gewählt (Parikh et al., 2013; Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006). Desweiteren kann die zusätzliche Gabe von Rituximab das Gesamtüberleben verlängern (Tadmor et al., 2014). Ein Beispiel hierfür ist R-CHOP-21 Therapie. R-CHOP-21 besteht aus der Immuntherapie mit dem anti-CD20 Antikörper Rituximab sowie einer Kombination der Chemotherapeutika Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin und Prednison. Die Therapie in 21-tägigen Intervallen verabreicht. Anthrazyklinhaltige Therapieoptionen, zumeist R-CHOP, konnten in einer einarmigen Phase II Studie Ansprechraten der DLBCL Variante der RT von 67 % sowie ein medianes Gesamtüberleben von 21 Monaten aufzeigen (Langerbeins et al., 2014).

Das Regime hyperCVXD (Chemotherapiekombination bestehend aus Cyclophosphamid, Vincristin, liposomalem Daunorubicin und Dexamethason) zeigten ein Gesamtansprechen in 40 % der Fälle. Leider führten jedoch die ergänzenden Substanzen Methotrexat und Zytosin-Arabinosid zu einer hohen Toxizität (Dabaja et al., 2001; Tsimberidou et al., 2003).

Eine weitere Option sind platinbasierte Chemoimmuntherapien, zum Beispiel OFAR, das sich aus den Bestandteilen Oxaliplatin, Fludarabin, Cytarabin und Rituximab zusammensetzt. In einer Studie wurden 20 RT-Patienten mit OFAR behandelt, wobei sich eine Gesamtansprechraten von 50 % und eine mediane

Ansprechdauer von 10 Monaten zeigte. Nichtsdestotrotz war die Überlebensrate nach 6 Monaten nur 59 % (Tsimberidou et al., 2008).

1.2.10.3 Stammzelltransplantation der DLBCL Variante der Richter Transformation

Komplettremissionen nach Chemotherapie sind von kurzer Dauer, wohingegen von Langzeitüberlebenden nach hämatopoetischer Zelltransplantation berichtet wurden. Dementsprechend ist eine nicht-myeloablative allogene hämatopoetische Zelltransplantation eine weitere Therapiemöglichkeit für diejenigen Patienten, welche für eine Transplantation in Frage kommen und bei denen eine erste Remission erreicht wurde (Kharfan-Dabaja et al., 2016).

Wenn die DLBCL-Variante RT klonal nicht mit der vorherigen CLL verwandt ist, ist eine Beobachtungsstrategie bis zur Progression eine akzeptable Alternative zur Konsolidierung mittels Transplantation für diejenigen Patienten, welche nach einer anfänglichen Anthrazyklin-basierten Kombinationschemotherapie eine Komplettremission erreicht haben. Wenn keine klonale Verwandtschaft festgestellt wird, können Patienten mit der DLBCL-Variante, die vor der RT keine Therapie der CLL erhalten haben und nach der anfänglichen Anthrazyklin-basierten Kombinationschemotherapie eine Komplettremission erreichen, gut ohne Transplantatkonsolidierung auskommen (Rossi et al., 2011; Wang et al., 2020).

Ein potenzieller Nutzen einer konsolidierten hämatopoetischen Zelltransplantation wurde in einer unizentrischen Studie von 20 Patienten mit RT, welche mit Chemotherapie oder Chemoimmuntherapie mit oder ohne hämatopoetische Zelltransplantation behandelt wurden, gezeigt (3 autologe, 17 allogene, davon 15 nicht-myeloablative) (Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006).

Die geschätzten Drei-Jahres-Gesamtüberlebensraten betragen (Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006):

- 75 % für Patienten, die sich nach einem objektiven Ansprechen auf eine vorherige Chemotherapie (d.h. Erreichen einer Komplettremission oder eines partiellen Ansprechens) einer allogenen hämatopoetischen Zelltransplantation unterzogen. 4 der 17 Patienten, die sich in diesem Bericht einer allogenen hämatopoetischen Zelltransplantation unterzogen, blieben in Komplettremission, wobei die progressionsfreien Überlebensraten zwischen einem und sechs Jahren lagen.
- 27 % bei Patienten mit objektivem Ansprechen auf die Chemotherapie, die keine konsolidierte hämatopoetische Zelltransplantation hatten.
- 21 % für Patienten mit rezidivierter oder refraktärer RT, die sich einer allogenen hämatopoetischen Zelltransplantation als Rettungstherapie unterziehen mussten.

Ein potenzieller Nutzen der hämatopoetischen Zelltransplantation wurde durch eine retrospektive, multizentrische Analyse von 59 Patienten mit RT, die sich einer hämatopoetischen Zelltransplantation unterzogen, weiter verstärkt (Cwynarski et al., 2012).

Autologe hämatopoetischen Zelltransplantation wurde bei 34 Patienten durchgeführt, von denen 28 eine Chemotherapie-sensitive Erkrankung dokumentiert hatten. Die geschätzte Drei-Jahres-Gesamtüberlebensrate und das rezidivfreie Überleben sowie die kumulative Inzidenz der rezidivierenden und nicht rezidivierenden Mortalität lagen bei 59, 45, 43 bzw. 12 %.

Allogene hämatopoetischen Zelltransplantation wurde bei 25 Patienten durchgeführt, von denen 16 eine Chemotherapie-sensitive Erkrankung dokumentiert hatten. In 18 Fällen wurde eine Konditionierung mit reduzierter Intensität durchgeführt. Die geschätzte Drei-Jahres-Gesamtüberlebenszeit, das rezidivfreie Überleben und die kumulative Inzidenz der rezidivierenden und nicht rezidivierenden Mortalität betragen 36, 27, 47 bzw. 26 %. Im Vergleich zu jüngeren Erwachsenen hatten diejenigen, die zum Zeitpunkt der hämatopoetischen Zelltransplantation über 60 Jahre alt waren, eine geringere geschätzte Drei-Jahres-Überlebensrate (17 versus 47 %) und eine reduzierte rückfallfreie Drei-Jahres-Überlebensrate (0 versus 42 %) (Cwynarski et al., 2012).

1.2.10.4 Aktivität zielgerichteter Therapien

Therapien, welche auf den B-Zell-Signalweg, die Regulierung von Immunkontrollpunkten und andere Wege abzielen, werden in der RT Forschung untersucht. Das Interesse an diesen zielgerichteten Therapien wurde durch die schlechten Ansprechraten der Kombinationschemotherapie bei Patienten mit dem histologischen Muster der DLBCL bei RT sowie durch das Aufkommen zielgerichteter Therapien bei CLL vorangetrieben. Während erste Studien mit gezielten Therapien bereits ein Ansprechen gezeigt haben, sind weitere Studien erforderlich, um die beste Art und Weise des Einsatzes dieser Therapiekonzepte bei Patienten mit RT zu bestimmen. Die folgenden Studien veranschaulichen die Erfahrungen mit einigen dieser Wirkstoffe:

- Venetoclax (BCL2-Inhibitor):
Partielles Ansprechen wurde bei drei von sieben Patienten mit RT beobachtet, die mit Venetoclax behandelt wurden (Davids et al., 2017).
- Ibrutinib (BTK-Inhibitor):
In einer Fallserie von vier Patienten mit RT führte Ibrutinib in zwei Fällen zu einer Komplettremission und zweimal zu partiellem Ansprechen, mit einer medianen Dauer der Ibrutinib-Therapie von sechs Monaten (Tsang et al., 2015).
- Pembrolizumab (PD-1-Inhibitor):
In einer Phase-2-Studie mit Pembrolizumab wurde bei vier von neun Patienten mit RT, die zuvor Ibrutinib erhalten hatten, ein Therapieansprechen beobachtet (bei 16 Patienten mit CLL wurde keine Aktivität beobachtet). Es gab eine Komplettremission. Bei einem medianen Follow-up von 10,4 Monaten hatten drei Patienten mit RT einen progredienten Krankheitsverlauf und vier waren verstorben (Ding et al., 2017).

1.2.10.5 Hodgkin-Lymphom-Variante

Für die Hodgkin-Lymphom (HL) Variante der RT sind die Daten zum Therapieansprechen begrenzt. Der Einsatz von Kombinationschemotherapien, die bei

Patienten mit fortgeschrittenen HL-Stadium eingesetzt werden, ist sinnvoll (z.B. ABVD: Doxorubicin, Bleomycin, Vinblastin und Dacarbazin).

Diejenigen Patienten, die eine Komplettremission erreichen, werden bis zur Progression beobachtet. Denjenigen Patienten, die keine Komplettremission erreichen, werden Schemata für ein refraktäres HL angeboten. Falls eine Komplettremission erreicht wird empfiehlt sich eine nicht-myeloablative allogene hämatopoetischen Zelltransplantation in der ersten Komplettremission durchzuführen, sofern dies möglich ist (Bockorny et al., 2012; Tsimberidou, O'Brien, Kantarjian, et al., 2006). Das Krankheitsverhalten und die klinischen Ergebnisse sind schlechter im Vergleich zum de-novo-HL, aber besser im Vergleich mit der DLBCL-RT (Tsimberidou, O'Brien, Kantarjian, et al., 2006).

Die Mehrheit der in der Literatur berichteten Patienten erhielt eine auf das HL ausgerichtete Kombinationschemotherapie, einschließlich ABVD oder MOPP (Mustargen, Vincristin, Procarbazin, Prednison) mit einer Ansprechrate von 44 % in der größten Serie und einigen Langzeitüberlebenden (Tsimberidou, O'Brien, Kantarjian, et al., 2006). In einer Studie lag die Komplettremissionsrate nach ABVD insgesamt bei 68 % (Mauro et al., 2017). Die Komplettremissionsrate wurde durch den International Prognostic Score und die Zeit seit der letzten CLL-Behandlung beeinflusst. Das Erreichen der Komplettremission mit ABVD war der einzige signifikante Prädiktor für das Überleben.

1.3 Chronische lymphatische Leukämie

Die chronische lymphatische Leukämie (CLL) gehört zu den B-Zell-chronischen lymphoproliferativen Erkrankungen. Es ist durch eine fortschreitende Anhäufung von funktionell inkompetenten Lymphozyten gekennzeichnet, die meist monoklonalen Ursprungs sind. (Thomas et al., 2002)

Bislang herrschte die allgemeine Auffassung, dass die CLL eine indolente Erkrankung ist, die mit einem langen (d. h. 10 bis 20 Jahre) klinischen Verlauf einhergeht und dass die letztendliche Todesursache nicht mit der CLL in Zusammenhang stehen kann. Diese Beobachtung trifft jedoch für weniger als 30 % aller

CLL-Fälle zu. Einige Patienten sterben schnell, innerhalb von zwei bis drei Jahren nach der Diagnose, an Komplikationen oder Ursachen, die direkt mit der CLL zusammenhängen. Andere Patienten leben 5 bis 10 Jahre mit einem anfänglichen, relativ gutartigen Verlauf, gefolgt von einer ein bis zwei Jahre dauernden Terminalphase. Während dieser terminalen Phase besteht eine erhebliche Morbidität, sowohl durch die Krankheit selbst als auch durch Komplikationen der Therapie. (Thomas et al., 2002)

Während der anfänglichen asymptomatischen Phase sind die Patienten in der Lage, ihre gewohnte Lebensweise beizubehalten, wohingegen sich der Leistungsstatus in der terminalen Phase verschlechtert mit wiederkehrender Notwendigkeit von stationären Krankenhausaufenthalten. Die häufigsten Todesursachen sind fulminante systemische Infektionen, insbesondere Pneumonie und Septikämie sowie Blutungen und Inanition mit Kachexie. Spontane klinische Rückbildung wurde berichtet, ist aber selten. (Thomas et al., 2002)

1.3.1 Klinische Stadieneinteilung und Prognose

Patienten mit CLL werden prognostisch nach dem Rai- und dem Binet-Staging-System auf der Grundlage der körperlichen Untersuchung und des vollständigen Blutbildes eingeteilt.

1.3.1.1 Rai-Staging-System

Das Rai-System basiert auf dem Konzept, dass es bei der CLL zu einer allmählichen Progression der Belastung des Körpers mit leukämischen Lymphozyten kommt, beginnend im Blut und Knochenmark (Lymphozytose), mit fortschreitender Beteiligung der Lymphknoten (Lymphadenopathie), der Milz und der Leber (Organomegalie) und schließlich mit einer Beeinträchtigung der Knochenmarkfunktion (Anämie und Thrombozytopenie). (Rai & Montserrat, 1987)

Tabelle 1 Modifiziertes klinisches Rai-Staging-System für chronische lymphatische Leukämie (Rai & Montserrat, 1987)

Risikostatus	Stadium	Beschreibung
Low	0	Lymphozytose im Blut oder Knochenmark
	I	Lymphozytose + Lymphadenopathie
Intermediate	II	Lymphozytose + Hepato- oder Splenomegalie mit oder ohne Lymphadenopathie
	III	Lymphozytose + Hämoglobin < 11 g/dL mit oder ohne Hepato-/Splenomegalie oder Lymphadenopathie
High	IV	Lymphozytose + Thrombozyten < 100 000/ μ L mit oder ohne Anämie, Hepato-/Splenomegalie oder Lymphadenopathie

1.3.1.2 Binet-Staging-System

Das Binet-Staging-System berücksichtigt die Lymphozyten- und Thrombozytenzahl den Hämoglobinwert sowie die Anzahl an betroffenen Regionen: zervikale, axilläre und inguinale Lymphknoten (unilateral oder bilateral), Milz und Leber (Binet et al., 1981):

- Stadium A: Lymphozytose und < 3 beteiligte lymphatische Regionen
- Stadium B: Lymphozytose und \geq 3 beteiligte lymphatische Regionen
- Stadium C: Hämoglobin < 10 g/dL und/oder Thrombozyten < 100 000/ μ L, unabhängig von der Anzahl der betroffenen Regionen

Dieses System ist von großem Stellenwert für die Stratifizierung von Patienten mit Überlebenskurven, die den Rai-Gruppen mit niedrigem Risiko, mittlerem Risiko bzw. hohem Risiko entsprechen (Binet et al., 1981).

Eine CT des Thorax, des Abdomens und des Beckens kann aufgrund der Symptome des Patienten durchgeführt werden. CT-Scans können Vergrößerungen

von retroperitonealen oder mediastinalen Lymphknoten aufzeigen, die nicht zu den fünf palpablen lymphatischen Areale gehören (Blum et al., 2007).

1.3.2 Prognostische Marker

Lymphozyten-Verdopplungszeit (LDT), Beta-2-Mikroglobulin, Immunglobulin Heavy Chain Variable (IGHV)-Genmutationsstatus und genetische Anomalien werden klinisch verwendet, um prognostische Informationen zu liefern oder die Therapie zu steuern. Der klinische Nutzen anderer prognostischer Marker (z. B. CD38, ZAP-70) ist weniger klar.

1.3.2.1 Lymphozyten-Verdoppelungszeit

Die LDT bezeichnet die Anzahl der Monate, die es dauert, bis sich die absolute Lymphozytenzahl verdoppelt. Dies kann eine Schätzung der Geschwindigkeit des Krankheitsverlaufs liefern, allerdings ist dieser Faktor in seiner Nützlichkeit etwas eingeschränkt, da die Messung Zeit benötigt. Eine tatsächliche oder prognostizierte LDT bei unbehandelten Patienten < 12 Monate ist mit einem progressiven Verlauf assoziiert und eine längere LDT mit einem indolenten Verlauf (Baumann et al., 2021).

1.3.2.2 Genetische Anomalien

Spezifische zytogenetische Anomalien, die durch eine Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungsanalyse (FISH) identifiziert werden, und Anomalien in bestimmten Genen, die durch molekulargenetische Tests identifiziert werden, haben eine prognostische Bedeutung bei Patienten mit CLL. Bei der Vorbehandlung von Patienten mit CLL wird routinemäßig eine FISH-Analyse des peripheren Blutes auf del(17p), del(11q), Trisomie 12 und del(13q) durchgeführt. Von diesen sind del(13q) und Trisomie 12 günstige prognostische Befunde. In der Vergangenheit waren Patienten mit del(17p) oder del(11q) einem hohen Risiko ausgesetzt, entweder nicht auf die anfängliche Behandlung anzusprechen oder bald nach Erreichen einer Remission einen Rückfall zu erleiden. Die Prognose von Patienten mit del(11q) hat sich durch den Einsatz bestimmter Behandlungsschemata (z. B.

Fludarabin, Cyclophosphamid, Rituximab) verbessert, während die Prognose von Patienten mit del(17p) oder TP53-Mutationen trotz dieser Behandlung schlecht bleibt (Dohner et al., 2000).

1.3.2.3 *Beta-2-Mikroglobulin*

Der Beta-2-Mikroglobulin (B2M)-Spiegel korreliert mit dem Krankheitsstadium und der Tumorlast bei Patienten mit CLL, wobei steigende Spiegel mit einer schlechteren Prognose einhergehen (Pflug et al., 2014).

1.3.2.4 *IGHV-Mutationsstatus*

Mutierte IGHV-Gene werden in den meisten Studien als mit mehr als 2 % Unterschied in der Nukleotidsequenz im Vergleich zur KeimbadannDNA definiert (Hamblin, Davis, Gardiner, Oscier, & Stevenson, 1999). Ungefähr die Hälfte der CLL-Klone weisen nicht mutierte variable Regionen der Immunglobulin-Schwerkette auf, ein Befund, der mit einem kürzeren Gesamtüberleben und einem höheren Rückfallrisiko nach konventioneller Behandlung, einschließlich Chemoimmuntherapie und hämatopoetischer Zelltransplantation, assoziiert ist (Hamblin et al., 1999; Pflug et al., 2014).

1.3.2.5 *CD38 und ZAP-70*

In mehreren Studien wird eine erhöhte Expression von ZAP-70 und CD38 mit nicht mutierten IGHV-Genen, einem höheren klinischen Stadium, einer größeren Tendenz zum Fortschreiten der Erkrankung, einem schlechten Ansprechen auf die Behandlung und einer kürzeren Überlebenszeit in Verbindung gebracht (Rassenti et al., 2008).

1.3.3 Symptome

Die meisten Patienten fühlen haben keinerlei Krankheitssymptome, wenn bei einem Routine-Blutbild eine absolute Lymphozytose festgestellt wird, was zur Diagnose CLL führt. Andere konsultieren einen Arzt, weil sie eine schmerzlose

Schwellung der Lymphknoten, oft im Halsbereich, festgestellt haben, die spontan zu- und abnimmt, aber nicht ganz verschwindet.

5 bis 10 % der Patienten weisen die typischen B-Symptome eines Lymphoms auf, zu denen eines oder mehrere der folgenden gehören (Hallek et al., 2018):

- Ungewollter Gewichtsverlust $\geq 10\%$ des Körpergewichts innerhalb der letzten sechs Monate
- Fieber von $> 38\text{ °C}$ für ≥ 2 Wochen ohne Anzeichen einer Infektion
- Nächtlicher Schweißausbruch ohne Nachweis einer Infektion
- Extreme Müdigkeit (d. h. ECOG-Leistungsstatus ≤ 2 ; Patient kann nicht arbeiten oder ist nicht in der Lage, übliche Aktivitäten durchzuführen)

1.3.3.1 Lymphadenopathie

Der häufigste abnorme Befund bei der körperlichen Untersuchung von Patienten mit CLL/kleinzelligem lymphozytischen Lymphom (SLL) ist die Lymphadenopathie, die in verschiedenen Studien bei 50 bis 90 % der Patienten auftritt. Die Lymphknotenvergrößerung kann generalisiert oder lokalisiert sein und einzelne Lymphknoten können in ihrer Größe stark variieren. Die am häufigsten betroffenen Stellen sind zervikal, supraklavikulär und axillär.

Charakteristischerweise sind die vergrößerten Knoten derb, abgerundet, nicht druckdolent und bei der Palpation frei beweglich. Ausnahmen von diesen Verallgemeinerungen sind anzutreffen, insbesondere wenn die Lymphknoten schnell gewachsen sind. Gelegentlich können mehrere vergrößerte Lymphknoten an derselben anatomischen Stelle (z. B. im Halsdreieck, in der Achselhöhle oder im femoral-inguinalen Bereich) zusammenfließen und große kugelförmige Lymphknotenmassen bilden. Darüber hinaus können vergrößerte Lymphknoten an anderen als den üblichen Stellen auftreten, z. B. über dem Kreuzbein oder dem Brustkorb (Binet et al., 1981).

1.3.3.2 Splenomegalie

Die Milz ist in 25 bis 55 % der Fälle palpatorisch vergrößert. Wie bei vergrößerten Lymphknoten ist eine vergrößerte Milz bei CLL in der Regel schmerzlos, mit einem scharfen Rand und einer glatten, festen Oberfläche. Schmerzen aufgrund eines Milzinfarkts sind ein ungewöhnliches Präsentationsmerkmal (Binet et al., 1981).

1.3.3.3 Hepatomegalie

Eine Vergrößerung der Leber kann zum Zeitpunkt der Erstdiagnose in 15 bis 25 % der Fälle festgestellt werden. Die Leber ist in der Regel nur leicht vergrößert. (Binet et al., 1981).

1.3.3.4 Haut

CLL-Zellen können jedes Organ infiltrieren, jedoch ist die Haut das am häufigsten erkannte nicht-lymphoide Gewebe, das zum Zeitpunkt der Diagnose betroffen ist, wahrscheinlich aufgrund der einfachen Untersuchung. Hautläsionen (Leukämie cutis) betreffen am häufigsten das Gesicht und können sich als Makel, Papeln, Plaques, Knötchen, Geschwüre oder Blasen manifestieren. Der Befall kann durch eine Biopsie der Hautläsionen bestätigt werden. Die Leukämie cutis tritt in weniger als 5 % der Fälle auf und hat keinen signifikanten Einfluss auf die Gesamtprognose, es sei denn, die Biopsie zeigt eine RT (Agnew, Ruchlemer, Catovsky, Matutes, & Bunker, 2004).

1.3.4 Laboranomalien

1.3.4.1 Lymphozytose

Die auffälligste Laboranomalie bei CLL ist die Lymphozytose im peripheren Blut und im Knochenmark. Obwohl der absolute Schwellenwert für die Diagnose einer CLL bei $> 5\,000/\mu\text{L}$ ($5 \times 10^9/\text{L}$) B-Lymphozyten liegt weist ein erheblicher Anteil der Patienten eine Anzahl von bis zu $100\,000/\mu\text{L}$ ($5 \times 10^9/\text{L}$) auf (Hallek et al., 2018). Obwohl das sehr ungewöhnlich ist, kann eine extreme Lymphozytose zu

Komplikationen aufgrund einer abnorm hohen Vollblutviskosität führen (z. B. transitorische ischämische Attacke, Schlaganfall) (Baer, Stein, & Dessypris, 1985).

1.3.4.2 Zytopenien

Neutropenie, Anämie und Thrombozytopenie können zum Zeitpunkt der Erstdiagnose beobachtet werden und sind normalerweise nicht schwerwiegend. Diese können mit einer autoimmunen hämolytischen Anämie, einer reinen Erythrozytenaplasie, einer autoimmunen Thrombozytopenie oder einer Agranulozytose zusammenhängen.

Patienten mit CLL haben eine erhöhte Inzidenz von autoimmunhämolytischer Anämie (AIHA). Der direkte Antiglobulin (Coombs)-Test kann im Krankheitsverlauf in bis zu 35 % der Fälle positiv sein; eine manifeste AIHA tritt in etwa 10 % der Fälle auf, meist im späteren Verlauf der Erkrankung. Eine reine Erythrozytenaplasie ist selten und tritt bei etwa 0,5 % der Patienten auf.

Wird jedoch mittels Knochenmarkspunktion und absoluter Retikulozytenzahl gezielt nach dieser Störung gesucht, kann eine reine Erythrozytenaplasie bei bis zu 6 % der Patienten mit CLL gefunden werden. Eine Immunthrombozytopenie (ITP) tritt bei 2 bis 3 % der Patienten mit CLL auf und kann das Ereignis sein, das den Patienten zunächst in ärztliche Behandlung bringt (Diehl & Ketchum, 1998).

1.3.4.3 Immunglobulinanomalien

Eine Hypogammaglobulinämie liegt bei etwa 25 % der Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose vor und kann sich bei bis zu zwei Dritteln der Patienten im späteren Verlauf der Erkrankung entwickeln. Normalerweise sind alle drei Immunglobulinklassen (IgG, IgA und IgM) erniedrigt, aber bei einigen Patienten können auch nur eine oder zwei Klassen erniedrigt sein. Signifikante Grade von Hypogammaglobulinämie und Neutropenie erhöhen die Anfälligkeit von CLL-Patienten für schwere bakterielle Infektionen. (Parikh et al., 2015)

1.4 Computertomographie Texturanalyse

Tumore im Allgemeinen sind heterogen nicht nur auf makroskopischer oder mikroskopischer Ebene, sondern auch auf der genetischen und phänotypischen Ebene. Sie zeigen eine räumliche Heterogenität in zellulärer Dichte, Nekrose und Angiogenese.

Diese beschriebene Heterogenität kann die Prognose und Behandlungsstrategien beeinflussen, indem heterogene Tumore meist mit einem aggressiven Verhalten und einer erhöhten Therapieresistenz einhergehen (Davnall et al., 2012).

Problematisch ist jedoch, dass die Heterogenität von Tumoren mit traditionellen bildgebenden Verfahren, der subjektiven Beurteilung von Bildern oder einer Stichprobenbiopsie, bei der nur ein kleiner Teil des Tumors beurteilt wird, schwierig zu erfassen und zu quantifizieren ist (Davnall et al., 2012).

Daher besteht ein Interesse an der Computertomographie Texturanalyse (CTTA), einem potenziell nützlichen Biomarker, der die Bewertung und Quantifizierung der räumlichen Heterogenität von Tumoren ermöglicht (Bashir, Siddique, McLean, Goh, & Cook, 2016).

In vielen bereits durchgeführten Studien hat die CTTA bei einer Vielzahl von Tumorarten vielversprechende Ergebnisse bei der Vorhersage pathologischer Merkmale, des Therapieansprechens und der Prognose gezeigt (Ganeshan, Panayiotou, Burnand, Dizdarevic, & Miles, 2012; Zhang et al., 2013).

Es gibt jedoch eine Vielzahl von Herausforderungen und Einschränkungen im Zusammenhang mit der CTTA, die weitere Untersuchungen erfordern, bevor dieses potenziell wertvolle Instrument für die allgemeine Anwendung flächendeckend einsatzbereit ist.

1.4.1 Grundkonzepte der Texturanalyse

Die Texturanalyse bietet eine objektive, quantitative Bewertung der Tumorerogenität durch die Analyse der Verteilung und Beziehung von Pixel- oder Voxel-Graustufen im Bild (Ganeshan & Miles, 2013).

Um das Verhältnis von Grauwerten im Bild zu beschreiben werden entweder kommerziell erhältliche oder firmeneigene Software-Tools verwendet. In einem statistisch basierten Modell werden Statistiken erster Ordnung die Graustufen-Häufigkeitsverteilung des Pixel-Intensitätshistogramm in einer Region of Interest (ROI) aus. Hierzu gehört Mean Intensity (durchschnittliche Intensität), Threshold (Prozentsatz der Pixel innerhalb einer ROI), Entropy (Unregelmäßigkeit), Standard deviation (Standardabweichung), Skewness (Schiefe) und Kurtosis (Wölbung des Pixel-Histogramms). Bei der Histogrammanalyse erster Ordnung wird die Lage der Pixel nicht berücksichtigt, sodass diese Analyse keine Aussagen zum räumlichen Zusammenhang zwischen den Grauwerten liefern kann.

Statistiken höherer Ordnung (wie z. B. second-order entropy, energy, homogeneity, dissimilarity, correlation, contrast und coarseness) können mit Hilfe von Nachbarschafts-Granton-Differenzmatrizen berechnet werden, die den Ort und die Beziehungen zwischen drei oder mehr Pixeln untersuchen. Merkmale höherer Ordnung haben den Vorteil, dass Voxel in ihrem lokalen Kontext ausgewertet werden können, wobei die Beziehung zu benachbarten Voxel berücksichtigt wird (Bashir et al., 2016).

Für die Durchführung von CTTA ist eine Postprocessing-Software erforderlich, die entweder ein kommerziell erhältliches Tool oder ein hauseigenes Design sein kann, die meisten davon sind CT-Anbieter-neutral. Die CTTA kann retrospektiv an Bildern durchgeführt werden, die in der gleichen Phase der Kontrastmittelverstärkung mit einer ähnlichen Technik gewonnen wurden; im Allgemeinen ist keine prospektive Aufnahme erforderlich. Die CTTA kann entweder an Einzelschnitten (z. B. größte Querschnittsfläche) oder an volumetrischen Datensätzen durchgeführt werden, um die Heterogenität des Tumors zu beurteilen (Ng, Kozarski, Ganeshan, & Goh, 2013).

Optional kann ein Bildfiltrationsschritt durchgeführt werden. Niedrigere Filterwerte entsprechen feinen Texturmerkmalen, während höhere Filterwerte mittlere oder grobe Texturmerkmale hervorheben. Darüber hinaus ist dieser Filterschritt

darauf ausgelegt, Rauschen zu entfernen und Kanten zu verbessern. (Davnall et al., 2012).

Bei der CT gab es einige Bedenken, dass die mit der Technik verbundene Heterogenität (Photonenrauschen) die zugrunde liegende echte biologische Heterogenität verdecken könnte. Jedoch wurde gezeigt, dass die Texturanalyse bei der CT durchführbar ist, indem der Effekt des Photonensrauschens durch Bildfilterung reduziert wird (Ganeshan, Burnand, Young, Chatwin, & Miles, 2011).

1.4.2 Onkologische Anwendungen

Potenzielle onkologische Anwendungen der CTTA bleiben ein aktives Forschungsgebiet. Diese Anwendungen fallen in drei Hauptkategorien: Charakterisierung von Läsionen, Beurteilung vor der Behandlung (sowohl von Primärtumoren als auch von metastasierenden Erkrankungen) und Beurteilung nach der Behandlung in Bezug auf die Heterogenität des Ausgangstumors zur Vorhersage des therapeutischen Ansprechens (Ganeshan, Panayiotou, et al., 2012; Zhang et al., 2013).

1.4.3 Herausforderungen und Einschränkungen

Obwohl sich die CTTA für eine Vielzahl von Anwendungen als vielversprechend erwiesen hat, steht sie noch immer vor Herausforderungen bei der klinischen Umsetzung und Anwendung. Die Art der durchgeführten Texturanalyse sowie der Segmentierung, die Nachbearbeitungstechniken (z. B. Filterung) und die Quantität und Qualität der Texturmerkmale (erster Ordnung, höherer Ordnung) variieren stark zwischen den verschiedenen Plattformen und Studien, was den Vergleich zwischen den Studien und die Reproduktion der Studienergebnisse erschwert. Derzeit gibt es keine einheitlichen Mess- oder Berichtsstandards (Summers, 2017).

Andere Faktoren, die zu einer Variabilität führen können, sind u. a. die Läsionsmorphologie, die Lokalisation und die Parameter für die Bilderfassung. Zum

Beispiel kann das Hintergrundorgan (Leber, Lunge) die Messung der Läsionstextur beeinflussen und bei kleinen Läsionen kann die Zählstatistik schlechter ausfallen (Lu, Ehmke, Schwartz, & Zhao, 2016; Shafiq-Ul-Hassan et al., 2017; Summers, 2017).

Die CTTA wird manchmal auf einem einzelnen Abschnitt des größten Querschnittsdurchmessers des Tumors durchgeführt (2D), während sie in anderen Fällen auf mehreren Abschnitten oder ganzen Tumorumfängen durchgeführt wird (3D). Es ist zwar intuitiv, dass die Durchführung einer volumetrischen Beurteilung mehr Daten liefern kann, aber es ist nicht klar, dass ein zusätzlicher Zeit- und Arbeitsaufwand, der mit der volumetrischen Beurteilung verbunden ist, notwendig ist (Ng et al., 2013). Obwohl die Reproduzierbarkeit für den Leser nicht umfassend beurteilt wurde, wurde gezeigt, dass Einzelschnittmessungen von Statistiken erster Ordnung ziemlich reproduzierbar sind (Smith et al., 2015).

Bei der Untersuchung mehrerer Läsionen ist nicht klar, wie die Daten am besten kombiniert werden können. Fraglich ist dabei, ob die Texturmerkmale mehrerer Zielläsionen summiert, gemittelt oder gewichtet werden oder ob die Medianwerte ausgewertet werden sollten. In ähnlicher Weise haben einige Studien bei der Beurteilung von Veränderungen der Texturmerkmale im Laufe der Zeit die prozentuale Veränderung bestimmter Texturmerkmale bewertet, während im Rahmen anderer Studien die absoluten Veränderungen oder Veränderungen über einen bestimmten Schwellenwert hinaus verwendet wurden.

Eine weitere große Herausforderung ist die schiere Menge der mittels CTTA erzeugten Daten. Die Untersuchung mehrerer Indizes in einem einzigen Datensatz kann zu einer signifikanten Inflation von Typ-I-Fehlern und zur Generierung falscher Ergebnisse führen. Eine Metaanalyse von mehreren CT- und PET-Texturanalysenstudien zeigte, dass viele der 15 eingeschlossenen Studien nach Anwendung einer statistischen Korrektur keine signifikanten Ergebnisse mehr zeigten. Die Anwendung statistischer Korrekturen, wie die sequentielle Holm-Bonferroni-Korrektur, oder Validierungsdatensätze können hilfreich sein, um die Richtigkeit

der identifizierten Assoziationen zu bestätigen. (Chalkidou, O'Doherty, & Marsden, 2015)

Obwohl in mehreren Studien Assoziationen zwischen Texturmerkmalen und pathologischen oder genetischen Merkmalen beschrieben wurden, ist die Erstellung aussagekräftiger pathologischer Korrelate eine Herausforderung. Die meisten, aber nicht alle Daten deuten darauf hin, dass heterogenere Läsionen oder Tumore mit größerer Wahrscheinlichkeit bösartig oder biologisch aggressiv sind und eine schlechtere Prognose haben und Tumore, die während der Behandlung homogener werden, scheinen auf die Therapie anzusprechen.

Darüber hinaus gibt es trotz der statistisch signifikanten Ergebnisse eine große Variabilität in den publizierten Daten und in der Stärke der beschriebenen Assoziation. Bei Tumoren, die mit antiangiogener Therapie behandelt werden, kann z. B. in einigen Studien entropy der beste Prädiktor für das Ansprechen sein, während in anderen Studien curtosis als bester Prädiktor für das Ansprechen angesehen wird. Ein Verständnis dessen, was diese Texturmerkmale auf pathologischer, phänotypischer und genetischer Ebene darstellen, kann helfen, zu klären, warum bestimmte Tumore diese unterschiedlichen radiomischen Profile aufweisen. Nahezu alle Publikationen zur CTTA stammen aus retrospektiven Einzelzentrumsstudien. In Zukunft sind große, multizentrische, prospektive, hypothesengetriebene Studien erforderlich, um die Texturanalyse als klinisches Instrument zu validieren. (Bashir et al., 2016)

1.4.4 Zukünftige Richtungen und klinische Umsetzung

Obwohl viele Fragen vor der Umsetzung in die klinische Praxis geklärt werden müssen, würde ein objektives Instrument wie die CTTA Radiologen ermöglichen, zusätzliche und robustere CT-Daten aus bereits laufenden Studien zu erhalten. Obwohl es äußerst unwahrscheinlich ist, dass die CTTA jemals eine Gewebeentnahme verdrängen oder eine definitive Charakterisierung von Läsionen ermöglichen würde, könnte der Radiologe dennoch ein Gefühl dafür bekommen, wie heterogen eine Läsion ist, wenn es gelingt, eine ROI zu platzieren und objektive

Texturmerkmale wie die Entropie zu bewerten, wie wir Hounsfield-Einheiten messen würden. Im Allgemeinen können Läsionen, die heterogener sind, den Radiologen aufgrund potentieller Malignität bzw. biologischer Aggressivität zu zusätzlichen diagnostischen Schritten bewegen, z.B. entweder mit zusätzlicher Bildgebung oder mit einer Biopsie. Während Radiologen dies bereits subjektiv tun, würde ihnen die CTTA eine objektivere Beurteilung ermöglichen und möglicherweise ihre diagnostische Sicherheit verbessern.

Es wäre hilfreich, allgemeine Richtlinien darüber zu haben, welche Texturmerkmale am hilfreichsten sind. Des Weiteren wäre es sinnvoll, allgemeine Schwellenwerte für das, was eine heterogene Läsion charakterisiert, zu erurieren und Richtlinien für Bildgebungsparameter für bestimmte Texturmerkmale und Schwellenwerte festzulegen. Diese Arten von Merkmalen könnten in entscheidungsunterstützende oder computergestützte Diagnosewerkzeuge integriert werden.

Die CTTA könnte bei der gezielten Biopsie hilfreich sein kann, wenn höhergradige Merkmale in heterogeneren Bereichen einer Läsion gesehen werden. Die CTTA kann auch bei der Beurteilung der Übereinstimmung von Biopsieergebnissen mit früheren bildgebenden Befunden hilfreich sein. Wenn eine Läsion bei der Bildgebung heterogener oder aggressiver erscheint, aber ein gutartiges Biopsieergebnis zeigt, kann dies den Radiologen dazu veranlassen, eine Wiederholung der Biopsie oder eine enge bildgebende Nachuntersuchung in Betracht zu ziehen.

Teil 2

2.1 Zielsetzung

Das Ziel dieser Dissertation ist es, die Hypothese zu testen, dass sowohl die indolente als auch die aggressive chronische lymphatische Leukämie von dem diffusen großzelligen B-Zell-Lymphom des Richter-Syndroms durch die CT-Texturanalyse der beteiligten Lymphknoten differenziert werden kann.

Da eine CLL sich durch das Richter Syndrom meist in eine DLBCL transformiert, ist es von höchster Bedeutung für den Patienten und die Prognose der Erkrankung, schnellstmöglich zwischen den zwei Lymphomtypen zu unterscheiden, um unmittelbar die passende Therapie zu beginnen, welche sich für beide Lymphomtypen deutlich unterscheidet (Langerbeins et al., 2014).

Aus klinischer Sicht ist die Differenzierung zwischen den beiden Lymphomtypen schwierig. Die Unterscheidung basiert hauptsächlich auf Bewertung von Risikofaktoren. Des Weiteren ist die Differenzierung beider Lymphomtypen mithilfe bildgebender Verfahren schwierig. Es bedarf einer strikten Kontrolle, um eine diskrete Entwicklung bekannter CLL/SLL-Manifestationen sowie neu aufgetretene Organbeteiligung, große Nekrosegebiete usw. zu erkennen. Meistens ist dafür eine invasive Diagnostik mittels einer Biopsie zur Differenzierung notwendig (Federmann, Mueller, Steinhilber, Horger, & Fend, 2018).

Die generierten CT Texturdaten sollen diesbezüglich ultrastrukturelle Gewebsunterschiede sowie Unterschiede in der Intensität und Verteilung der Vaskularisation zwischen den zwei Lymphom-Subtypen darstellen.

Im Falle von statistisch signifikanten Unterschieden der CT Texturparameter bei verschiedenen Lymphomtypen, könnten in dieser Hinsicht Cut-off-Werte errechnet werden, um diese neu gewonnen Erkenntnisse auch in Zukunft anzuwenden, um die zwei verschiedenen Lymphomtypen voneinander zu unterscheiden. Dies könnte eine nicht-invasive Erkennung des Richter-Syndroms ermöglichen, welche von hohem prognostischen Wert für die Patienten ist.

2.2 Methodik

Diese retrospektive, unizentrische Studie wurde in der Abteilung für radiologische Diagnostik und interventionelle Radiologie am Universitätsklinikum Tübingen durchgeführt. Es bestand eine Zusammenarbeit mit dem Institut der Pathologie der Universität Tübingen. Zunächst führten wir eine retrospektive Suche in unserem Krankenhausinformationssystem nach Patienten durch, die sich zwischen März 2011 und Mai 2017 einer kombinierten kontrastmittelverstärkten CT und einer Gewebeentnahme mit subsegmentaler histopathologischer Auswertung für das Richter-Syndrom bei CLL unterzogen. Das Studienprotokoll und die retrospektive Auswertung der patientenspezifischen Daten wurden von der lokalen institutionellen Ethikkommission überprüft und genehmigt (Projekt Nr. 467/2018). Wir identifizierten retrospektiv insgesamt 52 Patienten, darunter Patientin mit indolenter CLL (n = 26), aggressiver CLL (n = 8) und DLBCL, verursacht durch das Richter-Syndrom (n = 18), welche sich zum Zeitpunkt der Diagnose einer kontrastmittelverstärkten CT unterzogen. Alle Patienten mit indolenter CLL wurden nach der Binet-Klassifikation in A (n = 12), B (n = 12) oder C (n = 2) eingeteilt (Binet et al., 1981). Entsprechend wurden die Patienten mit aggressiver CLL als Binet A (n = 2), Binet B (n = 4) oder Binet C (n = 2) klassifiziert. Die aggressive (beschleunigte) CLL-Untergruppe wurde klinisch und radiologisch durch eine höhere Wachstumsdynamik der beteiligten Lymphknoten definiert, die durch die CT-Bildgebung dokumentiert wurde. In den nachfolgenden CT Bildern (Abb. 1 bis 4) werden Beispiele der retrospektiv ausgewählten Patienten gezeigt mit den dazugehörigen lymphomtypisch vergrößerten Lymphknoten und weiteren lymphomassozierten viszerale Manifestationen.

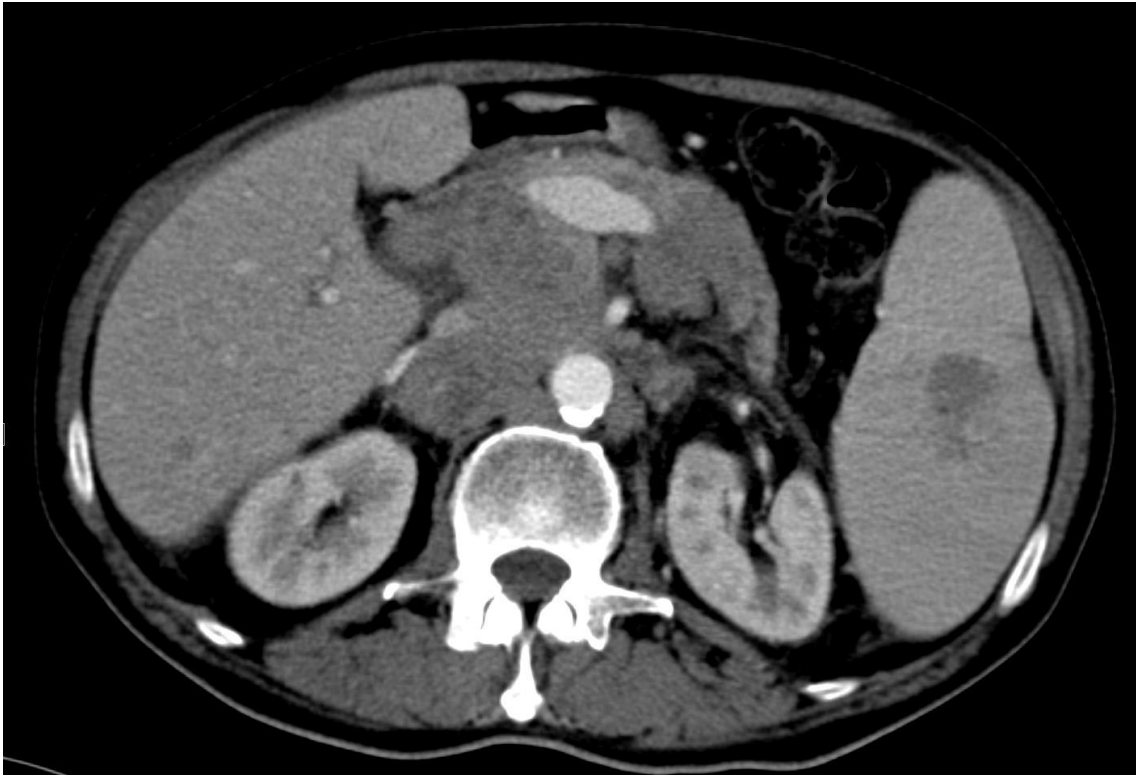


Abb. 1 Axiales Bild einer Computertomographie des Oberbauches bei einem Patienten mit Richter-Syndrom.

69-jähriger CLL Patient mit ausgeprägten, deutlich vergrößertem retroperitonealen Lymphknotenkonglomerat. Des Weiteren zeigen sich eine Splenomegalie mit zentraler hypodenser Läsion und hypodense Läsionen der Leber, welche mit einem Lymphombefall der Leber und Milz vereinbar sind. Bei Verdacht auf das Vorliegen einer Richter Transformation, konnte diese nach Punktion der retroperitonealen Lymphknoten histologisch bestätigt werden.



Abb. 2 Axiales Bild einer Computertomographie des Beckens bei einem Patienten mit Richter-Syndrom.

84-jähriger CLL Patient mit ausgeprägten, deutlich vergrößerten inguinalen Lymphknoten beidseits. Bei Verdacht auf das Vorliegen einer Richter Transformation, konnte diese nach Punktion eines inguinalen Lymphknotens rechts histologisch bestätigt werden.

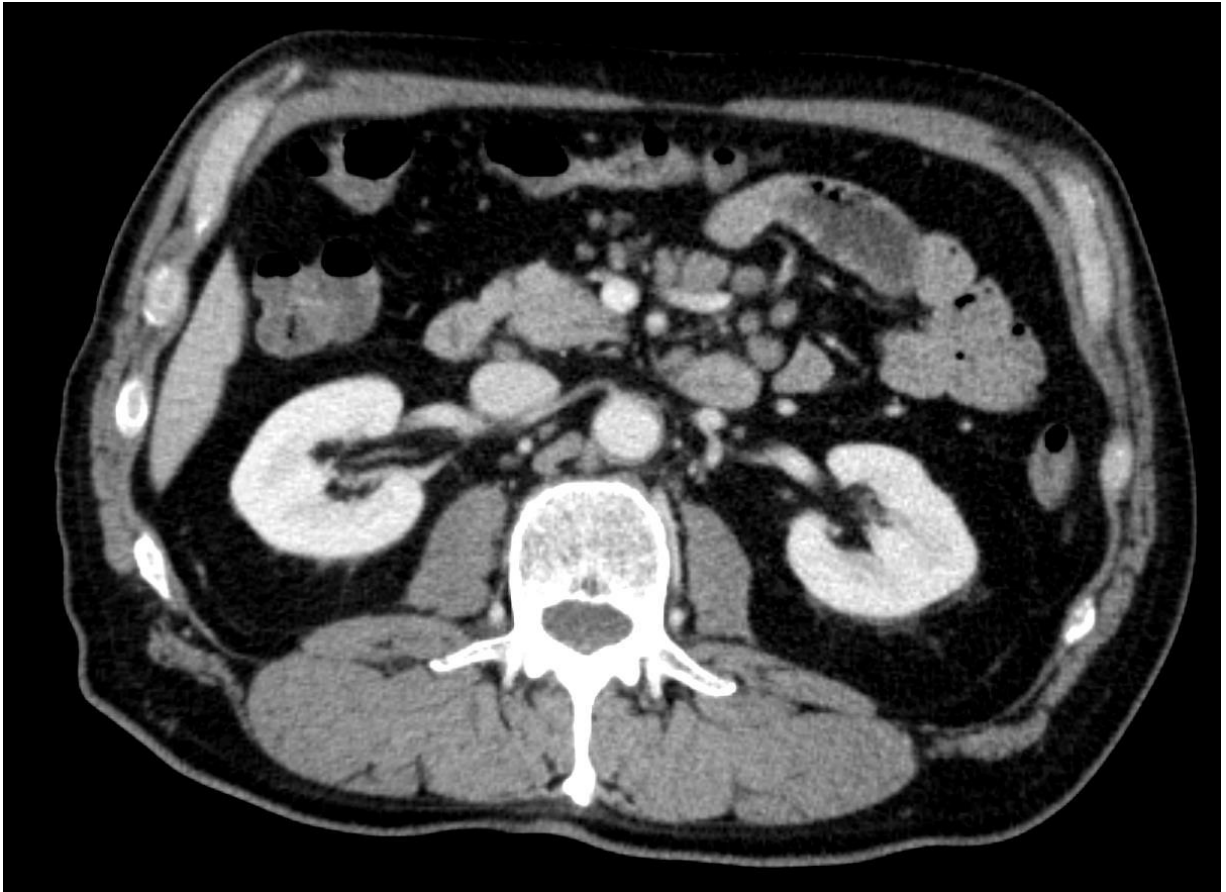


Abb. 3 Axiales Bild einer Computertomographie des Mittelbauchs bei einem Patienten mit CLL.

58-jährige Patientin mit vermehrten und vergrößerten Lymphknoten mesenterial und retroperitoneal. Im PET CT zeigten diese Lymphknoten keine vermehrte Stoffwechselaktivität, passend zu der pathologisch diagnostizierten CLL ohne Hinweis für eine Richter Transformation.

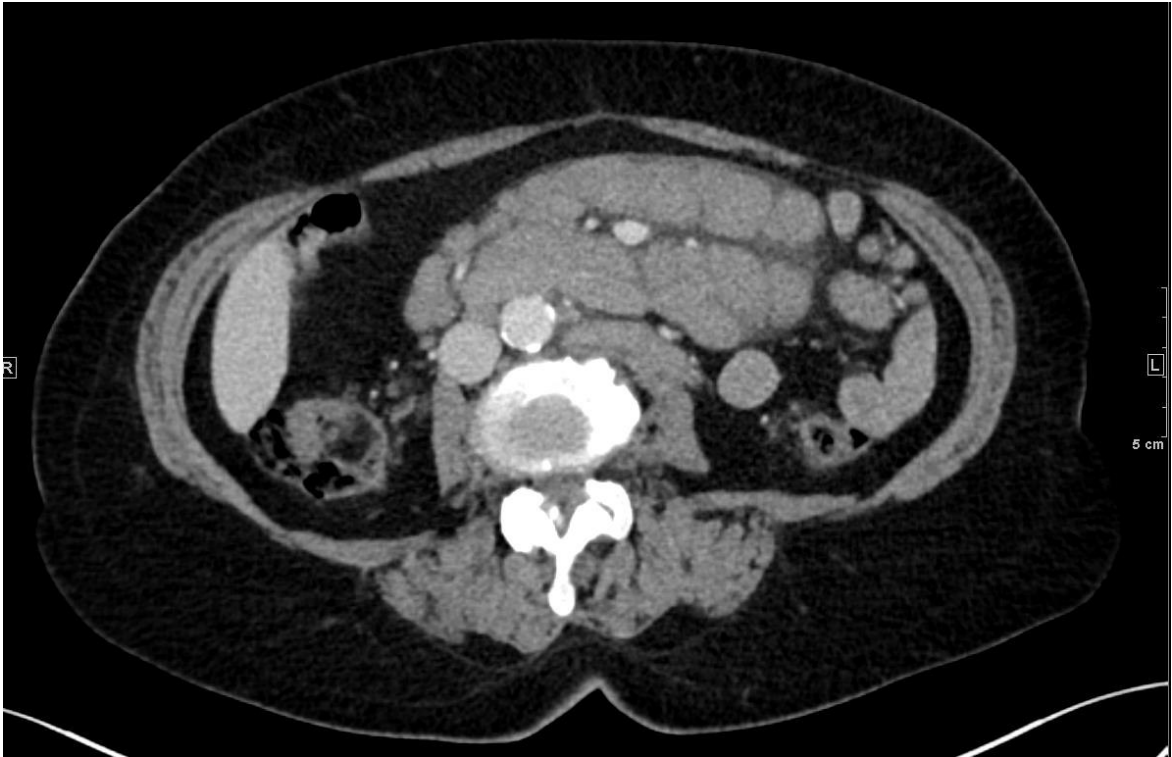


Abb. 4 Axiales Bild einer Computertomographie des Mittelbauchs bei einem Patienten mit CLL.

67-jährige Patientin mit vermehrten und vergrößerten Lymphknoten mesenterial und retroperitoneal, passend zu der pathologisch diagnostizierten CLL ohne Nachweis einer Richter Transformation in der darauf folgenden pathologischen Biopsie-Untersuchung.

2.1.1 CT Untersuchungsprotokoll

Patienten wurden in Rückenlage unter Verwendung eines 128-zeiligen-Multislice (MDCT)-Scanner untersucht. Dieses CT (SOMATOM Definition AS+ bzw. SOMATOM Definition Flash) wurde von der Firma Siemens Healthcare (Forchheim, Deutschland) entwickelt und produziert (van Griethuysen et al., 2017). Es wurden native Messungen (vor der Applikation von jodhaltigem Kontrastmittel) und portalvenöse Phasen durchgeführt. In den portalvenösen Phasen wurden den Patienten 100 ml jodhaltiges Kontrastmittel mit einer Flussgeschwindigkeit von 2 ml/s intravenös appliziert. Daraufhin wurden 30 ml NaCl mit derselben Flussgeschwindigkeit von 2 ml/s appliziert. 65 s nach Beginn der Kontrastmittelgabe wurde die CT Spirale gestartet. In diesen Untersuchungen wurden 120 kV, 200 mAS, ein Weichteil-Kernel und 1 mm Schichtdicke für die Bildrekonstruktion verwendet.

Zum Schluss wurden Bildrekonstruktionen bei jedem Patienten mithilfe FBP (filtered backprojection) angefertigt, diese beinhalten axiale, sagittale und coronare Rekonstruktionen sowie Maximumintensitätsprojektionen (MIPs).

2.1.2 CT-Textur-Bildanalyse

Die Auswertung der CTTA-Daten erfolgte mit der Radiomics-Software (Siemens Healthcare, Forchheim, Deutschland)), die auf dem Pyradiomics-Paket basiert, einem Python-Paket zur Extraktion von Radiomics-Merkmalen aus der medizinischen Bildgebung. Es wurde eine Schichtdicke von 1 mm verwendet. Bei Patienten mit aggressiver CLL und Patienten mit DLBCL des RT wurden nur diejenigen vergrößerten Lymphknoten für die CTTA ausgewählt, welche nach der Bildgebung zur histopathologischen Absicherung biopsiert oder exzidiert wurden. Bei Patienten mit indolenter CLL wurden repräsentative (vergrößerte) Lymphknoten in der Axilla, im Mediastinum oder im Retroperitoneum für die Messung ausgewählt. Es gab kein extranodales RT in unserer Kohorte. Die ROIs wurden manuell in den Lymphknoten unter Ausschluss von benachbarten Geweben wie Blutgefäßen und sichtbar nekrotischen Bereichen eingezeichnet. Dieses Verfahren der ROI-Platzierung wurde im Konsens von zwei Radiologen mit einer Erfahrung von 2 Jahren und 5 Jahren in der CTTA durchgeführt. Um eine Vergleichbarkeit für alle Datensätze zu gewährleisten, wurden standardisierte Messungen durchgeführt. Alle gesetzten ROIs wurden verwendet, um die spezifischen Interessenvolumina (Volumes of interest, VOIs) zu generieren. Bei der Berechnung jedes Texturtyps für ein eingegebenes Interessenvolumen wurde allen Voxeln dieses Interessenvolumens ein neuer Wert (sog. Texturwert) zugewiesen und so ein sog. Texturbild erstellt.

Der erste Schritt der CT-Textur-Bildanalyse bestand aus einer Bildfilterung zur selektiven Extraktion von Merkmalen unterschiedlicher Größe und Intensitätsvariation. Die Bildfilterung-Histogramm-Technik extrahiert Texturmerkmale verschiedener Größen, gefolgt von einer Histogramm-Quantifizierung, wie von Miles et al. Beschrieben (Miles, Ganeshan, & Hayball, 2013). Im zweiten Schritt wurde die Quantifizierung der Gewebetextur anhand einer Serie abgeleiteter Bilder

durchgeführt, die Merkmale in verschiedenen räumlichen Maßstäben von feiner (2 mm im Radius) bis grober Textur (6 mm im Radius) innerhalb VOI zeigen. Es wurden Fensterbereiche von 0 bis 400 HU verwendet. Die Berechnung wurde für das aktuelle Voxel und seine Nachbarschaft durchgeführt und die Ergebnisse wurden als Texturwert des aktuellen Voxels gespeichert. Dies wurde für jedes Voxel im VOI wiederholt. Der Texturtyp (z.B. heterogeneity, deviation) definierte die spezifische Art der Berechnung, die durchgeführt wurde.

Die folgenden Parameter wurden berechnet: Heterogeneity, intensity, deviation, average und skewness. Für alle diese Parameter wurden mean, entropy und uniformity berechnet. Für die abschließende Auswertung wurde der Grobfilter (coarse) verwendet. Wir haben zunächst alle CLLs gruppiert und mit DLBCL verglichen und nachfolgend sowohl den indolenten als auch den aggressiven CLL-Subtyp getrennt mit DLBCL statistisch miteinander verglichen.

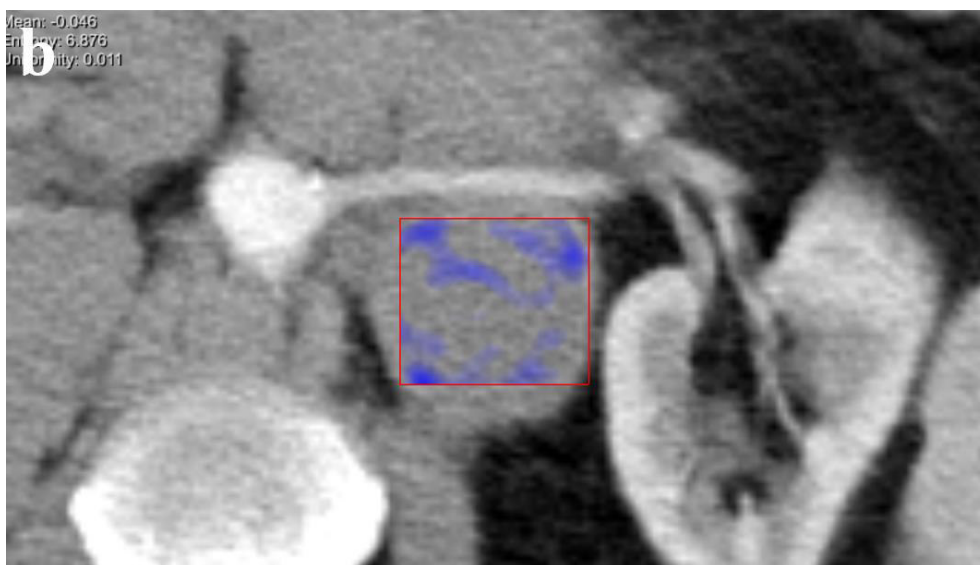
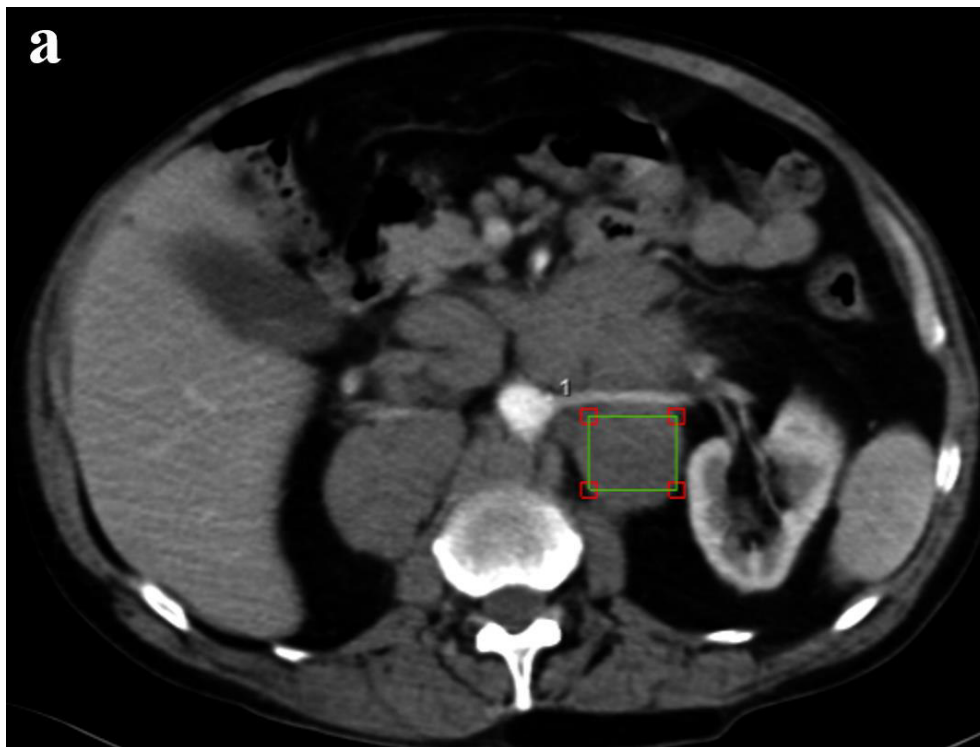


Abb. 5 Computertomografische Texturanalyse (CTTA) eines Patienten mit DLBCL aufgrund der Richter Transformation mit großen Lymphom-Massen im Retroperitoneum. (a) Zur Quantifizierung der Gewebetextur wurden Interessensvolumina (VOIs) innerhalb einer Lymphommasse unter Ausschluss anderer anatomischer Strukturen wie benachbarten Gefäßen eingezeichnet. (b) zeigt eine farbkodierte CTTA-Karte, die mean, entropy und uniformity of heterogeneity des Lymphknotens unter Verwendung eines groben Filters darstellt.

2.1.3 Histologie

Alle Biopsien wurden von unserer hauseigenen Pathologie histologisch untersucht. Histologische Kriterien für die Diagnose von DLBCL waren ein diffuser Befall von Lymphknoten oder extranodalen Stellen mit großen B-Zellen, die zentroblastische, immunoblastische oder anaplastischer Morphologie und einem Muster mit Apoptose und Tumornekrose aufwiesen (Rossi et al., 2011). Im Gegensatz dazu erforderte die Diagnose der CLL ein Infiltrat, das aus kleinen runden Lymphozyten mit dichtem Chromatin, spärlichem Zytoplasma und geringer mitotischer Aktivität bestand (Mao et al., 2007).

2.1.4 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse wurde mit SPSS Version 22 (IBM Corporation) durchgeführt. Alle Parameter wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf die Normalität geprüft. Der Kruskal-Wallis-Test wurde verwendet, um die Texturmerkmale zwischen der gesamten CLL-Gruppe, der indolenten CLL, der aggressiven CLL und dem DLBCL des Richter-Syndroms zu vergleichen. Um die Mehrfachvergleiche zu berücksichtigen, wurde eine Bonferroni-Korrektur angewendet. Die korrigierten p-Werte wurden bei einem Niveau von $< 0,05$ als signifikant angesehen. Die prädiktive Leistung wurde durch Schätzung der prädiktiven Werte (positiver prädiktiver Wert (PPV) und negativer prädiktiver Wert (NPV), der Sensitivität und Spezifität sowie der Fläche unter der Kurve (AUC) mit Receiver Operating Characteristic (ROC)-Kurven bewertet. Die ROC-Kurve wurde durch Berechnung der Sensitivität und Spezifität bei jedem beobachteten Cut-off-Wert erstellt. Die optimalen Cut-off-Werte werden aus dem Punkt auf der ROC-Kurve mit dem minimalen Abstand zur oberen linken Ecke abgeleitet (wo Sensitivität und Spezifität jeweils gleich 1 sind) (Reinert et al., 2019).

2.2 Ergebnisse

Unterschiede in den Merkmalen der CTTA zwischen Patienten mit einer indolenten CLL/SLL und Patienten mit einer DLBCL, die durch das RS verursacht wird:

Unter Verwendung eines Grobfilters unterschieden sich nach unseren Berechnungen CTTA-Werte zwischen Patienten mit indolenten CLL und Patienten mit einer DLBCL, welches durch ein RS entstanden ist, signifikant hinsichtlich entropy of heterogeneity ($2,96 \pm 3,46$ [indolente CLL] vs. $6,36 \pm 2,34$ [DLBCL]; $p < 0,001$), der uniformity of heterogeneity ($0,005 \pm 0,004$ [indolente CLL] vs. $0,008 \pm 0,004$ [DLBCL]; $p < 0,05$), der mean intensity ($66,68 \pm 10,99$ [indolente CLL] vs. $54,18 \pm 14,83$ [DLBCL]; $p < 0,001$) und mean average ($67,89 \pm 16,35$ [indolente CLL] vs. $53,89 \pm 14,83$ [DLBCL]; $p < 0,01$) Es wurde ein Grobfilter benutzt (Tabelle 2) (Reinert et al., 2019).

Zur Unterscheidung zwischen indolenten CLL und DLBCL, entstanden durch eine RT, haben wir Grenzwerte errechnet. Die Grenzwerte haben sich im Vergleich beider Gruppen als signifikant erwiesen. Der Grenzwert für entropy of heterogeneity beträgt 6,68 (Sensitivität 0,78; Spezifität 0,73). Der Grenzwert für mean intensity beträgt 58,56 (Sensitivität 0,81; Spezifität 0,72) (Abb. 6) (Reinert et al., 2019).

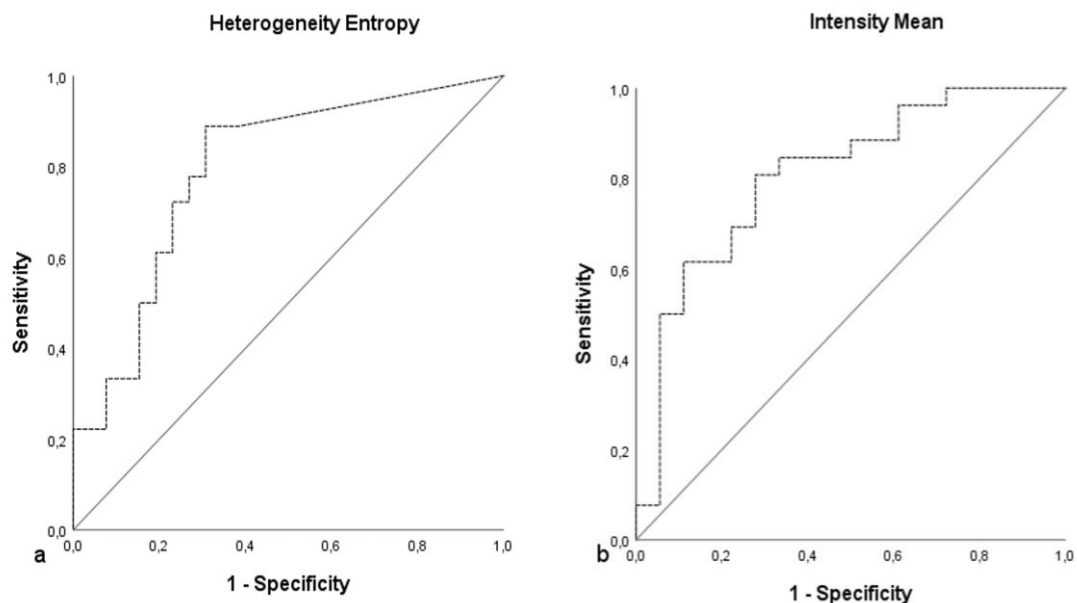
Tabelle 2 Computertomographische Texturanalysewerte bei Patienten mit indolenter CLL (n = 26) und Patienten mit DLBCL des Richter-Syndroms (n = 18) auf CT-Bildern der portalvenösen Phase unter Verwendung eines Grobfilters. Es wurde ein Kruskal-Wallis-Test angewendet. Die p-Werte wurden nach Bonferroni-Korrektur angepasst. **p < 0,001; * p < 0,05

	CLL (indolent)		
Coarse Filter	Mean	Entropy	Uniformity
Heterogeneity	-0,036	2,955	0,005
Intensity	66,684	5,793	0,022
Average	67,894	3,636	0,126
Deviation	22,815	3,270	0,169
Skewness	-0,0359	3,889	0,245

	DLBCL (Richter Syndrom)		
Coarse Filter	Mean	Entropy	Uniformity
Heterogeneity	-0,018	6,361	0,008
Intensity	54,181	5,785	0,022
Average	53,886	3,991	0,086
Deviation	17,711	3,284	0,161
Skewness	-0,002	4,866	0,110

Coarse Filter	p	p	p
Heterogeneity	0,373	< 0,001**	0,012*
Intensity	< 0,001**	0,756	0,685
Average	0,006*	0,139	0,121
Deviation	0,133	0,775	0,793
Skewness	0,667	0,050	0,115

(Reinert et al., 2019)



	Filter	AUC	95 % KI	Grenzwert	Sensitivität	Spezifität	p
Heterogeneity Entropy	Coarse	0,79	0,66-0,93	6,68	0,78	0,73	< 0,001
Intensity Mean	Coarse	0,81	0,67-0,94	58,56	0,81	0,72	< 0,001

Abb. 6 ROC-Kurven zur Unterscheidung zwischen Patienten mit indolenter CLL und Patienten mit DLBCL, die durch das Richter-Syndrom verursacht wird. ROC-Analyse zur Abschätzung der Cut-off-Werte auf der Grundlage der Parameter der Computertomographie-Texturanalyse (CTTA). Basierend auf Messungen in der portalvenösen Phase ergab die ROC-Analyse unter Verwendung eines Grobfilters signifikante Ergebnisse für die Heterogeneity Entropy (a) und den Intensity Mean (b).

(Reinert et al., 2019)

Unterschiede in den Parametern der CT-Textur Analyse zwischen Patienten mit aggressiven CLL und Patienten mit einer DLBCL, welches durch ein Richter Syndrom entstanden ist:

Nach unseren Berechnungen unterschieden sich CTTA-Werte zwischen Patienten mit aggressiven CLL und Patienten mit einer DLBCL, welches durch ein RS entstanden ist, signifikant hinsichtlich entropy of heterogeneity ($5,02 \pm 3,12$ [aggressive CLL] vs. $6,36 \pm 2,34$ [DLBCL]; $p < 0,05$) und mean intensity ($64,65 \pm$

6,61 [aggressive CLL] vs. $54,18 \pm 14,83$ [DLBCL]; $p < 0,05$). Es wurde ein Grobfilter benutzt (Tabelle 3). Zur Unterscheidung zwischen aggressiven CLL und DLBCL, entstanden durch eine RT, haben wir Grenzwerte errechnet. Die Grenzwerte haben sich im Vergleich beider Gruppen als signifikant erwiesen. Der Grenzwert für entropy of heterogeneity beträgt 6,63 (Sensitivität 0,78; Spezifität 0,63). Der Grenzwert für mean intensity beträgt 58,63 (Sensitivität 0,75; Spezifität 0,72) (Abb. 7) (Reinert et al., 2019).

Tabelle 3 Computertomographische Texturanalysewerte bei Patienten mit aggressiver CLL (n = 8) und Patienten mit DLBCL des Richter-Syndroms (n = 18) auf CT-Bildern der portalvenösen Phase unter Verwendung eines Grobfilters.

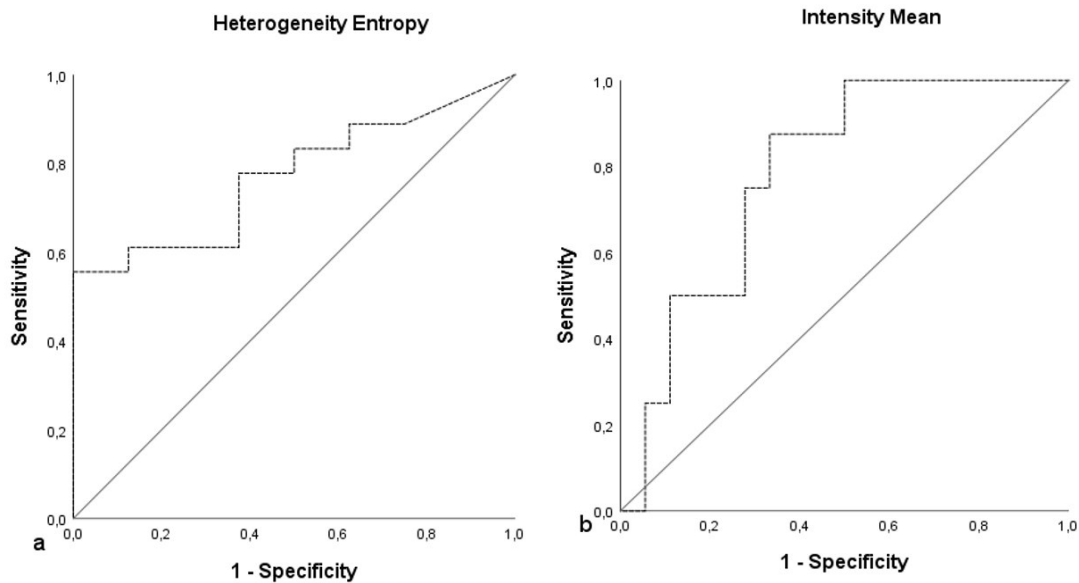
Es wurde ein Kruskal-Wallis-Test angewendet. Die p-Werte wurden nach Bonferroni-Korrektur angepasst. * p < 0.05

	CLL (aggressiv)		
Coarse Filter	Mean	Entropy	Uniformity
Heterogeneity	-0,0004	5,017	0,010
Intensity	64,648	5,825	0,022
Average	62,754	3,707	0,095
Deviation	17,314	2,854	0,192
Skewness	0,0004	4,528	0,133

	DLBCL (Richter Syndrom)		
Coarse Filter	Mean	Entropy	Uniformity
Heterogeneity	-0,018	6,361	0,008
Intensity	54,181	5,7845	0,022
Average	53,886	3,991	0,086
Deviation	17,711	3,283	0,161
Skewness	-0,002	4,866	0,110

Coarse Filter	p	p	p
Heterogeneity	0,461	0,030*	0,367
Intensity	0,022*	0,765	0,807
Average	0,144	0,367	0,311
Deviation	0,724	0,367	0,311
Skewness	0,238	0,531	0,495

(Reinert et al., 2019)



	Filter	AUC	95 % KI	Grenzwert	Sensitivität	Spezifität	p
Heterogeneity Entropy	Coarse	0,77	0,59-0,95	6,63	0,78	0,63	0,030
Intensity Mean	Coarse	0,79	0,61-0,96	58,63	0,75	0,72	0,022

Abb. 7 ROC-Kurven zur Unterscheidung zwischen Patienten mit aggressiver CLL und Patienten mit DLBCL, die durch das Richter-Syndrom verursacht wird. ROC-Analyse (ROC) zur Abschätzung der Cut-off-Werte auf der Grundlage von Parametern der Computertomographie-Texturanalyse (CTTA). Basierend auf Messungen in der portalvenösen Phase ergab die ROC-Analyse unter Verwendung eines Grobfilters signifikante Ergebnisse für die Heterogeneity Entropy (a) und den Intensity Mean (b).

(Reinert et al., 2019)

Unterschiede in den Parametern der CT-Textur Analyse zwischen Patienten der CLL Gruppe (Indolente CLL und aggressive CLL) und Patienten mit einer DLBCL, welches durch ein Richter Syndrom entstanden ist:

Nach unseren Berechnungen unterschieden sich CTTA-Werte zwischen Patienten der CLL Gruppe (Indolente CLL und aggressive CLL) und Patienten mit einer DLBCL, welches durch ein RT entstanden ist, signifikant hinsichtlich entropy of heterogeneity ($3,22 \pm 3,49$ [alle CLLs] vs. $6,36 \pm 2,34$ [DLBCL]; $p < 0,001$), mean intensity ($67,85 \pm 10,20$ [alle CLL] vs. $54,18 \pm 14,83$ [DLBCL]; $p < 0,001$) und mean average ($66,23 \pm 14,98$ [alle CLL] vs. $53,89 \pm 14,83$ [DLBCL]; $p < 0,05$) Es wurde ein Grobfilter benutzt (Tabelle 4). Die ROC Analyse ergab signifikante Grenzwerte im Vergleich beider Gruppen für entropy of heterogeneity (6,86; Sensitivität 0,81; Spezifität 0,74) und mean intensity (58,56; Sensitivität 0,79; Spezifität 0,72) (Abb. 8) (Reinert et al., 2019).

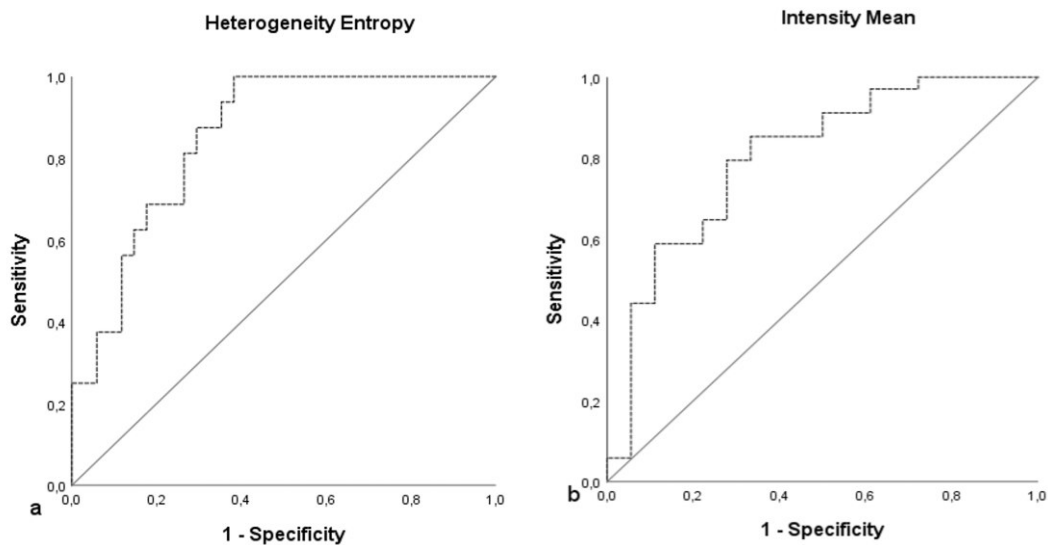
Tabelle 4 Computertomographische Texturanalysewerte bei Patienten mit indolenter und aggressiver CLL (n = 34) und Patienten mit DLBCL des Richter-Syndroms (n = 18) auf CT-Bildern der portalvenösen Phase unter Verwendung eines Grobfilters. Es wurde ein Kruskal-Wallis-Test angewendet. p-Werte wurden nach Bonferroni-Korrektur angepasst. ** p < 0,001; * p < 0,05

	CLL (insgesamt)		
Coarse Filter	Mean	Entropy	Uniformity
Heterogeneity	-0,022	3,222	0,005
Intensity	67,851	5,770	0,023
Average	66,235	3,679	0,113
Deviation	21,978	3,176	0,170
Skewness	-0,0219	4,010	0,208

	DLBCL (Richter Syndrom)		
Coarse Filter	Mean	Entropy	Uniformity
Heterogeneity	-0,018	6,361	0,008
Intensity	54,181	5,7845	0,022
Average	53,886	3,991	0,086
Deviation	17,711	3,284	0,161
Skewness	-0,0017	4,866	0,110

Coarse Filter	p	p	p
Heterogeneity	0,245	< 0,001**	0,112
Intensity	< 0,001**	0,494	0,460
Average	0,012*	0,202	0,202
Deviation	0,213	0,606	0,770
Skewness	0,530	0,257	0,477

(Reinert et al., 2019)



	Filter	AUC	95 % KI	Grenzwert	Sensitivität	Spezifität	p
Heterogeneity Entropy	Coarse	0,85	0,75-0,96	6,86	0,81	0,74	< 0,001
Intensity Mean	Coarse	0,80	0,67-0,93	58,56	0,79	0,72	< 0,001

Abb. 8 ROC-Kurven zur Unterscheidung zwischen Patienten mit sowohl aggressiver als auch indolenter CLL und Patienten mit DLBCL, die durch das Richter-Syndrom verursacht wird.

ROC-Analyse (ROC) zur Abschätzung der Cut-off-Werte auf der Grundlage der Parameter der Computertomographie-Texturanalyse (CTTA). Basierend auf Messungen in der portalvenösen Phase ergab die ROC-Analyse unter Verwendung eines Grobfilters signifikante Ergebnisse für die Heterogeneity Entropy (a) und den Intensity Mean (b).

(Reinert et al., 2019)

2.3 Diskussion

Wir führten eine standardisierte CT-Texturanalyse von Kontrastmittelverstärkten CT-Bilddaten durch, um ultrastrukturelle Gewebeunterschiede und Unterschiede in der Intensität sowie der Verteilung der Kontrastmittelverstärkung zwischen zwei Lymphomtypen zu quantifizieren. Unsere Ergebnisse zeigen signifikante Unterschiede in den CT-Texturmerkmalen der ersten Ordnung zwischen CLL und DLBCL, die im Rahmen der CLL-Transformation auftreten. Da ein standardisiertes Untersuchungsprotokoll bei allen Patienten verwendet wurde, können wir davon ausgehen, dass die errechneten Texturparameter ultrastrukturelle Gewebeunterschiede sowie Unterschiede in der Intensität und Verteilung der Vaskularisation zwischen den zwei Lymphom-Subtypen repräsentieren.

Die chronische lymphatische Leukämie ist die häufigste Art der Leukämie in der westlichen Welt. In anderen Worten, 30% aller Leukämien sind eine CLL. Die CLL hat zumeist in einen langjährigen indolenten Verlauf (Hallek et al., 2008). Bei 5-10 % aller Patienten mit einer CLL entsteht jedoch eine hochmaligne Transformation (Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006). Durch diese Transformationen entsteht zumeist ein DLBCL. Diese Transformation ist unter dem Namen Richter-Transformation bekannt. Das Richter Syndrom weist im Gegensatz zur CLL meist eine Resistenz zur Chemotherapie auf und hat meist einen verheerenden und schnellen Verlauf (Tsimberidou, O'Brien, Khouri, et al., 2006). Da eine CLL durch das RS sich meist in eine DLBCL transformiert, ist es von höchster Bedeutung für den Patienten und die Prognose der Erkrankung, schnellstmöglich zwischen den zwei Lymphomtypen zu unterscheiden, um unmittelbar die passende Therapie einzuleiten, da sich die Therapie zwischen den Lymphomtypen deutlich unterscheidet (Langerbeins et al., 2014).

Aus klinischer Sicht ist die Unterscheidung zwischen den beiden Lymphomtypen schwierig. Die Unterscheidung basiert hauptsächlich auf Bewertung von Risikofaktoren. Der „Score“ der RT besteht aus fünf Faktoren, nämlich dem Performance-Status (ECOG > 1), einer erhöhten Lactodehydrogenase ($> 1,5 \times$ physiologischer Wert), einer verringerten Thrombozytenzahl ($< 100 \times 10^9/l$), der

Tumorgröße (< 5 cm) und der Anzahl stattgehabter Therapien (> 1). Des Weiteren kann die Differenzierung beider Lymphomtypen mithilfe bildgebender Verfahren schwierig sein. Es bedarf einer strikten Kontrolle, um eine diskrepante Entwicklung bekannter CLL/SLL-Manifestationen sowie neu aufgetretene Organbeteiligung oder großer Nekrosegebiete zu erkennen. Meistens ist zur Differenzierung eine invasive Diagnostik mittels einer Biopsie notwendig (Federmann et al., 2018).

Aus histologischer Sicht besteht die CLL aus einer diffusen Architekturstörung aufgrund einer Proliferation kleiner Lymphozyten, die ein spärliches Zytoplasma und einen Kern mit verklumptem Chromatin, minimale mitotische Aktivität und einen sehr niedrigen Proliferationsindex aufweisen (Mao et al., 2007; Soilleux et al., 2016). Im Vergleich dazu weisen große B-Lymphoidzellen eine Kerngröße auf, die der von Makrophagenkernen entspricht, diese übersteigt oder mehr als doppelt so groß ist wie die eines normalen Lymphozyten. In bioptisch gesicherten Probe kann das großzellige Lymphom vollständig dominieren oder mit CLL-Zellen koexistieren (Rossi et al., 2011).

Makroskopisch wird daher eine heterogenere Abschwächung des DLBCL erwartet. Eine rasante Proliferation führt oftmals zur einer für die CLL untypischen Hypoxie im Tumorzentrum. Über diese Manifestation wurde in mehreren früheren CT-, MRT- sowie FDG-PET-Studien beim RT berichtet, wobei letzteres als photopenischer Bereich beschrieben wird. Die Inzidenz dieser Manifestation wurde jedoch nur in 20-25% der Fälle beschrieben und ist dadurch nicht bei jedem DLBCL zutreffend (Niemann, Polliack, & Hutchings, 2014).

Das derzeit am häufigsten verwendete bildgebende Verfahren zur Differenzierung beider Lymphomtypen ist die FDG-PET. Hier werden zuverlässige Grenzwerte von $SUV_{max} \geq 5$ verwendet um CLL Patienten mit einer RT zu identifizieren (Bruzzi et al., 2006; Mauro et al., 2015). Jedoch wurden auch FDG-PET falsch-positive Ergebnisse bei Patienten mit einer nicht-transformierten CLL beschrieben. Dies war meist auf Granulome, Zweitmalignome oder entzündlichen

Veränderungen zurückzuführen (Bruzzi et al., 2006; Grozinger, Adam, & Horger, 2014; Papajik et al., 2014). Darüber hinaus erhöhen Chemotherapie und Immuntherapien die Wahrscheinlichkeit von falsch-positiven Ergebnissen, wohingegen neuere biologische Wirkstoffe die Aufnahme von Glucose inhibieren können und dadurch die SUV reduzieren können (Ansell & Armitage, 2012; Dubreuil et al., 2017).

Die sich verändernde Lymphknotenmorphologie, die bei der Transformation vom CLL mit lymphozytenreichem Gewebe zum DLBCL mit unterschiedlichem Ausmaß an Vaskularität und Nekrosen auftritt, könnte ein zusätzlicher Marker für die Differenzierung zwischen den beiden Entitäten sein (Song et al., 2017). Während die klinische Bedeutung der unterschiedlichen Lymphomtypen bereits früher evaluiert wurde (Adams et al., 2016), ist die CTTA eine neuartige histogrammbasierte Nachbearbeitungstechnik, die Bilddaten zur ultrastrukturellen Gewebecharakterisierung und zur Generierung quantitativer bildgebender Biomarker nutzt. Diese könnte möglicherweise genauer sein könnten als die rein qualitative Beurteilung (Lubner, Smith, Sandrasegaran, Sahani, & Pickhardt, 2017). Da die Heterogenität von Tumoren mit herkömmlichen bildgebenden Verfahren nur schwierig zu quantifizieren ist, ist die CTTA ein potenziell nützlicher Biomarker, welcher die Beurteilung und Quantifizierung der räumlichen Heterogenität von Tumoren ermöglicht (Ganeshan & Miles, 2013). Bei verschiedenen Tumorarten, z. B. dem kolorektalem Karzinom (Ng et al., 2013), Ösophaguskarzinom (Ganeshan, Skogen, Pressney, Coutroubis, & Miles, 2012), Lungenkarzinom (Ganeshan, Panayiotou, et al., 2012) und Kopf-Hals-Tumoren (Zhang et al., 2013) hat sich die CTTA als vielversprechend für die Vorhersage von pathologischen Merkmalen, das Ansprechen auf die Therapie und die Prognose erwiesen.

Das Ziel unserer Studie war daher die Hypothese zu überprüfen, dass sowohl die indolente als auch die aggressive CLL vom DLBCL der RT durch CTTA der beteiligten Lymphknoten unterschieden werden können.

Dazu wurde im Rahmen dieses Projekts die potenzielle Rolle der CTTA der ersten Ordnung für die Unterscheidung zwischen CLL und DLBCL nach RT bewertet. Unter Verwendung eines standardisierten kontrastmittelverstärkten CT-Bildgebungsprotokolls quantifizierten wir histogrammbasierte Texturmerkmale in Patienten, bei denen eine CLL diagnostiziert und die Transformation zum DLBCL histologisch nachgewiesen wurde.

In dieser Studie verglichen wir zunächst die CTTA-Merkmale der indolenten CLL mit denen des DLBCL des RS und fanden signifikante Unterschiede in Bezug auf median intensity und average (rauschkorrigierte Bildintensität), welche sich bei der CLL höher im Vergleich zum DLBCL des RS erwiesen; entropy of heterogeneity, welche beim DLBCL des RS im Vergleich zur CLL doppelt so hoch war; und uniformity of heterogeneity, welche beim DLBCL des RS niedriger im Vergleich zur CLL war. Diese CTTA-Merkmale spiegeln die höhere Gewebeabschwächung bei CLL (median intensity) und die höhere Gewebheterogenität bei DLBCL des RS (höhere entropy und geringere uniformity of heterogeneity) wider. Da wir die CTTA auf kontrastmittelverstärkte CT-Bilddaten angewandt haben, wird angenommen, dass die berechneten Texturmerkmale sowohl ultrastrukturelle Gewebeeigenschaften als auch Unterschiede im vaskulären Netzwerk zwischen den untersuchten Lymphomtypen widerspiegeln. Die niedrigeren Werte der median intensity (Attenuation) des DLBCL des RS waren daher überraschend, da die mikrovaskuläre Dichte der CLL im Vergleich zu derjenigen des DLBCL ähnlich sein sollte oder sogar bei DLBCL erhöht ist (Ruan, Hajjar, Rafii, & Leonard, 2009; Spira et al., 2012). Es ist jedoch bekannt, dass die mikrovaskulären Bereiche des DLBCL eine größere Variabilität aufweisen und es wird vermutet, dass dazwischenliegende Bereiche mit Tumornekrose und Apoptose für eine geringere mittlere Abschwächung in der kontrastmittelverstärkten CT verantwortlich sind, unabhängig von der visuellen Präsenz größerer Nekrosebereiche (Cardesa-Salzman et al., 2011).

Basierend auf unseren Ergebnissen könnte man spekulieren, dass die Gefäßwandpermeabilität und damit die Diffusion des Kontrastmittels in den

extravaskulären Raum bei der CLL größer ist; allerdings konnten wir diesen Hypothese nicht weiter nachgehen, da in unserer Kohorte keine Tumorperfusionsdaten vorlagen. Trotz allem deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass es hinreichend genaue Cut-off-Werte gibt, die eine Differenzierung der indolenten CLL von der DLBCL des RS ermöglichen können, darunter 58,56 für median intensity und 6,68 für entropy-heterogeneity (Reinert et al., 2019).

Desweiteren haben wir die Untergruppe der aggressiven CLL separat ausgewertet, von der erwartet wird, dass sie mehr Ähnlichkeiten mit der aggressiven DLBCL des RS aufweist. Tatsächlich fanden wir zwischen den beiden Lymphomtypen für nur einen CTTA-Parameter einen signifikanten Unterschied, der wiederum median intensity betraf. Die berechneten Cut-off-Werte von 58,63 für median intensity und 6,63 für die entropy-heterogeneity (die sich ebenfalls unterschieden aber keine statistische Signifikanz erreichten) könnten daher auch die Unterscheidung der aggressiven CLL von der DLBCL der RS ermöglichen. Schließlich gelten ähnliche Cut-off-Werte für die gesamte Gruppe der CLL zur Differenzierung von DLBCL des RS. Die getrennte Betrachtung der beiden Untergruppen CLL mit geringer extramedullärer Tumorlast/geringer Wachstumsdynamik und CLL mit rasch vergrößerten Lymphknoten und Hepatosplenomegalie aber ohne histopathologischen Nachweis einer RT, zeigte ähnlich signifikante Unterschiede zur DLBCL mit niedrigeren Werten der median intensity und mean average sowie höheren Werten der entropy of heterogeneity für DLBCL. Insbesondere die Werte für median intensity und entropy of heterogeneity waren in der Gruppe der aggressiveren CLL signifikant unterschiedlich als beim DLBCL der RS. Zum Verständnis unserer CTTA-Ergebnisse wurden bei allen Patienten die Pathologiebefunde herangezogen (Reinert et al., 2019).

Der Bedarf an zusätzlichen bildgebenden Markern zur Differenzierung von CLL und DLBCL des RS war unsere Motivation für die Auswertung der CTTA. Die RT tritt in der Regel an einer einzigen Stelle auf. Morphologische Veränderungen im CT können bei der Nachuntersuchung auf diese Komplikation hinweisen. Allerdings wäre die ergänzende Charakterisierung solcher Befunde, z. B. mittels

CTTA erstrebenswert. Dieses Nachbearbeitungswerkzeug könnte die diagnostische Genauigkeit des CT in dieser Hinsicht verbessern.

Die Rolle von Texturmerkmalen erster Ordnung und insbesondere der Tumorheterogenität für die Tumorbeurteilung sowie deren Implikation für die Prognose und für die Überwachung des Therapieansprechens wurden bereits bei anderen Tumorentitäten untersucht (Durot et al., 2019; Ganeshan et al., 2017; Yip et al., 2015). Lubner et al. beschrieben, dass die Tumorheterogenität vor der Behandlung bei primären Nierenzellkarzinomen mit der Histologie und dem klinischen Ergebnis korreliert (Lubner et al., 2017). Ganeshan et al. zeigten starke Korrelationen zwischen der Heterogenität des Ösophaguskarzinoms, dem Tumormetabolismus, dem Tumorstadium und dem Patienten-Überleben (Ganeshan, Skogen, et al., 2012). Die gleichen Autoren beschrieben ähnliche Ergebnisse beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom, bei dem die Tumorheterogenität das Patienten-Überleben korrelierte (Ganeshan, Panayiotou, et al., 2012). In einem Bericht von Ng et al. sagte die Tumorheterogenität das 5-Jahres-Überleben von Patienten mit kolorektalem Karzinom voraus (Ng et al., 2013). Viele andere Studien konzentrierten sich auf den allgemeinen Nutzen der Verwendung von CTTA-Merkmalen zur Tumorcharakterisierung, zur Vorhersage des Therapieansprechens und des Patienten-Überlebens (S. J. Lee et al., 2018; Starkov et al., 2019). Goh et al. berichteten über eine kontinuierliche Abnahme der Heterogenität von Nierenzellkarzinomen bei erfolgreicher Behandlung mit Tyrosinkinase-Inhibitoren (Goh et al., 2011).

In unserer Studie ergeben sich folgende Einschränkungen. Erstens wurde die Auswertung der Bilddaten retrospektiv durchgeführt und die Anzahl der Patienten ist begrenzt. Dies könnte sich auf das Untersuchungsprotokoll und die Ergebnisse der CTTA-Quantifizierung ausgewirkt haben. Allerdings sind an unserer Einrichtung die CT-Protokolle einschließlich des verabreichten Kontrastmittelvolumens standardisiert, was die Variabilität der verwendeten Bildgebungsparameter minimiert. Dennoch war das Kontrastmittelvolumen nicht an das Körpergewicht angepasst, was die Quantifizierung der Gewebeabschwächung und die

damit verbundenen CTTA-Merkmale (z. B. median intensity) in gewissem Maße beeinflusst haben könnte. Zweitens haben wir die extranodale Beteiligung durch RT nicht berücksichtigt, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Drittens verwendeten wir nur eine begrenzte Anzahl von CT-Texturmerkmalen, um die Komplexität der Ergebnisse zu begrenzen. Die am häufigsten verwendeten und robustesten Texturmerkmale sind jedoch die der ersten Ordnung und insbesondere die Heterogenität, die bei weitem am häufigsten als nicht-invasives Surrogat für räumliche Heterogenität in der Zelldichte, Angiogenese (wenn kontrastmittelverstärkte Studien wie in unserer eigenen Studie ausgewertet werden) und Nekrose verwendet wird. Darüber hinaus werden diese Merkmale weniger durch Bildrauschen beeinträchtigt.

2.4 Zusammenfassung

In dieser Dissertation wurde die Hypothese überprüft, dass sowohl die indolente als auch die aggressive chronische lymphatische Leukämie (CLL) von dem diffusen großzelligen B-Zell-Lymphom (DLBCL) des Richter-Syndroms (RS) durch die Computertomographie Texturanalyse (CTTA) der beteiligten Lymphknoten differenziert werden kann.

Wir schlossen retrospektiv 52 Patienten mit indolenter CLL (n = 26), aggressiver CLL (n = 8) und DLBCL des RS (n = 18) ein, die sich einer standardisierten kontrastmittelverstärkten CT unterzogen. Im Hauptlymphomgewebe wurden Interessensvolumina (VOIs) generiert, aus denen CTTA-Merkmale einschließlich Texturmerkmale erster, zweiter und höherer Ordnung extrahiert wurden. Die folgenden Parameter wurden berechnet: Heterogeneity, Intensity, Deviation, Average und Skewness. Für alle diese Parameter wurden Mean, Entropy und Uniformity berechnet. Für die abschließende Auswertung wurde der Grobfilter (coarse) verwendet. Wir haben zunächst die CLL-Subgruppen einzeln mit dem DLBCL verglichen. Des Weiteren haben wir sowohl den indolenten als auch den aggressiven CLL-Subtyp jeweils getrennt mit dem DLBCL verglichen.

Die CTTA-Merkmale wurden zwischen der gesamten CLL-Gruppe, dem indolenten CLL-Subtyp, dem aggressiven CLL-Subtyp und dem DLBCL mit einem Kruskal-Wallis-Test verglichen. Alle p-Werte wurden nach der Bonferroni-Korrektur angepasst. ROC-Analysen für signifikante CTTA-Merkmale wurden durchgeführt, um Cut-off-Werte für die Differenzierung zwischen den Gruppen zu bestimmen.

Im Vergleich zum DLBCL des RS zeigte die CTTA der gesamten CLL-Gruppe signifikante Unterschiede in entropy-heterogeneity ($p < 0,001$), median intensity ($p < 0,001$) und mean average ($p = 0,02$). Die indolente CLL unterschied sich signifikant für entropy ($p < 0,001$), uniformity of heterogeneity ($p = 0,02$), median intensity ($p < 0,001$) und mean average ($p = 0,01$). Die aggressive CLL zeigte signifikante Unterschiede in der median intensity ($p = 0,04$). Zur Differenzierung zwischen CLL und DLBCL des RS wurden Cut-off-Werte für median intensity und die entropy of heterogeneity definiert (z. B. 6,63 für die entropy of heterogeneity

[aggressive CLL vs. DLBCL]; Sensitivität 0,78; Spezifität 0,63) (Reinert et al., 2019).

Zusammenfassend konnten wir in der vorliegenden Arbeit zeigen, dass sich die CTTA-Merkmale bezüglich der Ultrastruktur und der Vaskularisation bei der CLL im Vergleich zum DLBCL des RS signifikant unterscheiden. Die CTTA ermöglicht somit eine nicht-invasive Erkennung des RS, welche richtungsweisend für die Therapie sowie von entscheidendem prognostischen Wert ist.

Literaturverzeichnis

- Abruzzo, L. V., Rosales, C. M., Medeiros, L. J., Vega, F., Luthra, R., Manning, J. T., . . . Jones, D. (2002). Epstein-Barr virus-positive B-cell lymphoproliferative disorders arising in immunodeficient patients previously treated with fludarabine for low-grade B-cell neoplasms. *Am J Surg Pathol*, 26(5), 630-636. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11979093>. doi:10.1097/00000478-200205000-00009
- Adams, H. J. A., de Klerk, J. M. H., Fijnheer, R., Heggelman, B. G. F., Dubois, S. V., Nievelstein, R. A. J., & Kwee, T. C. (2016). Tumor necrosis at FDG-PET is an independent predictor of outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Eur J Radiol*, 85(1), 304-309. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26515992>. doi:10.1016/j.ejrad.2015.09.016
- Agnew, K. L., Ruchlemer, R., Catovsky, D., Matutes, E., & Bunker, C. B. (2004). Cutaneous findings in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Dermatol*, 150(6), 1129-1135. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15214899>. doi:10.1111/j.1365-2133.2004.05982.x
- Ansell, S. M., & Armitage, J. O. (2012). Positron emission tomographic scans in lymphoma: convention and controversy. *Mayo Clin Proc*, 87(6), 571-580. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22677077>. doi:10.1016/j.mayocp.2012.03.006
- Ansell, S. M., Li, C. Y., Lloyd, R. V., & Phyliky, R. L. (1999). Epstein-Barr virus infection in Richter's transformation. *Am J Hematol*, 60(2), 99-104. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9929100>. doi:10.1002/(sici)1096-8652(199902)60:2<99::aid-ajh3>3.0.co;2-t
- Asano, N., Yamamoto, K., Tamaru, J., Oyama, T., Ishida, F., Ohshima, K., . . . Nakamura, S. (2009). Age-related Epstein-Barr virus (EBV)-associated B-cell lymphoproliferative disorders: comparison with EBV-positive classic Hodgkin lymphoma in elderly patients. *Blood*, 113(12), 2629-2636. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19075188>. doi:10.1182/blood-2008-06-164806
- Baer, M. R., Stein, R. S., & Dessypris, E. N. (1985). Chronic lymphocytic leukemia with hyperleukocytosis. The hyperviscosity syndrome. *Cancer*, 56(12), 2865-2869. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4052958>. doi:10.1002/1097-0142(19851215)56:12<2865::aid-cnrcr2820561225>3.0.co;2-6
- Barnes, B., Kraywinkel, K., Nowossadeck, E., Schönfeld, I., Starker, A., Wienecke, A., & Wolf, U. (2016). Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016. In: Robert Koch-Institut.
- Bashir, U., Siddique, M. M., McLean, E., Goh, V., & Cook, G. J. (2016). Imaging Heterogeneity in Lung Cancer: Techniques, Applications, and Challenges. *AJR Am J Roentgenol*, 207(3), 534-543. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27305342>. doi:10.2214/AJR.15.15864

- Baumann, T., Moia, R., Gaidano, G., Delgado, J., Condoluci, A., Villamor, N., . . . Montserrat, E. (2021). Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia modern era: a real-life study in 848 unselected patients. *Leukemia*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33542480>. doi:10.1038/s41375-021-01149-w
- Bea, S., Lopez-Guillermo, A., Ribas, M., Puig, X., Pinyol, M., Carrio, A., . . . Campo, E. (2002). Genetic imbalances in progressed B-cell chronic lymphocytic leukemia and transformed large-cell lymphoma (Richter's syndrome). *Am J Pathol*, *161*(3), 957-968. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12213724>. doi:10.1016/S0002-9440(10)64256-3
- Ben-Dali, Y., Hleuhel, M. H., da Cunha-Bang, C., Brieghel, C., Poulsen, C. B., Clasen-Linde, E., . . . Andersen, M. A. (2020). Richter's transformation in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a Nationwide Epidemiological Study. *Leuk Lymphoma*, *61*(6), 1435-1444. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32031030>. doi:10.1080/10428194.2020.1719092
- Binet, J. L., Auquier, A., Dighiero, G., Chastang, C., Piguët, H., Goasguen, J., . . . Gremy, F. (1981). A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*, *48*(1), 198-206. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7237385>. doi:10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cncr2820480131>3.0.co;2-v
- Blum, K. A., Young, D., Broering, S., Lucas, M. S., Fischer, B., Lin, T. S., . . . Byrd, J. C. (2007). Computed tomography scans do not improve the predictive power of 1996 national cancer institute sponsored working group chronic lymphocytic leukemia response criteria. *J Clin Oncol*, *25*(35), 5624-5629. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17984187>. doi:10.1200/JCO.2007.12.1152
- Bockorny, B., Codreanu, I., & Dasanu, C. A. (2012). Hodgkin lymphoma as Richter transformation in chronic lymphocytic leukaemia: a retrospective analysis of world literature. *Br J Haematol*, *156*(1), 50-66. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22017478>. doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08907.x
- Bruzzi, J. F., Macapinlac, H., Tsimberidou, A. M., Truong, M. T., Keating, M. J., Marom, E. M., & Munden, R. F. (2006). Detection of Richter's transformation of chronic lymphocytic leukemia by PET/CT. *J Nucl Med*, *47*(8), 1267-1273. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16883004>.
- Brynes, R. K., McCourty, A., Sun, N. C., & Koo, C. H. (1995). Trisomy 12 in Richter's transformation of chronic lymphocytic leukemia. *Am J Clin Pathol*, *104*(2), 199-203. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7639196>. doi:10.1093/ajcp/104.2.199
- Cardesa-Salzmann, T. M., Colomo, L., Gutierrez, G., Chan, W. C., Weisenburger, D., Climent, F., . . . Campo, E. (2011). High microvessel

- density determines a poor outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus chemotherapy. *Haematologica*, 96(7), 996-1001. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21546504>. doi:10.3324/haematol.2010.037408
- Chalkidou, A., O'Doherty, M. J., & Marsden, P. K. (2015). False Discovery Rates in PET and CT Studies with Texture Features: A Systematic Review. *PLoS One*, 10(5), e0124165. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25938522>. doi:10.1371/journal.pone.0124165
- Chena, C., Cerretini, R., Noriega, M. F., Narbaitz, M., Scolnik, M., Palacios, M. F., . . . Slavutsky, I. (2002). Cytogenetic, FISH, and molecular studies in a case of B-cell chronic lymphocytic leukemia with karyotypic evolution. *Eur J Haematol*, 69(5-6), 309-314. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12460236>. doi:10.1034/j.1600-0609.2002.02793.x
- Cwynarski, K., van Biezen, A., de Wreede, L., Stilgenbauer, S., Bunjes, D., Metzner, B., . . . Dreger, P. (2012). Autologous and allogeneic stem-cell transplantation for transformed chronic lymphocytic leukemia (Richter's syndrome): A retrospective analysis from the chronic lymphocytic leukemia subcommittee of the chronic leukemia working party and lymphoma working party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*, 30(18), 2211-2217. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22547610>. doi:10.1200/JCO.2011.37.4108
- Dabaja, B. S., O'Brien, S. M., Kantarjian, H. M., Cortes, J. E., Thomas, D. A., Albitar, M., . . . Giles, F. J. (2001). Fractionated cyclophosphamide, vincristine, liposomal daunorubicin (daunoXome), and dexamethasone (hyperCVXD) regimen in Richter's syndrome. *Leuk Lymphoma*, 42(3), 329-337. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11699397>. doi:10.3109/10428190109064589
- Davids, M. S., Roberts, A. W., Seymour, J. F., Pagel, J. M., Kahl, B. S., Wierda, W. G., . . . Gerecitano, J. F. (2017). Phase I First-in-Human Study of Venetoclax in Patients With Relapsed or Refractory Non-Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol*, 35(8), 826-833. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28095146>. doi:10.1200/JCO.2016.70.4320
- Davnull, F., Yip, C. S., Ljungqvist, G., Selmi, M., Ng, F., Sanghera, B., . . . Goh, V. (2012). Assessment of tumor heterogeneity: an emerging imaging tool for clinical practice? *Insights Imaging*, 3(6), 573-589. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23093486>. doi:10.1007/s13244-012-0196-6
- Diehl, L. F., & Ketchum, L. H. (1998). Autoimmune disease and chronic lymphocytic leukemia: autoimmune hemolytic anemia, pure red cell aplasia, and autoimmune thrombocytopenia. *Semin Oncol*, 25(1), 80-97. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9482530>.

- Ding, W., LaPlant, B. R., Call, T. G., Parikh, S. A., Leis, J. F., He, R., . . . Ansell, S. M. (2017). Pembrolizumab in patients with CLL and Richter transformation or with relapsed CLL. *Blood*, *129*(26), 3419-3427. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28424162>. doi:10.1182/blood-2017-02-765685
- Dohner, H., Stilgenbauer, S., Benner, A., Leupolt, E., Krober, A., Bullinger, L., . . . Lichter, P. (2000). Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*, *343*(26), 1910-1916. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11136261>. doi:10.1056/NEJM200012283432602
- Dubreuil, J., Salles, G., Bozzetto, J., Tordo, J., Djaileb, L., Berriolo-Riedinger, A., . . . Skanjeti, A. (2017). Usual and unusual pitfalls of 18F-FDG-PET/CT in lymphoma after treatment: a pictorial review. *Nucl Med Commun*, *38*(7), 563-576. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28570287>. doi:10.1097/MNM.0000000000000697
- Durot, C., Mule, S., Soyer, P., Marchal, A., Grange, F., & Hoeffel, C. (2019). Metastatic melanoma: pretreatment contrast-enhanced CT texture parameters as predictive biomarkers of survival in patients treated with pembrolizumab. *Eur Radiol*, *29*(6), 3183-3191. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30645669>. doi:10.1007/s00330-018-5933-x
- Fabbri, G., Khiabani, H., Holmes, A. B., Wang, J., Messina, M., Mullighan, C. G., . . . Dalla-Favera, R. (2013). Genetic lesions associated with chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *J Exp Med*, *210*(11), 2273-2288. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24127483>. doi:10.1084/jem.20131448
- Fan, L., Wang, L., Zhang, R., Fang, C., Zhu, D. X., Wang, Y. H., . . . Xu, W. (2012). Richter transformation in 16 of 149 Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*, *53*(9), 1749-1756. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22329349>. doi:10.3109/10428194.2012.664845
- Federmann, B., Mueller, M. R., Steinhilber, J., Horger, M. S., & Fend, F. (2018). Diagnosis of Richter transformation in chronic lymphocytic leukemia: histology tips the scales. *Ann Hematol*, *97*(10), 1859-1868. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29947976>. doi:10.1007/s00277-018-3390-x
- Fitzgerald, P. H., McEwan, C. M., Hamer, J. W., & Beard, M. E. (1980). Richter's syndrome with identification of marker chromosomes. *Cancer*, *46*(1), 135-138. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6992973>. doi:10.1002/1097-0142(19800701)46:1<135::aid-cncr2820460121>3.0.co;2-n
- Foon, K. A., Thiruvengadam, R., Saven, A., Bernstein, Z. P., & Gale, R. P. (1993). Genetic relatedness of lymphoid malignancies. Transformation of chronic lymphocytic leukemia as a model. *Ann Intern Med*, *119*(1), 63-73. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8498765>. doi:10.7326/0003-4819-119-1-199307010-00011

- Gaidano, G., Ballerini, P., Gong, J. Z., Inghirami, G., Neri, A., Newcomb, E. W., . . . Dalla-Favera, R. (1991). p53 mutations in human lymphoid malignancies: association with Burkitt lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *88*(12), 5413-5417. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2052620>. doi:10.1073/pnas.88.12.5413
- Ganeshan, B., Burnand, K., Young, R., Chatwin, C., & Miles, K. (2011). Dynamic contrast-enhanced texture analysis of the liver: initial assessment in colorectal cancer. *Invest Radiol*, *46*(3), 160-168. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21102348>. doi:10.1097/RLI.0b013e3181f8e8a2
- Ganeshan, B., & Miles, K. A. (2013). Quantifying tumour heterogeneity with CT. *Cancer Imaging*, *13*, 140-149. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23545171>. doi:10.1102/1470-7330.2013.0015
- Ganeshan, B., Miles, K. A., Babikir, S., Shortman, R., Afaq, A., Ardeshtna, K. M., . . . Kayani, I. (2017). CT-based texture analysis potentially provides prognostic information complementary to interim fdg-pet for patients with hodgkin's and aggressive non-hodgkin's lymphomas. *Eur Radiol*, *27*(3), 1012-1020. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27380902>. doi:10.1007/s00330-016-4470-8
- Ganeshan, B., Panayiotou, E., Burnand, K., Dizdarevic, S., & Miles, K. (2012). Tumour heterogeneity in non-small cell lung carcinoma assessed by CT texture analysis: a potential marker of survival. *Eur Radiol*, *22*(4), 796-802. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22086561>. doi:10.1007/s00330-011-2319-8
- Ganeshan, B., Skogen, K., Pressney, I., Coutroubis, D., & Miles, K. (2012). Tumour heterogeneity in oesophageal cancer assessed by CT texture analysis: preliminary evidence of an association with tumour metabolism, stage, and survival. *Clin Radiol*, *67*(2), 157-164. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21943720>. doi:10.1016/j.crad.2011.08.012
- Gine, E., Martinez, A., Villamor, N., Lopez-Guillermo, A., Camos, M., Martinez, D., . . . Montserrat, E. (2010). Expanded and highly active proliferation centers identify a histological subtype of chronic lymphocytic leukemia ("accelerated" chronic lymphocytic leukemia) with aggressive clinical behavior. *Haematologica*, *95*(9), 1526-1533. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20421272>. doi:10.3324/haematol.2010.022277
- Goh, V., Ganeshan, B., Nathan, P., Juttla, J. K., Vinayan, A., & Miles, K. A. (2011). Assessment of response to tyrosine kinase inhibitors in metastatic renal cell cancer: CT texture as a predictive biomarker. *Radiology*, *261*(1), 165-171. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21813743>. doi:10.1148/radiol.11110264
- Grozinger, G., Adam, P., & Horger, M. (2014). [HSV lymphadenitis in chronic lymphocytic leukemia -- a rare but difficult differential diagnosis]. *Rofo*,

- 186(1), 79-80. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23975876>. doi:10.1055/s-0033-1350381
- Hallek, M., Cheson, B. D., Catovsky, D., Caligaris-Cappio, F., Dighiero, G., Dohner, H., . . . Kipps, T. J. (2018). iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*, *131*(25), 2745-2760. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29540348>. doi:10.1182/blood-2017-09-806398
- Hallek, M., Cheson, B. D., Catovsky, D., Caligaris-Cappio, F., Dighiero, G., Dohner, H., . . . International Workshop on Chronic Lymphocytic, L. (2008). Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*, *111*(12), 5446-5456. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18216293>. doi:10.1182/blood-2007-06-093906
- Hamblin, T. J., Davis, Z., Gardiner, A., Oscier, D. G., & Stevenson, F. K. (1999). Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, *94*(6), 1848-1854. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10477713>.
- Harousseau, J. L., Flandrin, G., Tricot, G., Brouet, J. C., Seligmann, M., & Bernard, J. (1981). Malignant lymphoma supervening in chronic lymphocytic leukemia and related disorders. Richter's syndrome: a study of 25 cases. *Cancer*, *48*(6), 1302-1308. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7023653>. doi:10.1002/1097-0142(19810915)48:6<1302::aid-cnrc2820480609>3.0.co;2-q
- Jain, P., & O'Brien, S. (2012). Richter's transformation in chronic lymphocytic leukemia. *Oncology (Williston Park)*, *26*(12), 1146-1152. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23413591>.
- Jamroziak, K., Tadmor, T., Robak, T., & Polliack, A. (2015). Richter syndrome in chronic lymphocytic leukemia: updates on biology, clinical features and therapy. *Leuk Lymphoma*, *56*(7), 1949-1958. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25356923>. doi:10.3109/10428194.2014.979411
- Kharfan-Dabaja, M. A., Kumar, A., Hamadani, M., Stilgenbauer, S., Ghia, P., Anasetti, C., . . . Savani, B. N. (2016). Clinical Practice Recommendations for Use of Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Chronic Lymphocytic Leukemia on Behalf of the Guidelines Committee of the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, *22*(12), 2117-2125. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27660167>. doi:10.1016/j.bbmt.2016.09.013
- Langerbeins, P., Busch, R., Anheier, N., Durig, J., Bergmann, M., Goebeler, M. E., . . . Eichhorst, B. (2014). Poor efficacy and tolerability of R-CHOP in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia and Richter transformation. *Am J Hematol*, *89*(12), E239-243. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25196783>. doi:10.1002/ajh.23841

- Lee, J. N., Giles, F., Huh, Y. O., Manshour, T., O'Brien, S., Kantarjian, H. M., . . . Albitar, M. (2003). Molecular differences between small and large cells in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol*, *71*(4), 235-242. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12950231>. doi:10.1034/j.1600-0609.2003.00089.x
- Lee, S. J., Zea, R., Kim, D. H., Lubner, M. G., Deming, D. A., & Pickhardt, P. J. (2018). CT texture features of liver parenchyma for predicting development of metastatic disease and overall survival in patients with colorectal cancer. *Eur Radiol*, *28*(4), 1520-1528. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29164382>. doi:10.1007/s00330-017-5111-6
- Lortholary, P., Boiron, M., Ripault, P., Levy, J. P., Manus, A., & Bernard, J. (1964). [Chronic Lymphoid Leukemia Secondarily Associated with a Malignant Reticulopathy: Richter's Syndrome]. *Nouv Rev Fr Hematol*, *4*, 621-644. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14199493>.
- Louissaint, A., Jr., Ferry, J. A., Soupir, C. P., Hasserjian, R. P., Harris, N. L., & Zukerberg, L. R. (2012). Infectious mononucleosis mimicking lymphoma: distinguishing morphological and immunophenotypic features. *Mod Pathol*, *25*(8), 1149-1159. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22627742>. doi:10.1038/modpathol.2012.70
- Lu, L., Ehmke, R. C., Schwartz, L. H., & Zhao, B. (2016). Assessing Agreement between Radiomic Features Computed for Multiple CT Imaging Settings. *PLoS One*, *11*(12), e0166550. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28033372>. doi:10.1371/journal.pone.0166550
- Lubner, M. G., Smith, A. D., Sandrasegaran, K., Sahani, D. V., & Pickhardt, P. J. (2017). CT Texture Analysis: Definitions, Applications, Biologic Correlates, and Challenges. *Radiographics*, *37*(5), 1483-1503. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28898189>. doi:10.1148/rg.2017170056
- Mao, Z., Quintanilla-Martinez, L., Raffeld, M., Richter, M., Krugmann, J., Burek, C., . . . Rosenwald, A. (2007). IgVH mutational status and clonality analysis of Richter's transformation: diffuse large B-cell lymphoma and Hodgkin lymphoma in association with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) represent 2 different pathways of disease evolution. *Am J Surg Pathol*, *31*(10), 1605-1614. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17895764>. doi:10.1097/PAS.0b013e31804bdaf8
- Matolcsy, A., Casali, P., & Knowles, D. M. (1995). Different clonal origin of B-cell populations of chronic lymphocytic leukemia and large-cell lymphoma in Richter's syndrome. *Immunoglobulin Gene Expression in Development and Disease*, *764*, 496-503. Retrieved from <Go to ISI>://WOS:A1995BE39E00075.
- Mauro, F. R., Chauvie, S., Paoloni, F., Biggi, A., Cimino, G., Rago, A., . . . Foa, R. (2015). Diagnostic and prognostic role of PET/CT in patients with chronic lymphocytic leukemia and progressive disease. *Leukemia*, *29*(6), 1360-1365. Retrieved from

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25650091>.
doi:10.1038/leu.2015.21
- Mauro, F. R., Galieni, P., Tedeschi, A., Laurenti, L., Del Poeta, G., Reda, G., . . . Gentile, M. (2017). Factors predicting survival in chronic lymphocytic leukemia patients developing Richter syndrome transformation into Hodgkin lymphoma. *Am J Hematol*, 92(6), 529-535. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28295527>. doi:10.1002/ajh.24714
- Miles, K. A., Ganeshan, B., & Hayball, M. P. (2013). CT texture analysis using the filtration-histogram method: what do the measurements mean? *Cancer Imaging*, 13(3), 400-406. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24061266>. doi:10.1102/1470-7330.2013.9045
- Ng, F., Kozarski, R., Ganeshan, B., & Goh, V. (2013). Assessment of tumor heterogeneity by CT texture analysis: can the largest cross-sectional area be used as an alternative to whole tumor analysis? *Eur J Radiol*, 82(2), 342-348. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23194641>. doi:10.1016/j.ejrad.2012.10.023
- Niemann, C. U., Polliack, A., & Hutchings, M. (2014). Suspected Richter transformation: positron emission tomography/computed tomography tells us who should have a biopsy and where. *Leuk Lymphoma*, 55(2), 233-234. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23915194>. doi:10.3109/10428194.2013.820295
- Omoti, C. E., & Omoti, A. E. (2008). Richter syndrome: a review of clinical, ocular, neurological and other manifestations. *Br J Haematol*, 142(5), 709-716. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18492119>. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07248.x
- Papajik, T., Myslivecek, M., Urbanova, R., Buriankova, E., Kapitanova, Z., Prochazka, V., . . . Indrak, K. (2014). 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography/computed tomography examination in patients with chronic lymphocytic leukemia may reveal Richter transformation. *Leuk Lymphoma*, 55(2), 314-319. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23656196>. doi:10.3109/10428194.2013.802313
- Parikh, S. A., Leis, J. F., Chaffee, K. G., Call, T. G., Hanson, C. A., Ding, W., . . . Shanafelt, T. D. (2015). Hypogammaglobulinemia in newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia: Natural history, clinical correlates, and outcomes. *Cancer*, 121(17), 2883-2891. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25931291>. doi:10.1002/cncr.29438
- Parikh, S. A., Rabe, K. G., Call, T. G., Zent, C. S., Habermann, T. M., Ding, W., . . . Shanafelt, T. D. (2013). Diffuse large B-cell lymphoma (Richter syndrome) in patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL): a cohort study of newly diagnosed patients. *Br J Haematol*, 162(6), 774-782. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23841899>. doi:10.1111/bjh.12458
- Pflug, N., Bahlo, J., Shanafelt, T. D., Eichhorst, B. F., Bergmann, M. A., Elter, T., . . . Hallek, M. (2014). Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 124(1), 49-62.

- Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24797299>.
doi:10.1182/blood-2014-02-556399
- Rai, K. R., & Montserrat, E. (1987). Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Hematol*, 24(4), 252-256. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3686047>.
- Rassenti, L. Z., Jain, S., Keating, M. J., Wierda, W. G., Grever, M. R., Byrd, J. C., . . . Kipps, T. J. (2008). Relative value of ZAP-70, CD38, and immunoglobulin mutation status in predicting aggressive disease in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 112(5), 1923-1930. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18577710>. doi:10.1182/blood-2007-05-092882
- Reinert, C. P., Federmann, B., Hofmann, J., Bosmuller, H., Wirths, S., Fritz, J., & Horger, M. (2019). Computed tomography textural analysis for the differentiation of chronic lymphocytic leukemia and diffuse large B cell lymphoma of Richter syndrome. *Eur Radiol*, 29(12), 6911-6921. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31236702>. doi:10.1007/s00330-019-06291-9
- Reiniger, L., Bodor, C., Bognar, A., Balogh, Z., Csomor, J., Szepesi, A., . . . Matolcsy, A. (2006). Richter's and prolymphocytic transformation of chronic lymphocytic leukemia are associated with high mRNA expression of activation-induced cytidine deaminase and aberrant somatic hypermutation. *Leukemia*, 20(6), 1089-1095. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16541139>. doi:10.1038/sj.leu.2404183
- Robertson, L. E., Pugh, W., O'Brien, S., Kantarjian, H., Hirsch-Ginsberg, C., Cork, A., . . . Keating, M. J. (1993). Richter's syndrome: a report on 39 patients. *J Clin Oncol*, 11(10), 1985-1989. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8410123>. doi:10.1200/JCO.1993.11.10.1985
- Roschewski, M., & Wilson, W. H. (2012). EBV-associated lymphomas in adults. *Best Pract Res Clin Haematol*, 25(1), 75-89. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22409825>. doi:10.1016/j.beha.2012.01.005
- Rossi, D., Cerri, M., Capello, D., Deambrogi, C., Rossi, F. M., Zucchetto, A., . . . Gaidano, G. (2008). Biological and clinical risk factors of chronic lymphocytic leukaemia transformation to Richter syndrome. *Br J Haematol*, 142(2), 202-215. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18492108>. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07166.x
- Rossi, D., Spina, V., Deambrogi, C., Rasi, S., Laurenti, L., Stamatopoulos, K., . . . Gaidano, G. (2011). The genetics of Richter syndrome reveals disease heterogeneity and predicts survival after transformation. *Blood*, 117(12), 3391-3401. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21266718>. doi:10.1182/blood-2010-09-302174
- Ruan, J., Hajjar, K., Rafii, S., & Leonard, J. P. (2009). Angiogenesis and antiangiogenic therapy in non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*, 20(3), 413-424. Retrieved from

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19088170>.
doi:10.1093/annonc/mdn666
- Shafiq-Ul-Hassan, M., Zhang, G. G., Latifi, K., Ullah, G., Hunt, D. C., Balagurunathan, Y., . . . Moros, E. G. (2017). Intrinsic dependencies of CT radiomic features on voxel size and number of gray levels. *Med Phys*, *44*(3), 1050-1062. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28112418>. doi:10.1002/mp.12123
- Smit, L. A., van Maldegem, F., Langerak, A. W., van der Schoot, C. E., de Wit, M. J., Bea, S., . . . van Noesel, C. J. (2006). Antigen receptors and somatic hypermutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia with Richter's transformation. *Haematologica*, *91*(7), 903-911. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16818277>.
- Smith, A. D., Gray, M. R., del Campo, S. M., Shlapak, D., Ganeshan, B., Zhang, X., & Carson, W. E., 3rd. (2015). Predicting Overall Survival in Patients With Metastatic Melanoma on Antiangiogenic Therapy and RECIST Stable Disease on Initial Posttherapy Images Using CT Texture Analysis. *AJR Am J Roentgenol*, *205*(3), W283-293. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26295664>.
doi:10.2214/AJR.15.14315
- Soilleux, E. J., Wotherspoon, A., Eyre, T. A., Clifford, R., Cabes, M., & Schuh, A. H. (2016). Diagnostic dilemmas of high-grade transformation (Richter's syndrome) of chronic lymphocytic leukaemia: results of the phase II National Cancer Research Institute CHOP-OR clinical trial specialist haemato-pathology central review. *Histopathology*, *69*(6), 1066-1076. Retrieved from <Go to ISI>://WOS:000388296200018.
doi:10.1111/his.13024
- Song, M. K., Chung, J. S., Shin, D. Y., Lim, S. N., Lee, G. W., Choi, J. C., . . . Oh, S. Y. (2017). Tumor necrosis could reflect advanced disease status in patients with diffuse large B cell lymphoma treated with R-CHOP therapy. *Ann Hematol*, *96*(1), 17-23. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27677489>. doi:10.1007/s00277-016-2822-8
- Spira, D., Adam, P., Linder, C., Spira, S. M., Pintoffl, J., Claussen, C. D., & Horger, M. (2012). Perfusion and flow extraction product as potential discriminators in untreated follicular and diffuse large B cell lymphomas using volume perfusion CT with attempt at histopathologic explanation. *AJR Am J Roentgenol*, *198*(6), 1239-1246. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22623535>.
doi:10.2214/AJR.11.7858
- Starkov, P., Aguilera, T. A., Golden, D. I., Shultz, D. B., Trakul, N., Maxim, P. G., . . . Rubin, D. L. (2019). The use of texture-based radiomics CT analysis to predict outcomes in early-stage non-small cell lung cancer treated with stereotactic ablative radiotherapy. *Br J Radiol*, *92*(1094), 20180228. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30457885>.
doi:10.1259/bjr.20180228
- Summers, R. M. (2017). Texture analysis in radiology: Does the emperor have no clothes? *Abdom Radiol (NY)*, *42*(2), 342-345. Retrieved from

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27770161>. doi:10.1007/s00261-016-0950-1
- Tadmor, T., Shvidel, L., Bairey, O., Goldschmidt, N., Ruchlemer, R., Fineman, R., . . . Israeli, C. L. L. S. G. (2014). Richter's transformation to diffuse large B-cell lymphoma: a retrospective study reporting clinical data, outcome, and the benefit of adding rituximab to chemotherapy, from the Israeli CLL Study Group. *Am J Hematol*, *89*(11), E218-222. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25110869>. doi:10.1002/ajh.23826
- Thomas, R., Ribeiro, I., Shepherd, P., Johnson, P., Cook, M., Lakhani, A., . . . Catovsky, D. (2002). Spontaneous clinical regression in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*, *116*(2), 341-345. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11841436>.
- Timar, B., Fulop, Z., Csernus, B., Angster, C., Bognar, A., Szepesi, A., . . . Matolcsy, A. (2004). Relationship between the mutational status of VH genes and pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma in Richter's syndrome. *Leukemia*, *18*(2), 326-330. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14671632>. doi:10.1038/sj.leu.2403249
- Tsang, M., Shanafelt, T. D., Call, T. G., Ding, W., Chanan-Khan, A., Leis, J. F., . . . Parikh, S. A. (2015). The efficacy of ibrutinib in the treatment of Richter syndrome. *Blood*, *125*(10), 1676-1678. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25745187>. doi:10.1182/blood-2014-12-610782
- Tsimberidou, A. M., Kantarjian, H. M., Cortes, J., Thomas, D. A., Faderl, S., Garcia-Manero, G., . . . Giles, F. J. (2003). Fractionated cyclophosphamide, vincristine, liposomal daunorubicin, and dexamethasone plus rituximab and granulocyte-macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) alternating with methotrexate and cytarabine plus rituximab and GM-CSF in patients with Richter syndrome or fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*, *97*(7), 1711-1720. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12655528>. doi:10.1002/cncr.11238
- Tsimberidou, A. M., & Keating, M. J. (2005). Richter syndrome: biology, incidence, and therapeutic strategies. *Cancer*, *103*(2), 216-228. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15578683>. doi:10.1002/cncr.20773
- Tsimberidou, A. M., O'Brien, S., Kantarjian, H. M., Koller, C., Hagemester, F. B., Fayad, L., . . . Keating, M. J. (2006). Hodgkin transformation of chronic lymphocytic leukemia: the M. D. Anderson Cancer Center experience. *Cancer*, *107*(6), 1294-1302. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16902984>. doi:10.1002/cncr.22121
- Tsimberidou, A. M., O'Brien, S., Khouri, I., Giles, F. J., Kantarjian, H. M., Champlin, R., . . . Keating, M. J. (2006). Clinical outcomes and prognostic factors in patients with Richter's syndrome treated with chemotherapy or chemoimmunotherapy with or without stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*, *24*(15), 2343-2351. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16710033>. doi:10.1200/JCO.2005.05.0187

- Tsimberidou, A. M., Wierda, W. G., Plunkett, W., Kurzrock, R., O'Brien, S., Wen, S., . . . Keating, M. J. (2008). Phase I-II study of oxaliplatin, fludarabine, cytarabine, and rituximab combination therapy in patients with Richter's syndrome or fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*, 26(2), 196-203. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18182662>. doi:10.1200/JCO.2007.11.8513
- van Griethuysen, J. J. M., Fedorov, A., Parmar, C., Hosny, A., Aucoin, N., Narayan, V., . . . Aerts, H. (2017). Computational Radiomics System to Decode the Radiographic Phenotype. *Cancer Res*, 77(21), e104-e107. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29092951>. doi:10.1158/0008-5472.CAN-17-0339
- Wang, Y., Tschautscher, M. A., Rabe, K. G., Call, T. G., Leis, J. F., Kenderian, S. S., . . . Ding, W. (2020). Clinical characteristics and outcomes of Richter transformation: experience of 204 patients from a single center. *Haematologica*, 105(3), 765-773. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31197071>. doi:10.3324/haematol.2019.224121
- Yip, C., Davnall, F., Kozarski, R., Landau, D. B., Cook, G. J., Ross, P., . . . Goh, V. (2015). Assessment of changes in tumor heterogeneity following neoadjuvant chemotherapy in primary esophageal cancer. *Dis Esophagus*, 28(2), 172-179. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24460831>. doi:10.1111/dote.12170
- Zhang, H., Graham, C. M., Elci, O., Griswold, M. E., Zhang, X., Khan, M. A., . . . Smith, A. D. (2013). Locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: CT texture and histogram analysis allow independent prediction of overall survival in patients treated with induction chemotherapy. *Radiology*, 269(3), 801-809. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23912620>. doi:10.1148/radiol.13130110

Eigenanteilserklärung

Die Arbeit wurde im Universitätsklinikum Tübingen in der Abteilung für Diagnostische und Interventionelle Radiologie unter Betreuung von Prof. Dr. med. Marius Horger durchgeführt.

Die Befundung und Segmentierung der CT Aufnahmen wurde selbständig durchgeführt und durch Herrn Prof. Dr. med. Marius Horger supervidiert.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben. Die Korrektur des Manuskripts wurde von Herrn Prof Dr. med. Marius Horger durchgeführt.

Ich erkläre keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, 06.11.23

Veröffentlichungen

Große Teile der vorliegenden Dissertationsschrift sind in die folgende Publikation eingeflossen:

C. P. Reinert , B. Federmann, J. Hofmann, H. Bösmüller, S. Wirths, J. Fritz,
M. Horger

Computed tomography textural analysis for the differentiation of chronic lymphocytic leukemia and diffuse large B cell lymphoma of Richter syndrome

European Radiology, (2019), Volume 29, Issue 12, pp 6911-6921. Springer Verlag, PMID: 31236702, DOI: 10.1007/s00330-019-06291-9



Computed tomography textural analysis for the differentiation of chronic lymphocytic leukemia and diffuse large B cell lymphoma of Richter syndrome

C.P. Reinert¹ · B. Federmann² · J. Hofmann¹ · H. Bösmüller² · S. Wirths³ · J. Fritz⁴ · M. Horger¹

Received: 14 March 2019 / Revised: 11 May 2019 / Accepted: 28 May 2019 / Published online: 24 June 2019
© European Society of Radiology 2019

Abstract

Objective To test the hypothesis that both indolent and aggressive chronic lymphocytic leukemia (CLL) can be differentiated from diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) of Richter syndrome (RS) by CT texture analysis (CTTA) of involved lymph nodes.

Material and methods We retrospectively included 52 patients with indolent CLL (26/52), aggressive CLL (8/52), and DLBCL of RS (18/52), who underwent standardized contrast-enhanced CT. In main lymphoma tissue, VOIs were generated from which CTTA features including first-, second-, and higher-order textural features were extracted. CTTA features were compared between the entire CLL group, the indolent CLL subtype, the aggressive CLL subtype, and DLBCL using a Kruskal-Wallis test. All *p* values were adjusted after the Bonferroni correction. ROC analyses for significant CTTA features were performed to determine cut-off values for differentiation between the groups.

Results Compared with DLBCL of RS, CTTA of the entire CLL group showed significant differences of entropy heterogeneity ($p < 0.001$), mean intensity ($p < 0.001$), mean average ($p = 0.02$), and number non-uniformity gray-level dependence matrix (NGLDM) ($p = 0.03$). Indolent CLL significantly differed for entropy ($p < 0.001$), uniformity of heterogeneity ($p = 0.02$), mean intensity ($p < 0.001$), and mean average ($p = 0.01$). Aggressive CLL showed significant differences in mean intensity ($p = 0.04$). For differentiation between CLL and DLBCL of RS, cut-off values for mean intensity and entropy of heterogeneity were defined (e.g., 6.63 for entropy heterogeneity [aggressive CLL vs. DLBCL]; sensitivity 0.78; specificity 0.63).

Conclusions CTTA features of ultrastructure and vascularization significantly differ in CLL compared with that in DLBCL of Richter syndrome, allowing complementary to visual features for noninvasive differentiation by contrast-enhanced CT.

Key Points

- Richter transformation of CLL into DLBCL results in structural changes in lymph node architecture and vascularization that can be detected by CTTA.
- First-order CT textural features including intensity and heterogeneity significantly differ between both indolent CLL and aggressive CLL and DLBCL of Richter syndrome.
- CT texture analysis allows for noninvasive detection of Richter syndrome which is of prognostic value.

H. Bösmüller and M. Horger contributed equally to this work.

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00330-019-06291-9>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ C.P. Reinert
christian.reinert@med.uni-tuebingen.de

¹ Department of Diagnostic and Interventional Radiology, University Hospital Tübingen, Hoppe-Seyler-Str.3, 72076 Tübingen, Germany

² Department of Pathology and Neuropathology, University Hospital Tübingen, Liebermeisterstraße 8, 72076 Tübingen, Germany

³ Department of Hematology and Oncology, University Hospital Tübingen, Otfried-Müller-Str. 10, 72076 Tübingen, Germany

⁴ Russell H. Morgan Department of Radiology and Radiological, Johns Hopkins University School of Medicine, Science, 601 N. Caroline Street, JHOC 3142, Baltimore, MD 21287, USA

Keywords Texture analysis · Tomography, X-ray-computed · Leukemia, lymphocytic, chronic, B cell · Lymphoma, large B cell, diffuse

Abbreviations

CECT	Contrast-enhanced CT
CLL	Chronic lymphocytic leukemia
CTTA	CT texture analysis
DLBCL	Diffuse large B cell lymphoma
FDG	Fluorodeoxyglucose
LDH	Lactate dehydrogenase
ROI	Region of interest
RS	Richter syndrome
VOI	Volume of interest

Introduction

B cell chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common chronic lymphoproliferative disease with a long and indolent course. The disease is characterized by proliferation of mature-appearing lymphocytes in the bone marrow, lymph nodes, and extra-lymphatic sites. Observation is often sufficient in the early stages, which present with no or subtle symptoms and have median survival times of greater than 10 years without therapy [1, 2]. However, advanced stages of CLL with enlarged lymph nodes and extramedullary involvement require systemic treatment.

During the course of the disease, CLL may take a more aggressive course with higher proliferation rates [3]. Up to 10% of CLL patients will undergo transformation into diffuse large B cell lymphoma, or less common Hodgkin's lymphoma, composite lymphoma, and interdigitating dendritic cell sarcoma (Richter syndrome) [4, 5].

The diagnosis of Richter syndrome is based on a combined assessment of clinical, laboratory, and imaging data. Rapidly enlarging lymph nodes, extra-lymphatic involvement of the liver, spleen and other tissue types, and bone marrow infiltration in conjunction with rapidly rising lactate dehydrogenase (LDH) level are suggestive for Richter syndrome [6]. In addition, positron emission tomography (PET) with abnormal ^{18}F -FDG (fluorodeoxyglucose) tracer accumulation of maximum standardized uptake value greater than five is considered highly suggestive for Richter syndrome [7]. However, standardized uptake values of advanced CLL with higher proliferation ratio can overlap with those of diffuse large B cell lymphoma (DLBCL), and even with other mimics of Richter syndrome, including viral and other lymph node infections [8–12]. In addition, chemotherapy and immunotherapies increase the likelihood of false-positive results, whereas newer biologic agents may inhibit glucose uptake and thus reduce standardized uptake values [13, 14].

The changing lymph node morphology that occurs during the transformation of CLL with lymphocyte-rich tissue into DLBCL with different amounts of vascularity and necrosis could represent an additional marker for the differentiation between the two entities [15]. Histologically, CLL consists of a diffuse architectural effacement due to a monotonous proliferation of small lymphocytes presenting with scant cytoplasm and a round nucleus with clumped chromatin, minimal mitotic activity, and a very low proliferation index [16, 17]. In contrast, large B lymphoid cells present with a nuclear size equal to or exceeding to that of macrophage nuclei or more than twice the size of a normal lymphocyte that is not present throughout the neoplasm [18–20]. Hence, macroscopically, a more heterogeneous attenuation of DLBCL is expected. While the clinical significance of the varying attenuation of different lymphoma types has been evaluated previously [21], computed tomography (CT) texture analysis is a novel histogram-based post-processing technique, which uses image data for ultrastructural tissue characterization and generation of quantitative imaging biomarkers that could be more accurate than qualitative assessments [22]. As tumor heterogeneity can be difficult to quantify with traditional imaging tools, CT texture analysis (CTTA) is a potentially useful biomarker that allows assessment and quantification of tumor spatial heterogeneity [23]. In various tumor types, e.g., colorectal cancer [24], esophageal cancer [25], lung cancer [26], head and neck cancer [27], and renal cell carcinoma [28], CTTA has shown promise in predicting pathologic features, response to therapy, and prognosis.

Therefore, the purpose of our study was to test the hypothesis that both indolent and aggressive CLL can be differentiated from DLBCL of Richter syndrome by CT texture analysis of involved lymph nodes.

Material and methods

Our study protocol was approved for retrospective evaluation of patient data by our institutional ethics committee with a waiver of the informed consent requirement (project number 467/2018).

We performed a retrospective search of our hospital information system for patients who underwent combined contrast-enhanced CT (CECT) and tissue sampling with sub-segment histopathological evaluation for Richter syndrome of CLL between March 2011 and May 2017. The search identified a total of 52 patients (19 female; mean age 70.3 ± 12.7 years), 26/52 (50%) patients with indolent CLL, 8/52 (15%) patients with aggressive CLL, and 18/52 (35%) patients with DLBCL

due to Richter syndrome. The patients with indolent CLL were classified according to the Binet classification into Binet A (12/26, 46%), Binet B (12/26, 46%), and Binet C (2/26, 8%) [29]. Aggressive CLL was defined clinically and radiologically by higher growth dynamics of involved lymph nodes and similarly classified as Binet A (2/8, 25%), Binet B (4, 50%), and Binet C (2/8, 25%).

Computed tomography protocol

CT was performed with patients in the supine position using 128-slice MDCT scanners (SOMATOM Definition AS+ or SOMATOM Definition Flash, Siemens Healthcare). Unenhanced and contrast-enhanced portal-venous phases were obtained using 120-kV photon energy, 200-mAs tube current, a soft tissue image reconstruction kernel, and 1-mm slice thickness for image reconstruction. A total of 100-mL iodine contrast agent (Iopromide, Ultravist 370, Bayer Vital) was given intravenously at a rate of 2 mL/s followed by a 30-mL saline chaser. Image acquisition began 65 s after the start of contrast agent injection. Image reconstruction was performed in all patients using filtered back projection.

Computed tomography texture analysis

CTTA data evaluation was performed using radiomics software (Siemens Healthcare) that is based on the pyradiomics package, a python package for the extraction of radiomics features from medical imaging [30]. CTTA was applied on image data sets that were reconstructed with 1-mm slice thickness. In patients with aggressive CLL and patients with DLBCL of RS, only enlarged lymph nodes which were biopsied or excised for histopathological proofing after imaging were selected for CTTA. In patients with indolent CLL, representative (enlarged) lymph nodes in the axilla, mediastinum, or retroperitoneum were selected for measurement. There was no extranodal Richter syndrome (RS) in our cohort. The regions of interests (ROIs) were drawn manually in lymph nodes under exclusion of neighboring tissues like blood vessels and visibly necrotic areas. This procedure of ROI setting was performed by two radiologists in consensus with an experience of 2 years and 5 years in CTTA. To provide comparability for all data sets, standardized measurements were performed. All set ROIs were used to generate the specific volume of interests (VOIs). The computation of each texture type for an input volume of interest involved assigning a new value (“texture value”) to all voxels of that volume of interest and thus creating a “texture image.” The first step consisted of image filtration for selectively extracting features of different sizes and intensity variation. The image filtration-histogram technique extracts texture features of different sizes followed by histogram quantification as described by Miles et al [31]. In the second step, quantification of tissue texture

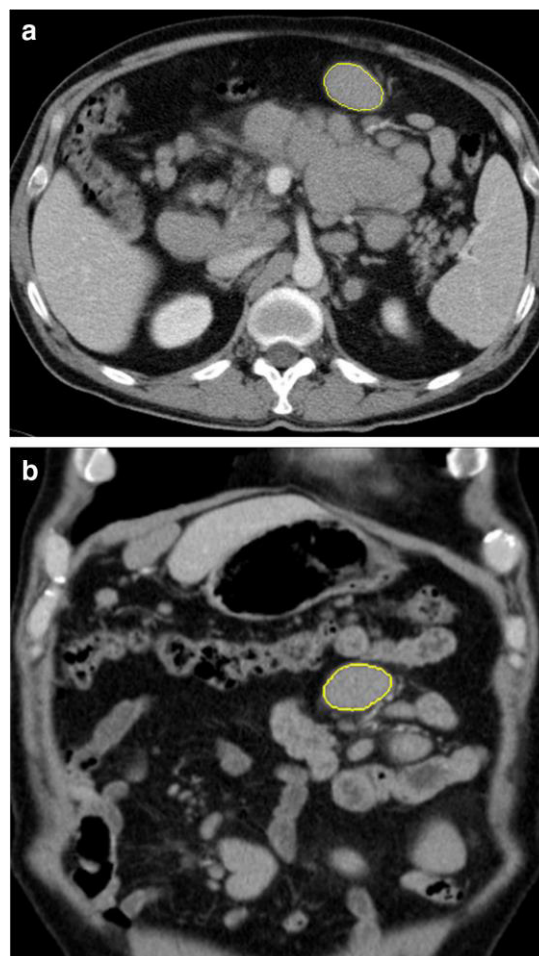


Fig. 1 A 56-year-old male patient with DLBCL of Richter syndrome and involved mesenteric lymph nodes. Axial (**a**) and coronal (**b**) CT images showing a lymphoma mass in which a volume of interest was drawn for CT texture analysis, thereby excluding other anatomical structures, such as adjacent vessels

was performed using series of derived images displaying features at different spatial scales from fine (2 mm in radius) to coarse texture (6 mm in radius) within a volume of interest (Fig. 1). Window ranges of 0 to 400 HU were used. Computation was performed on the current voxel and its neighborhood, and the results of that were stored as the texture value of the current voxel. This was repeated for every voxel in the volume of interest. The texture type defined the specific kind of computation that was performed, including heterogeneity, intensity, deviation, average, skewness, entropy of co-occurrence, number non-uniformity gray-level dependence matrix (NGLDM), entropy NGLDM, and contrast neighboring gray tone difference matrix (NGTDM). For all these parameters, the mean, entropy, and uniformity were calculated.

The definition of each of these parameters is given as supplemental material (Table 4). For the final evaluation, we used the coarse filter. We first compared the group of CLL with DLBCL, and then both the indolent and aggressive CLL subtypes separately against DLBCL.

Histology

Histological criteria for the diagnosis of DLBCL were a diffuse effacement of lymph nodes or extranodal sites with sheets of large cells with centroblastic, immunoblastic, or anaplastic morphology and a starry-sky pattern with apoptosis and tumor necrosis [18]. In contrast, the histological criteria for CLL were an infiltrate consisting of small round lymphocytes with dense chromatin, sparse cytoplasm, and low mitotic activity [32].

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS Version 22 (IBM Corporation). All parameters were tested by the Kolmogorov-Smirnov test for the normality. The Kruskal-Wallis test was used to compare textural features between the entire CLL group, indolent CLL, aggressive CLL, and DLBCL of Richter syndrome. To address the multiple comparisons, a Bonferroni correction was applied. The adjusted p values were considered significant at a level of 0.05. The predictive performance was assessed by estimating predictive values (positive predictive value [PPV] and negative predictive value [NPV]), sensitivity and specificity, and the area under the curve (AUC) with receiver operating characteristic (ROC) curves. The ROC curve was generated by computing

sensitivity and specificity at each observed cut-off. The optimal cut-off values are derived from the point on the ROC curve with the minimum distance to the upper-left corner (where sensitivity and specificity equal 1, respectively).

Results

Computed tomography texture analysis of indolent CLL and DLBCL of Richter syndrome

CTTA values between patients with indolent CLL and patients with DLBCL of Richter syndrome demonstrated significant differences of mean intensity (indolent CLL, 66.68 ± 10.99 ; DLBCL, 54.18 ± 14.83 ; $p < 0.001$), entropy of heterogeneity (indolent CLL, 2.96 ± 3.46 ; DLBCL, 6.36 ± 2.34 ; $p < 0.001$) (Fig. 2), uniformity of heterogeneity (indolent CLL, 0.005 ± 0.004 ; DLBCL, 0.008 ± 0.004 ; $p = 0.02$), and mean average (indolent CLL, 67.89 ± 16.35 ; DLBCL, 53.89 ± 14.83 ; $p = 0.01$) (Table 1). For the differentiation between indolent CLL and DLBCL of Richter syndrome, receiver operating characteristic analysis derived 6.68 as the cut-off value for entropy of heterogeneity (sensitivity 0.78, specificity 0.73, PPV 0.67, NPV 0.83) and 58.56 as the cut-off value for mean intensity (sensitivity 0.81, specificity 0.72, PPV 0.67, NPV 0.84) (Fig. 3).

Computed tomography texture analysis of aggressive CLL and DLBCL of Richter syndrome

CTTA values between patients with aggressive CLL and patients with DLBCL of Richter syndrome demonstrated

Fig. 2 Texture parameter values of intensity mean and heterogeneity entropy in patients with DLBCL (Richter transformation, $n = 18$) compared with that in the indolent group of CLL patients ($n = 26$). A Kruskal-Wallis test was applied. Adjusted p values are shown after Bonferroni correction. ** = $p < 0.001$

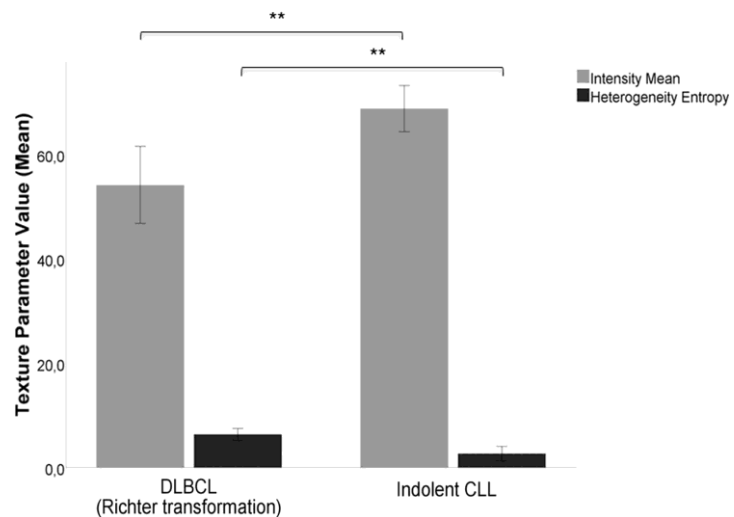


Table 1 Computed tomography texture analysis values in patients with indolent CLL ($n = 26$) and patients with DLBCL of Richter syndrome ($n = 18$) on portal-venous phase CT images using a coarse filter. A

Kruskal-Wallis test was applied. P values have been adjusted after Bonferroni correction. ** $p < 0.001$; * $p < 0.05$

Coarse Filter	CLL (indolent course)			DLBCL (Richter syndrome)			p value (CLL vs. DLBCL)		
	Mean	Entropy	Uniformity	Mean	Entropy	Uniformity	Mean	Entropy	Uniformity
Heterogeneity	-0.04	2.96	0.005	-0.02	6.36	0.008	.75	< .001**	.02*
Intensity	66.68	5.79	0.02	54.18	5.78	0.02	< .001**	1.0	1.0
Average	67.89	3.64	0.13	53.89	3.99	0.09	.01*	.28	.24
Deviation	22.82	3.27	0.17	17.71	3.28	0.16	.27	1.0	1.0
Skewness	-0.04	3.89	0.24	-0.002	4.87	0.11	1.0	.10	.23
Entropy (Co-occurrence Matrix)	0.55	5.76	0.11	0.34	5.74	0.18	.33	.77	1.0
Difference Variance (Co-occurrence Matrix)	0.09	5.19	0.12	0.05	4.91	0.19	.20	1.0	1.0
Number non-uniformity (NGLDM)	0.62	4.15	0.22	0.76	4.04	0.24	.07	1.0	.68
Entropy (NGLDM)	1.14	6.07	0.09	1.10	6.76	0.02	.54	.25	.50
Contrast (NGTDM)	116.98	3.48	0.43	89.82	3.40	0.43	1.0	.91	1.0

significant differences of mean intensity (aggressive CLL, 64.65 ± 6.61 ; DLBCL, 54.18 ± 14.83 ; $p = 0.04$) using a coarse filter (Fig. 4). The entropy of heterogeneity was higher in DLBCL of RS (6.36 ± 2.34) than in aggressive CLL (5.02 ± 3.12) without statistical significance ($p = 0.06$) (Fig. 4; Table 2). For the differentiation between aggressive CLL and DLBCL of Richter syndrome, receiver operating characteristic analysis derived 6.63 as the cut-off value for the entropy of heterogeneity (sensitivity 0.78, specificity 0.63, PPV 0.82, NPV 0.56) and 58.63 as the cut-off value for mean

intensity (sensitivity 0.75, specificity 0.72, PPV 0.86, NPV 0.56) (Fig. 5).

Computed tomography texture analysis of combined indolent and aggressive CLL and DLBCL of Richter syndrome

CTTA values between the groups including patients with indolent and aggressive CLL and patients with DLBCL of Richter syndrome demonstrated significant differences of

Fig. 3 Receiver operating characteristic (ROC) analysis based on the texture parameters heterogeneity entropy (a) and intensity mean (b) which have been proven to be significantly different between patients with indolent CLL and patients with DLBCL of Richter syndrome. Discriminating cut-off values have been determined for optimal differentiation between the two groups

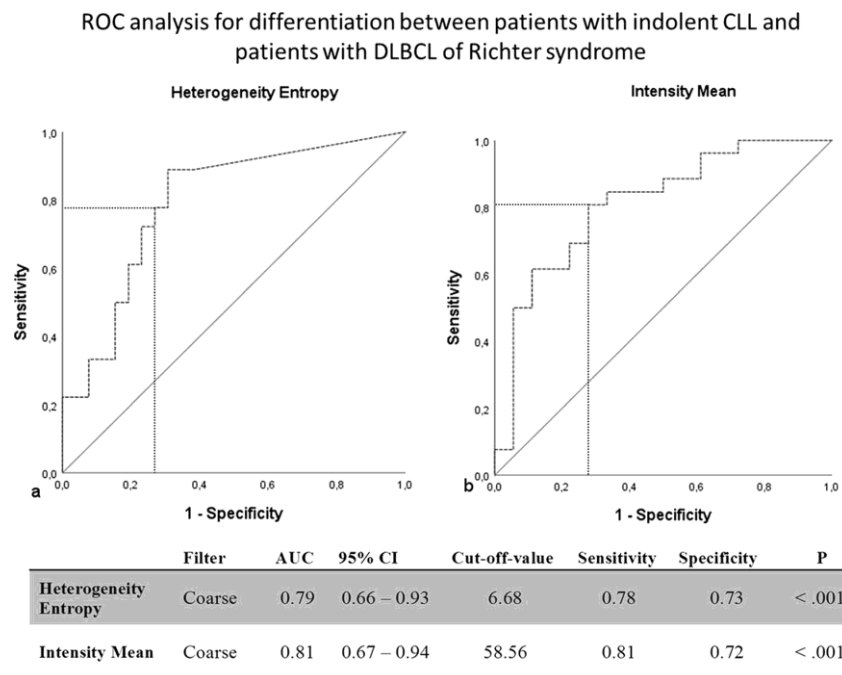
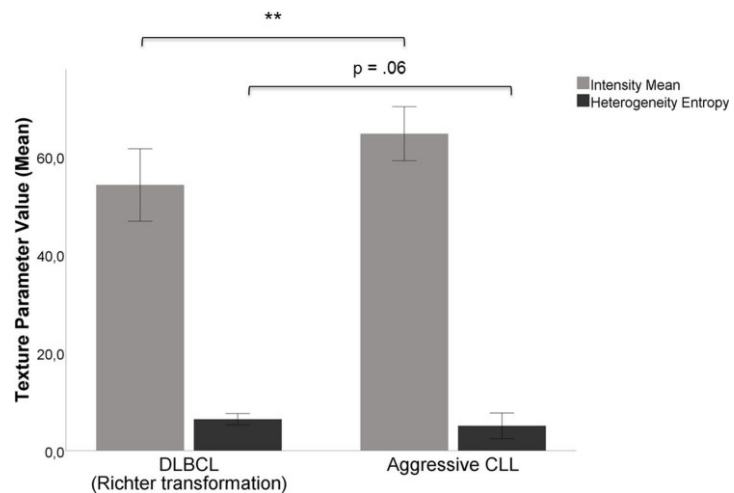


Fig. 4 Texture parameter values of intensity mean and heterogeneity entropy in patients with DLBCL (Richter transformation, $n = 18$) compared with that in the aggressive group of CLL patients ($n = 8$). A Kruskal-Wallis test was applied. Adjusted p values are shown after Bonferroni correction. $** = p < 0.001$



mean intensity (CLL, 67.85 ± 10.20 ; DLBCL, 54.18 ± 14.83 ; $p < 0.001$), entropy of heterogeneity (CLL, 3.22 ± 3.49 ; DLBCL, 6.36 ± 2.34 ; $p < 0.001$), mean average (CLL, 66.23 ± 14.98 ; DLBCL, 53.89 ± 14.83 ; $p = 0.02$), and number non-uniformity gray-level dependence matrix (NGLDM) (CLL, 0.61 ± 0.23 ; DLBCL, 0.76 ± 0.35 ; $p = 0.03$) using a coarse filter (Fig. 6; Table 3). For the differentiation between all CLL and DLBCL of Richter syndrome, receiver operating characteristic analysis derived for 6.86 as the cut-off value for the entropy of heterogeneity (sensitivity 0.81, specificity 0.74, PPV 0.63, NPV 0.88) and 58.56 as the cut-off value for mean intensity (sensitivity 0.79, specificity 0.72, PPV 0.60, NPV 0.86) (Fig. 7).

Discussion

We performed a standardized CT texture analysis of contrast-enhanced CT image data in order to quantify ultrastructural tissue differences and differences in the intensity and distribution of contrast enhancement between two lymphoma types. Our results show significant differences in first-order CT textural features, which may allow for CT-based differentiation and diagnosis of CLL transformation into DLBCL.

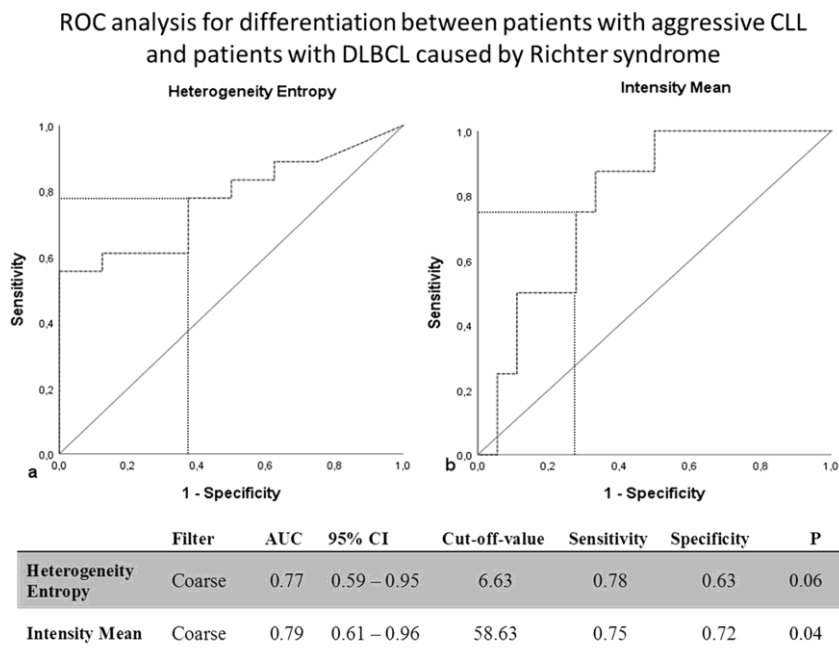
In this study, we first compared CTTA features of indolent CLL with those of DLBCL of RS and found significant differences in terms of mean intensity and average (noise-corrected image intensity) which proved higher in CLL,

Table 2 Computed tomography texture analysis values in patients with aggressive CLL ($n = 8$) and patients with DLBCL of Richter syndrome ($n = 18$) on portal-venous phase CT images using a coarse filter. A

Kruskal-Wallis test was applied. P values have been adjusted after Bonferroni correction. $* p < 0.05$

Coarse Filter	CLL (aggressive course)			DLBCL (Richter syndrome)			p value (CLL vs. DLBCL)		
	Mean	Entropy	Uniformity	Mean	Entropy	Uniformity	Mean	Entropy	Uniformity
Heterogeneity	-0.0004	5.02	0.01	-0.02	6.36	0.01	.92	.06	.73
Intensity	64.65	5.82	0.02	54.18	5.78	0.02	.04*	1.0	1.0
Average	62.75	3.71	0.09	53.89	3.99	0.09	.29	.73	.62
Deviation	17.31	2.85	0.19	17.71	3.28	0.16	1.0	.73	.62
Skewness	-0.0004	4.53	0.13	-0.002	4.87	0.11	.48	1.0	.99
Entropy (Co-occurrence Matrix)	0.71	6.42	0.05	0.34	5.74	0.18	.16	1.0	1.0
Difference Variance (Co-occurrence Matrix)	0.10	5.40	0.06	0.05	4.91	0.19	.20	1.0	1.0
Number non-uniformity (NGLDM)	0.66	4.69	0.17	0.76	4.04	0.24	.52	.92	.35
Entropy (NGLDM)	1.19	6.65	0.02	1.10	6.76	0.02	1.0	1.0	.10
Contrast (NGTDM)	171.62	4.51	0.32	89.82	3.40	0.43	.73	.68	.57

Fig. 5 Receiver operating characteristic (ROC) analysis based on the texture parameters heterogeneity entropy (a) and intensity mean (b). Intensity mean has been proven to be significantly different between patients with aggressive CLL and patients with DLBCL of Richter syndrome. Discriminating cut-off values have been determined for optimal differentiation between the two groups



entropy of heterogeneity which was double as high for DLBCL of RS, and uniformity of heterogeneity which was lower in DLBCL of RS. These CTTA features are reflecting higher tissue attenuation in CLL (mean intensity) and higher tissue heterogeneity of DLBCL of RS (higher entropy and lower uniformity of heterogeneity). As we applied CTTA on contrast-enhanced CT image data, the calculated textural features are expected to reflect both ultrastructural tissue

properties as well as differences in the vascular network between the investigated lymphoma types. The lower mean intensity (attenuation) values of DLBCL of RS were therefore surprising as the microvascular density of CLL should be similar when compared with that of DLBCL, or even increased in DLBCL [33, 34]. However, microvascular areas of the DLBCL are known to show more variability, and interspaced areas of tumor necrosis and apoptosis are

Fig. 6 Texture parameter values of intensity mean and heterogeneity entropy in patients with DLBCL (Richter transformation, $n = 18$) compared with that in the entire group of CLL patients (both the indolent and aggressive subtype, $n = 34$). A Kruskal-Wallis test was applied. Adjusted p values are shown after Bonferroni correction. $** = p < 0.001$

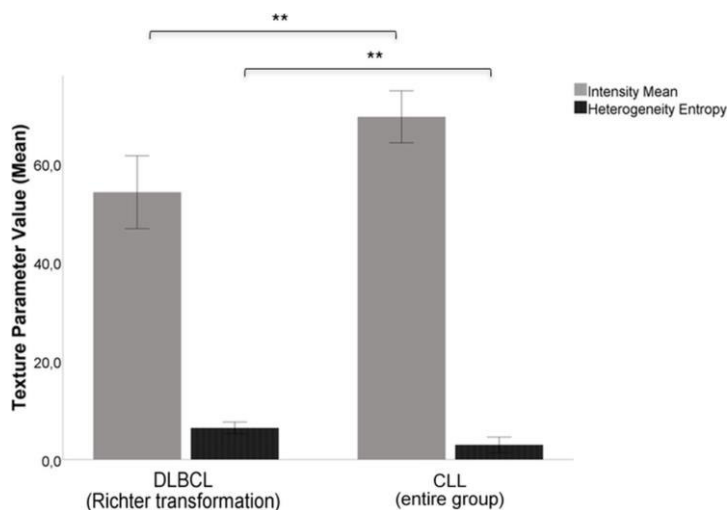


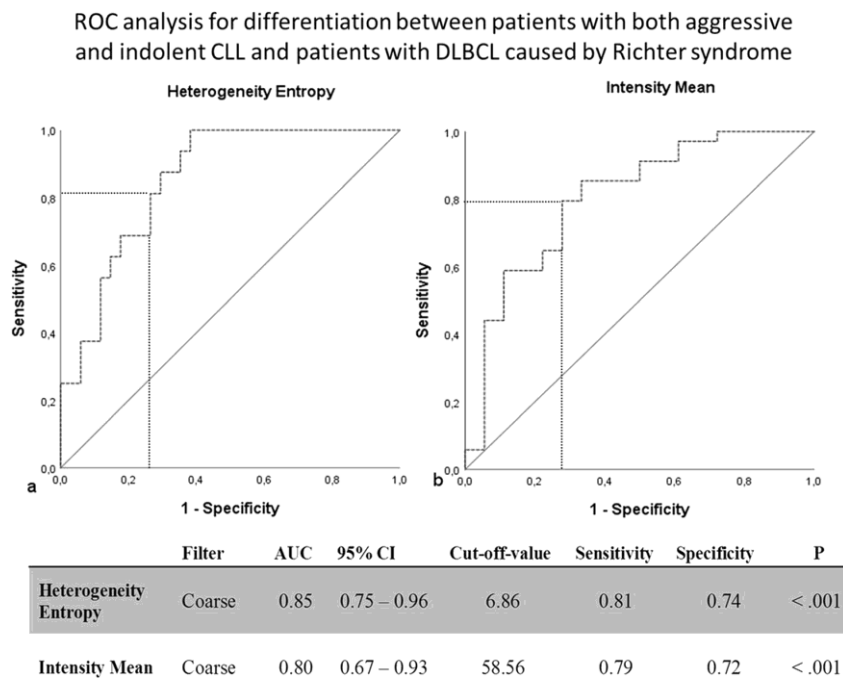
Table 3 Computed tomography texture analysis values in patients with indolent and aggressive CLL ($n = 34$) and patients with DLBCL of Richter syndrome ($n = 18$) on portal-venous phase CT images using acoarse filter. A Kruskal-Wallis test was applied. p values have been adjusted after Bonferroni correction. ** $p < 0.001$; $p < 0.05$

Coarse Filter	CLL (indolent and aggressive course)			DLBCL (Richter syndrome)			p value (CLL vs. DLBCL)		
	Mean	Entropy	Uniformity	Mean	Entropy	Uniformity	Mean	Entropy	Uniformity
Heterogeneity	-0.02	3.22	0.01	-0.02	6.36	0.008	.49	< .001**	.22
Intensity	67.85	5.77	0.02	54.18	5.78	0.02	< .001**	.99	.92
Average	66.23	3.68	0.11	53.89	3.99	0.09	.02*	.40	.40
Deviation	21.98	3.18	0.17	17.71	3.28	0.16	.43	1.0	1.0
Skewness	-0.02	4.01	0.21	-0.002	4.87	0.11	1.0	.51	.95
Entropy (Co-occurrence Matrix)	0.59	6.02	0.08	0.34	5.74	0.18	.06	1.0	1.0
Difference Variance (Co-occurrence Matrix)	0.09	5.35	0.09	0.05	4.91	0.19	.08	1.0	.95
Number non-uniformity (NGLDM)	0.61	4.47	0.18	0.76	4.04	0.24	.03*	.76	.11
Entropy (NGLDM)	1.25	6.27	0.07	1.10	6.76	0.02	.37	.79	1.0
Contrast (NGTDM)	126.77	3.501	0.44	89.82	3.40	0.43	1.0	1.0	1.0

presumed to be responsible for a lower mean attenuation on CECT irrespective of the visual presence of larger areas of necrosis [35]. Based on our results, one may speculate that the vessel wall permeability and thus diffusion of contrast medium in the extravascular space are greater in CLL; however, we were unable to further assess this finding as no tumor perfusion data were available in our cohort. Nevertheless, these results indicate the existence of sufficiently accurate

cut-off values that may allow the differentiation of indolent CLL from DLBCL of Richter syndrome, including 58.56 for mean intensity and 6.68 for entropy heterogeneity. Second, we separately evaluated the subgroup of aggressive CLL which is expected to show more similarities with the aggressive DLBCL of RS and, indeed, we found only one significant difference between the two which was again the mean intensity. The calculated cut-off values of 58.63 for mean intensity

Fig. 7 Receiver operating characteristic (ROC) analysis based on the texture parameters heterogeneity entropy (a) and intensity mean (b) which have been proven to be significantly different between patients with both indolent and aggressive CLL and patients with DLBCL of Richter syndrome. Discriminating cut-off values have been determined for optimal differentiation between the two groups



and 6.63 for entropy heterogeneity (which also differed but not reaching statistical significance) may therefore also allow the differentiation of aggressive CLL from DLBCL of RS. Finally, similar cut-off values apply to the entire group of CLL for differentiation from DLBCL of RS. Comparing all CLL patients with DLBCL of RS patients yielded additionally a significant difference in NGLDM. The separate assessment of the two subgroups of CLL with lower extramedullary tumor burden / low growth dynamic and CLL with rapidly enlarging lymph nodes and hepatosplenomegaly but no histopathology evidence of Richter transformation showed similarly significant differences to DLBCL with lower values of mean intensity and mean average as well as higher values of entropy of heterogeneity for DLBCL. Notably, mean intensity and entropy of heterogeneity values were significantly different in the more aggressive CLL group than in DLBCL of RS. Pathology findings in all patients were consulted for understanding our CTTA results.

The need for additional imaging markers was our motivation for the evaluation of CT texture analysis for the differentiation of CLL and DLBCL of Richter syndrome. The Richter transformation occurs generally at a single location. CT morphologic changes at follow-up may suggest this complication, but the complementary characterization of such findings, e.g., by means of CTTA, would be wishful and we therefore believe that this post-processing tool could enhance the diagnostic accuracy of CT in this respect.

The role of first-order textural features and, in particular, of tumor heterogeneity for tumor assessment as well as its implications for prognosis and for treatment response monitoring has been evaluated previously in other tumor entities [36–38]. Lubner et al found that pretreatment tumor heterogeneity in primary renal cell carcinomas correlates with histology and clinical outcome [22]. Ganeshan et al found strong correlations between the esophageal tumor heterogeneity, tumor metabolism, stage, and survival [25]. The same authors found similar results in non-small cell lung carcinomas where tumor heterogeneity predicted survival [26]. In a report by Ng et al, tumor heterogeneity predicted 5-year survival in colorectal carcinomas [24]. Many other studies focused on the overall benefit of using CTTA features for tumor characterization, discrimination, for prediction of response to therapy, and survival [39–41]. Goh et al reported a continuous decrease in the heterogeneity of renal cell carcinomas during successful treatment with tyrosine kinase inhibitors [42].

Our study has limitations. First, image data evaluation was performed retrospectively and the number of patients is limited. This could have impacted the examination protocol and the CTTA quantification results. However, at our institution, CT protocols including the administered contrast agent volume are standardized which minimizes variability of used imaging parameters. Nevertheless, the contrast agent volume was not adapted to body weight and, therefore, this might have

influenced to some extent the quantification of tissue attenuation and related CTTA features (e.g., mean intensity). Second, we did not address extranodal involvement by Richter transformation in order to ensure comparability of results. Third, we used only a limited number of CT textural features in order to limit the complexity of the results. However, the most frequently applied and robust textural features are those of the first-order and in particular the heterogeneity which has been by far most often used as a noninvasive surrogate for spatial heterogeneity in cellular density, angiogenesis (if contrast-enhanced studies are evaluated as in our own study), and necrosis. Moreover, these features are less affected by image noise.

In conclusion, CTTA features of ultrastructure and vascularization are significantly different in patients with CLL compared with those with DLBCL of Richter syndrome, which may allow complementary to visual features for a noninvasive differentiation by contrast-enhanced CT.

Funding The authors state that this work has not received any funding.

Compliance with ethical standards

Guarantor The scientific guarantor of this publication is Dr. Christian Philipp Reinert.

Conflict of interest Marius Horger received institutional research funds and speaker's honorarium from Siemens Healthineers and is a scientific advisor of Siemens Healthcare, Germany. Konstantin Nikolaou received institutional research funds and speaker's honorarium from Siemens Healthineers and is a scientific advisor of Siemens Healthcare, Germany. Jan Fritz received institutional research support from Siemens Healthcare, USA, DePuy, Zimmer, Microsoft, and BTG International; is a scientific advisor of Siemens Healthcare USA, Alexion Pharmaceuticals, and BTG International; received speaker's honorarium from Siemens Healthcare, USA; and has shared patents with Siemens Healthcare and Johns Hopkins University. The other authors have declared that no competing interests exist.

Statistics and biometry Dr. Christian Philipp Reinert has significant statistical expertise.

Informed consent Written informed consent was waived by the Institutional Review Board (project number 467/2018).

Ethical approval Institutional Review Board approval was obtained.

Methodology

- retrospective
- diagnostic study
- performed at one institution

References

1. Lynch RC, Gratzinger D, Advani RH (2017) Clinical impact of the 2016 update to the WHO lymphoma classification. *Curr Treat Options Oncol* 18(45)

2. (1990) Effects of chlorambucil and therapeutic decision in initial forms of chronic lymphocytic leukemia (stage A): results of a randomized clinical trial on 612 patients. The French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood* 75:1414–1421
3. Hallek M (2017) Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol* 92:946–965
4. Tsimberidou AM, O'Brien S, Kantarjian HM et al (2006) Hodgkin transformation of chronic lymphocytic leukemia: the M. D. Anderson Cancer Center experience. *Cancer* 107:1294–1302
5. Vitale C, Ferrajoli A (2016) Richter syndrome in chronic lymphocytic leukemia. *Curr Hematol Malig Rep* 11:43–51
6. Jain P, O'Brien S (2012) Richter's transformation in chronic lymphocytic leukemia. *Oncology (Williston Park)* 26:1146–1152
7. Niemann CU, Polliack A, Hutchings M (2014) Suspected Richter transformation: positron emission tomography/computed tomography tells us who should have a biopsy and where. *Leuk Lymphoma* 55:233–234
8. Grozinger G, Adam P, Horger M (2014) HSV lymphadenitis in chronic lymphocytic leukemia – a rare but difficult differential diagnosis. *Rofö* 186:79–80
9. Liu Y (2011) Demonstrations of AIDS-associated malignancies and infections at FDG PET-CT. *Ann Nucl Med* 25:536–546
10. Mhlanga JC, Durand D, Tsai HL et al (2014) Differentiation of HIV-associated lymphoma from HIV-associated reactive adenopathy using quantitative FDG PET and symmetry. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 41:596–604
11. Bruzzi JF, Macapinlac H, Tsimberidou AM et al (2006) Detection of Richter's transformation of chronic lymphocytic leukemia by PET/CT. *J Nucl Med* 47:1267–1273
12. Papajik T, Mysliveček M, Urbanová R et al (2014) 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography/computed tomography examination in patients with chronic lymphocytic leukemia may reveal Richter transformation. *Leuk Lymphoma* 55:314–319
13. Ansell SM, Armitage JO (2012) Positron emission tomographic scans in lymphoma: convention and controversy. *Mayo Clin Proc* 87:571–580
14. Dubreuil J, Salles G, Bozzetto J et al (2017) Usual and unusual pitfalls of 18F-FDG-PET/CT in lymphoma after treatment: a pictorial review. *Nucl Med Commun* 38:563–576
15. Song MK, Chung JS, Shin DY et al (2017) Tumor necrosis could reflect advanced disease status in patients with diffuse large B cell lymphoma treated with R-CHOP therapy. *Ann Hematol* 96:17–23
16. Soilleux EJ, Wotherspoon A, Eyre TA, Clifford R, Cabel M, Schuh AH (2016) Diagnostic dilemmas of high-grade transformation (Richter's syndrome) of chronic lymphocytic leukaemia: results of the phase II National Cancer Research Institute CHOP-OR clinical trial specialist haemato-pathology central review. *Histopathology* 69:1066–1076
17. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al (2017) WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. International Agency for Research on Cancer
18. Rossi D, Spina V, Deambrogio C et al (2011) The genetics of Richter syndrome reveals disease heterogeneity and predicts survival after transformation. *Blood* 117:3391–3401
19. Pathania K (2009) Richter's syndrome. *Med J Armed Forces India* 65:375–377
20. Saito A, Takashima S, Takayama F, Kawakami S, Momose M, Matsushita T (2001) Spontaneous extensive necrosis in non-Hodgkin lymphoma: prevalence and clinical significance. *J Comput Assist Tomogr* 25:482–486
21. Adams HJA, de Klerk JMH, Fijnheer R et al (2016) Tumor necrosis at FDG-PET is an independent predictor of outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Eur J Radiol* 85:304–309
22. Lubner MG, Smith AD, Sandrasegaran K, Sahani DV, Pickhardt PJ (2017) CT texture analysis: definitions, applications, biologic correlates, and challenges. *Radiographics* 37:1483–1503
23. Ganesan B, Miles KA (2013) Quantifying tumour heterogeneity with CT. *Cancer Imaging* 13:140–149
24. Ng F, Ganesan B, Kozarski R, Miles KA, Goh V (2013) Assessment of primary colorectal cancer heterogeneity by using whole-tumor texture analysis: contrast-enhanced CT texture as a biomarker of 5-year survival. *Radiology* 266:177–184
25. Ganesan B, Skogen K, Pressney I, Coutroubis D, Miles K (2012) Tumour heterogeneity in oesophageal cancer assessed by CT texture analysis: preliminary evidence of an association with tumour metabolism, stage, and survival. *Clin Radiol* 67:157–164
26. Ganesan B, Panayiotou E, Burnand K, Dizdarevic S, Miles K (2012) Tumour heterogeneity in non-small cell lung carcinoma assessed by CT texture analysis: a potential marker of survival. *Eur Radiol* 22:796–802
27. Zhang H, Graham CM, Elci O et al (2013) Locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: CT texture and histogram analysis allow independent prediction of overall survival in patients treated with induction chemotherapy. *Radiology* 269:801–809
28. Leng S, Takahashi N, Gomez Cardona D et al (2017) Subjective and objective heterogeneity scores for differentiating small renal masses using contrast-enhanced CT. *Abdom Radiol (NY)* 42:1485–1492
29. Binet JL, Auquier A, Dighiero G et al (1981) A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 48:198–206
30. van Griethuysen JJM, Fedorov A, Parmar C et al (2017) Computational radiomics system to decode the radiographic phenotype. *Cancer Res* 77:e104–e107
31. Miles KA, Ganesan B, Hayball MP (2013) CT texture analysis using the filtration-histogram method: what do the measurements mean? *Cancer Imaging* 13:400–406
32. Mao Z, Quintanilla-Martinez L, Raffeld M et al (2007) IgVH mutational status and clonality analysis of Richter's transformation: diffuse large B-cell lymphoma and Hodgkin lymphoma in association with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) represent 2 different pathways of disease evolution. *Am J Surg Pathol* 31:1605–1614
33. Spira D, Adam P, Linder C et al (2012) Perfusion and flow extraction product as potential discriminators in untreated follicular and diffuse large B cell lymphomas using volume perfusion CT with attempt at histopathologic explanation. *AJR Am J Roentgenol* 198:1239–1246
34. Ruan J, Hajjar K, Rafii S, Leonard JP (2009) Angiogenesis and antiangiogenic therapy in non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 20:413–424
35. Cardesa-Salzmann TM, Colomo L, Gutierrez G et al (2011) High microvessel density determines a poor outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus chemotherapy. *Haematologica* 96:996–1001
36. Yip C, Davnall F, Kozarski R et al (2015) Assessment of changes in tumor heterogeneity following neoadjuvant chemotherapy in primary esophageal cancer. *Dis Esophagus* 28:172–179
37. Ganesan B, Miles KA, Babikir S et al (2017) CT-based texture analysis potentially provides prognostic information complementary to interim fdg-pet for patients with hodgkin's and aggressive non-hodgkin's lymphomas. *Eur Radiol* 27:1012–1020
38. Durot C, Mulé S, Soyer P, Marchal A, Grange F, Hoeffel C (2019) Metastatic melanoma: pretreatment contrast-enhanced CT texture parameters as predictive biomarkers of survival in patients treated with pembrolizumab. *Eur Radiol* 29:3183–3191. <https://doi.org/10.1007/s00330-018-5933-x>

39. Feng C, Lu F, Shen Y et al (2018) Tumor heterogeneity in gastrointestinal stromal tumors of the small bowel: volumetric CT texture analysis as a potential biomarker for risk stratification. *Cancer Imaging* 18:46
40. Starkov P, Aguilera TA, Golden DI et al (2019) The use of texture-based radiomics CT analysis to predict outcomes in early-stage non-small cell lung cancer treated with stereotactic ablative radiotherapy. *Br J Radiol* 92:20180228
41. Lee SJ, Zea R, Kim DH, Lubner MG, Deming DA, Pickhardt PJ (2018) CT texture features of liver parenchyma for predicting development of metastatic disease and overall survival in patients with colorectal cancer. *Eur Radiol* 28:1520–1528
42. Goh V, Ganeshan B, Nathan P, Juttla JK, Vinayan A, Miles KA (2011) Assessment of response to tyrosine kinase inhibitors in metastatic renal cell cancer: CT texture as a predictive biomarker. *Radiology* 261:165–171

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Danksagung

Meinen außerordentlichen Dank möchte ich an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. med. Marius Horger für sein besonderes Engagement aussprechen: Er stand mir stets mit Ermutigung, Inspiration und Motivation zur Seite und wird mir auch in Zukunft ein Vorbild sein.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie, die mich auf diesem Weg begleitet hat, für ihre Geduld und Unterstützung bedanken.