

Aus der Klinik für Innere Medizin II,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

**Nicht-invasive Diagnostik der Leberfibrose:
Transiente Elastographie vs. Realtime Elastographie
Eine diagnostische Vergleichsstudie**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2010

vorgelegt von: Anna-Christina Schwarz
geb. am: 27.12.1982 in Saarbrücken

meiner Mutter und meiner Großmutter gewidmet

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | <u>Zusammenfassung</u> | 6 |
| 1.1 | Transiente Elastographie vs. Realtime Elastographie zur nicht-invasiven Beurteilung des Leberfibrosestadiums bei chronischer Lebererkrankung | 6 |
| 1.2 | Transient Elastography vs. Realtime Elastography for Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis in Chronic Liver Disease | 8 |
| 2 | <u>Einleitung</u> | 10 |
| 2.1 | Chronische Lebererkrankungen und ihre Folgen | 10 |
| 2.1.1 | Epidemiologie und Ursachen | 10 |
| 2.1.2 | Pathomechanismus der Leberfibrose | 11 |
| 2.1.3 | Komplikationen der Leberzirrhose | 12 |
| 2.1.3.1 | <i>Portale Hypertonie und Varizenbildung</i> | 13 |
| 2.1.3.2 | <i>Aszites und infektiöse Komplikationen</i> | 14 |
| 2.1.3.3 | <i>Hepatische Enzephalopathie</i> | 15 |
| 2.1.3.4 | <i>Störungen der Blutgerinnung</i> | 15 |
| 2.1.3.5 | <i>Hepatozelluläres Karzinom</i> | 16 |
| 2.2. | Bedeutung des Fibrosestadiums | 16 |
| 2.2.1 | Therapiemöglichkeiten | 17 |
| 2.3 | Diagnostik zur Bestimmung des Fibrosestadiums | 19 |
| 2.3.1 | Invasive Diagnostik: Leberpunktion und Histologie | 19 |
| 2.3.2 | Nicht-invasive Diagnostik | 20 |
| 2.3.2.1 | <i>Sonographie, MRT und CT</i> | 21 |
| 2.3.2.2 | <i>Transiente Elastographie</i> | 21 |
| 2.3.2.3 | <i>Realtime Elastographie</i> | 27 |
| 2.3.2.4 | <i>Biochemische Marker</i> | 30 |

| | |
|---|-----------|
| 2.3.2.5 <i>Kombinationsmethoden</i> | 32 |
| 2.4 Ziele der Studie und Fragestellungen | 32 |
| 3 <u>Patienten und Methoden</u> | 34 |
| 3.1 Konzept der Studie | 34 |
| 3.1.1 Art der Studie | 34 |
| 3.1.2 Art und Herkunft der verwendeten Daten | 34 |
| 3.1.3 Zielkriterien | 35 |
| 3.1.4 Zeitplan | 35 |
| 3.2 Patientenkollektiv | 35 |
| 3.2.1 Fallzahlen | 36 |
| 3.2.2 Einschlusskriterien | 36 |
| 3.2.2.1 <i>Einschlusskriterien für Patienten mit Leberzirrhose</i> | 36 |
| 3.2.2.2 <i>Einschlusskriterien für Patienten ohne Leberzirrhose</i> | 36 |
| 3.2.3 Ausschlusskriterien | 37 |
| 3.3 Verwendete Untersuchungsmethoden | 37 |
| 3.3.1 Leberpunktion und Histologie | 37 |
| 3.3.1.1 <i>Durchführung der Leberpunktion</i> | 37 |
| 3.3.1.2 <i>Histologische Beurteilung</i> | 38 |
| 3.3.2 Untersuchung mittels Sonographie, MRT und CT | 39 |
| 3.3.3 Elastizitätsmessung der Leber | 39 |
| 3.3.3.1 <i>Untersuchung mittels transienter Elastographie</i> | 39 |
| 3.3.3.2 <i>Untersuchung mittels Realtime Elastographie</i> | 40 |
| 3.3.4 Blutuntersuchung | 41 |
| 3.3.4.1 <i>Laborparameter</i> | 41 |
| 3.3.4.2 <i>Biochemische Scores</i> | 42 |
| 3.3.5 Befragung der Patienten bezüglich antiviraler Therapie | 43 |
| 3.4 Datenanalyse und statistische Auswertung | 43 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4 | <u>Ergebnisse</u> | 45 |
| 4.1 | Patientencharakteristik | 45 |
| 4.2 | Korrelation der nicht-invasiven Untersuchungsmethoden mit der Leberhistologie | 46 |
| 4.3 | Korrelation der nicht-invasiven Methoden untereinander | 53 |
| 4.4 | Einflussfaktoren bei den Messungen | 54 |
| 5 | <u>Diskussion</u> | 56 |
| 5.1 | Überlegungen zum Studiendesign | 56 |
| 5.2 | Vergleich der erzielten Ergebnisse mit der bisherigen Studienlage | 58 |
| 5.3 | Grenzen der Leberbiopsie | 62 |
| 5.4 | Vergleich von transienter Elastographie und Realtime Elastographie bei verschiedenen Patientenkollektiven | 63 |
| 5.5 | Limitationen der Studie | 65 |
| 5.6 | Schlussfolgerung | 66 |
| 5.7 | Ausblick | 67 |
| 6 | <u>Literaturverzeichnis</u> | 69 |
| 7 | <u>Publikation/Dank</u> | 81 |
| 7.1 | Publikation | 81 |
| 7.2 | Dank | 81 |
| 8 | <u>Lebenslauf</u> | 82 |

1 Zusammenfassung

1.1 Transiente Elastographie vs. Realtime Elastographie zur nicht-invasiven Beurteilung des Leberfibrosestadiums bei chronischer Lebererkrankung

Transiente Elastographie und Serumfibrosemarker wie der FibroTest® sind etablierte Methoden zur nicht-invasiven Bestimmung des Leberfibrosestadiums bei chronischer Lebererkrankung. In einer kürzlich publizierten Studie erzielte nun auch die Realtime Elastographie, die in ein konventionelles Ultraschallgerät integriert werden kann, vergleichbar gute Ergebnisse bei der nicht-invasiven Fibroseevaluation.

In der hier vorliegenden diagnostischen Vergleichsstudie wurden die beiden nicht-invasiven ultraschallbasierten Elastographiemethoden zur Evaluation der Leberfibrose einander gegenübergestellt. Die diagnostischen Genauigkeiten der transienten Elastographie und der Realtime Elastographie wurden im Vergleich zur Leberbiopsie, welche die Goldstandardmethode in der Fibrosediagnostik darstellt, ermittelt. Die Kalkulation des Elastizitätsscores der Realtime Elastographie erfolgte in Anlehnung an die beiden bisher hierzu publizierten Studien. Außerdem wurde der Serumfibrosemarker FibroTest® in den Vergleich mit einbezogen.

Das untersuchte Patientenkollektiv bestand aus 146 Patienten mit chronischer Lebererkrankung unterschiedlicher Ätiologie. Bei allen Patienten war das Stadium der Leberfibrose bereits durch eine vorausgegangene und nach dem Desmet/Scheuer Score ausgewertete Leberbiopsie bestimmt bzw. eine bestehende Leberzirrhose durch Sonographie oder Magnetresonanztomographie diagnostiziert worden. Ausgeschlossen waren Patienten mit Aszites zum Zeitpunkt der Untersuchung. Mittels transienter Elastographie und Realtime Elastographie wurden insgesamt 146 Patienten untersucht. Zudem wurden FibroTest® und ActiTest® aus den entsprechenden Laborparametern berechnet. Es konnten 134 Patienten in die finale Analyse eingeschlossen werden, davon 22 Patienten mit bekannter Leberzirrhose.

Sowohl die transiente Elastographie als auch die Realtime Elastographie und der FibroTest® zeigten eine statistisch signifikante Korrelation mit dem histologischen Desmet/Scheuer Score. Der Spearman Korrelationskoeffizient betrug 0,73 für die transiente Elastographie, 0,30 für die Realtime Elastographie und 0,65 für den FibroTest® mit jeweils $p < 0,001$. Die diagnostische Genauigkeit, dargestellt als AUROC (areas under receiver operating characteristics curves) betrug entsprechend jeweils 0,84 bzw. 0,69 und 0,85 für die Diagnose

der signifikanten Fibrose ($F \geq 2$), sowie 0,97 bzw. 0,65 und 0,83 für die Diagnose der Leberzirrhose.

Der nicht-invasive Marker für inflammatorische Aktivität ActiTest® zeigte eine signifikante Korrelation von 0,37 ($p < 0,001$) mit der histologisch bestimmten entzündlichen Aktivität.

Das beste Ergebnis für die Realtime Elastographie konnte mit dem Japanese Elasticity Score unter Verwendung des Angular Second Moment (ASM) erreicht werden. Die diagnostische Genauigkeit bezogen auf den Desmet/Scheuer Fibrosescore betrug hier im Mittel 0,71 für die Diagnose einer signifikanten Fibrose ($F \geq 2$), 0,63 für schwere Fibrose ($F \geq 3$) und 0,65 für Leberzirrhose ($F = 4$). Dennoch war die Realtime Elastographie in der hier vorliegenden Studie der transienten Elastographie bei der nicht-invasiven Fibrosebestimmung im Gesamtkollektiv unterlegen. Die guten Ergebnisse des in einer Pilotstudie für die Realtime Elastographie entwickelten German Elasticity Score (Friedrich-Rust et al., 2007) konnten in dieser Studie an einem unabhängigen Patientenkollektiv nicht bestätigt werden. Die geringere diagnostische Genauigkeit der Realtime Elastographie ist wahrscheinlich hauptsächlich durch Messfehler im inhomogenen Leberparenchym zu erklären; die Methodik bedarf hier also noch weiterer Optimierung.

Bei Patienten mit einem Body Mass Index ab 27 konnten jedoch mittels transienter Elastographie gültige Messwerte nicht mehr zuverlässig ermittelt werden. Mittels Realtime Elastographie war die Durchführung der Untersuchung auch bei diesem Patientenkollektiv durchgehend möglich. Weitere Studien sind daher notwendig, um die transiente Elastographie auch für die zuverlässige Fibrosediagnostik bei adipösen oder sehr muskulösen Patienten zu evaluieren, gegebenenfalls unter Verwendung unterschiedlicher Messsonden, die bereits zu diesem Zweck entwickelt werden.

Nach den Ergebnissen der hier vorliegenden Studie kann die Realtime Elastographie die transiente Elastographie in der nicht-invasiven Diagnostik der Leberfibrose zum jetzigen Zeitpunkt nicht ersetzen. Dennoch können beide Methoden sicherlich optimiert und in zukünftigen Studien weiter evaluiert werden.

1.2 Transient Elastography vs. Realtime Elastography for Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis in Chronic Liver Disease

Transient elastography and serum fibrosis markers such as FibroTest® are established methods for the noninvasive staging of liver fibrosis. A study using real-time elastography, which is integrated in a conventional ultrasound system, was recently published with comparable results to transient elastography. The aim of the present study was to validate real-time elastography and to compare the results to transient elastography and FibroTest® for the noninvasive assessment of liver fibrosis. Liver biopsy in combination with histological analysis, which is considered the gold standard for the assessment of liver fibrosis, was used as a reference method.

One hundred and forty-six patients with chronic liver disease and either histological assessment of liver fibrosis, evaluated according to the Desmet/Scheuer score, or proven liver cirrhosis, diagnosed using ultrasound or magnetic resonance imaging, were included in the study. Patients with present ascites were excluded from the study. One hundred and thirty-four of these patients could be included in the final analysis, 22 of them diagnosed with liver cirrhosis. The patients received transient elastography, real-time elastography, and biochemical evaluation (FibroTest®/ ActiTest®). The calculation of the elasticity score of real-time elastography was performed in accordance with the two previously published studies.

The Spearman correlation coefficient between transient elastography, real-time elastography and FibroTest® with the histological Desmet/Scheuer score was statistically significant with 0.73, 0.30, and 0.65, respectively ($p < 0.001$). The diagnostic accuracies expressed as AUROC (areas under receiver operating characteristics curves) were 0.84, 0.69 and 0.85 for the diagnosis of significant fibrosis ($F \geq 2$), and 0.97, 0.65, and 0.83 for the diagnosis of cirrhosis, respectively.

Indicating increased inflammatory activity, the noninvasive blood marker ActiTest® showed a significant correlation of 0.37 ($p < 0.001$) with the liver biopsy.

For real-time elastography, the best result was achieved using the Japanese Elasticity Score in combination with Angular Second Moment (ASM). Diagnostic accuracies here were 0.71 in comparison to the Desmet/Scheuer histological score for the diagnosis of significant fibrosis ($F \geq 2$), 0.63 for severe fibrosis ($F \geq 3$) and 0.65 for cirrhosis ($F = 4$). However, real-time elastography was inferior to transient elastography for the noninvasive assessment of liver fibrosis. The present study could not confirm the good results of the German Elasticity Score

that had been introduced in a pilot study for the assessment of liver fibrosis using real-time elastography (Friedrich-Rust et al., 2007). Inhomogeneous structure of hepatic tissue probably leads to false measurements using real-time elastography and might therefore explain the inferiority of the method in comparison to transient elastography. Further improvement and evaluation of real-time elastography is necessary to optimize the method for the assessment of liver fibrosis.

However, transient elastography often failed to obtain valid measurements in patients with a body mass index of 27 or higher, while real-time elastography could be performed regularly in these patients. Therefore, additional studies will be necessary to optimize transient elastography for the assessment of liver fibrosis in obese or very muscular patients. Special probes are being developed for this purpose.

As shown in this study, real-time elastography in its present form cannot replace transient elastography for the noninvasive assessment of liver fibrosis. However, both methods may be optimized and evaluated in future studies.

2 Einleitung

2.1 Chronische Lebererkrankungen und ihre Folgen

2.1.1 Epidemiologie und Ursachen

Die Leberzirrhose als Endstadium chronischer Lebererkrankungen stellt mit einer Prävalenz von 1,1% ein häufiges Krankheitsbild dar. Sie ist die häufigste nicht-neoplastische Todesursache in der Gruppe der gastrointestinalen Erkrankungen, wobei viele Fälle der Leberzirrhose erst autoptisch diagnostiziert werden (Kaczynski et al., 2005). Für das potentielle Vorläuferstadium der Zirrhose, die Leberfibrose, sind epidemiologische Daten schwierig zu erheben, weil auch ausgeprägte Fibrosierungen klinisch inapparent verlaufen können. Da einer Zirrhose aber typischerweise eine sich häufig über viele Jahre erstreckende progrediente Fibrose vorausgeht, ist von einer entsprechend hohen Häufigkeit der Leberfibrose in der Bevölkerung auszugehen.

Verschiedene Ursachen können einer chronischen Lebererkrankung zu Grunde liegen: Neben der alkoholtoxischen Genese (Mathurin et al., 1996) spielen vor allem die chronischen Virushepatitiden Hepatitis B und C pathogenetisch eine große Rolle. In Deutschland sind fast eine Million Patienten von einer chronischen Virushepatitis betroffen (Wedemeyer et al., 2004). Die Mortalitätsrate ist bei diesen Patienten gegenüber der Normalbevölkerung signifikant erhöht, vor allem aufgrund des größeren Risikos, ein hepatozelluläres Karzinom zu entwickeln (Deuffic et al., 1999). Auch Autoimmunprozesse, medikamentös-toxische Faktoren, Steatohepatitiden und genetische Erkrankungen wie Hämochromatose, Morbus Wilson oder alpha-1-Antitrypsin-Mangel können zu einer dauerhaften Leberschädigung mit höherem Sterblichkeitsrisiko führen (Heintges et al., 1995; Powell et al., 2000; Ratziu et al., 2002; Ratziu et al., 2003; Saito, 1987; Stoller et al., 2005; Woodward & Neuberger, 2001). Des weiteren kommen Gallenwegserkrankungen, die chronische rechtskardiale Stauung sowie die seltene kongenitale Fibrose (Gonzalez et al., 1993; Nozoe et al., 2002) als Ursachen einer Leberfibrose in Frage.

Der Progress der Fibrose kann je nach Grunderkrankung und zusätzlichen Risikofaktoren erheblich variieren (Poynard et al., 2003).

Allen Grunderkrankungen ist gemeinsam, dass sie über eine progrediente Leberfibrose, bei der ein bindegewebiger Umbau des Organs erfolgt, in eine Leberzirrhose mit vielfältigem Komplikationsspektrum übergehen können.

2.1.2 Pathomechanismus der Leberfibrose

Der Fibrosierungsprozess der Leber zeichnet sich durch eine prinzipiell reversible Dynamik aus, wobei qualitativ veränderte extrazelluläre Matrix, sprich Bindegewebe, als Reaktion auf die Leberschädigung abgelagert wird (Benyon & Iredale, 2000).

Die sogenannte reparative Fibrose kann man als Antwort des Organismus auf eine lokale Schädigung bezeichnen. Sie spielt eine wichtige Rolle im Heilungsprozess nach lokalem Gewebeuntergang und bei der Substituierung des verlorengegangenen Parenchyms durch Granulationsgewebe mit Narbenbildung (Friedman, 2000).

Abzugrenzen von der reparativen Fibrose ist die diffuse Fibrose, die auch als reaktive Fibrose bezeichnet wird. Hier reagiert die Leber als zentral stoffwechselaktives Organ auf eine ständige Entzündung oder Noxe mit diffusen degenerativen Veränderungen. Dabei können nur kontinuierlich wirkende, chronische Reize den Vorgang der Fibrogenese provozieren und damit zur Entwicklung einer Fibrose führen. Durch die Schädigung der Hepatozyten und Endothelzellen sowie durch die Aktivierung von Entzündungszellen wird die Freisetzung von Zytokinen und anderen Mediatoren ausgelöst, welche den Prozess der Fibrogenese veranlassen. Die Effektorzellen der Fibrogenese bilden auf diese Signale hin extrazelluläre Matrix, die in der Leber abgelagert wird (Brenner et al., 2000). Hierbei scheint das Alter des Patienten mit eine Rolle zu spielen; die Umbauprozesse verlaufen bei älteren Menschen progressiver als bei jüngeren, was auf ein höheres fibrogenetisches Potential im Alter schließen lässt.

Hauptproduzenten der extrazellulären Matrix und damit die wichtigsten Effektorzellen der Leberfibrose sind die hepatischen Sternzellen (hepatic stellare cells, HSC, Ito-Zellen). Ihre Aktivierung erfolgt sowohl durch geschädigte Hepatozyten als auch durch benachbarte Endothelzellen, Kupffer- oder Entzündungszellen. Aktivierte hepatische Sternzellen zeichnen sich durch Proliferation, Zytokinfreisetzung sowie Zunahme der Zellkontraktilität aus. Sie synthetisieren Extrazellulärmatrix, matrixabbauende Enzyme und deren Inhibitoren (Friedman, 2000). Der komplexe fibrinogenetische Prozess wird von einer Vielzahl wechselwirkender endo-, para- und autokriner Faktoren initiiert und reguliert, wobei der Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β 1) das wichtigste Zytokin darstellt (Bedossa et al.,

1993; Blobe et al., 2000; Peters et al., 1997). Auch die extrazelluläre Matrix selbst übernimmt eine Steuerfunktion; sie ist kein statisches Gebilde, sondern unterliegt einem ständigen Wechsel zwischen Synthese und Abbau (Gressner, 1996).

Morphologisch findet man als häufigste Fibroseformen die portale sowie die periportale Fibrose, bei denen es ausgehend vom Portaltrakt zur Verbreiterung der Portalfelder kommt und sich oft auch bindegewebige Ausläufer in das umgebende Parenchym erstrecken.

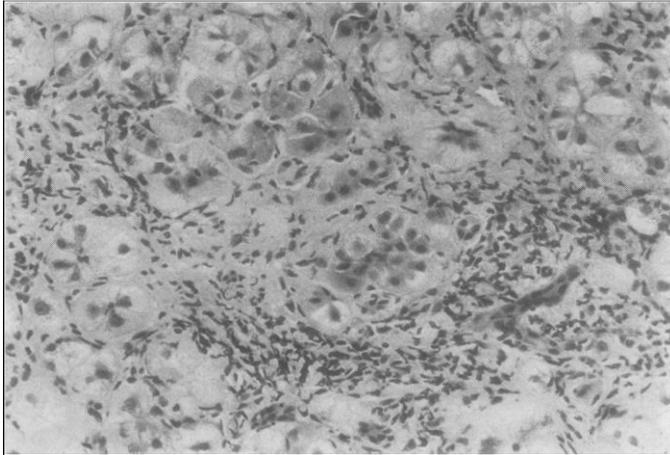


Abbildung 1: Fibrose bei chronisch aktiver Hepatitis: Das Leberparenchym ist zerstört durch die chronische Entzündung und durch die Fibrose, die sich vom Portaltrakt ausgehend ausbreitet (rechts unten) (aus: Anthony et al., 1978).

Dies entspricht dem typischen Befund chronischer Hepatitiden (Dietrichson, 1975), biliärer Erkrankungen (Lefkowitz, 1982), kongenitaler Fibrosen und toxischer Schädigungen, insbesondere durch Alkoholabusus (Morgan et al., 1978).

Bei der alkoholtoxischen Leberschädigung geht die Fibrose auch oft von der Mitte der Läppchen aus, es handelt sich dann um eine läppchenzentrale Fibrose (Caulet et al., 1989).

Besonders die reaktive, diffuse Fibrose kann in eine Leberzirrhose übergehen und ist deshalb von hoher klinischer Relevanz (Pinzani & Rombouts, 2004).

2.1.3 Komplikationen der Leberzirrhose

Eine fortschreitende portale und läppchenzentrale Fibrose führt über unterschiedliche molekulare und zelluläre Mechanismen zur Ausbildung bindegewebiger Septen (Pinzani &

Rombouts, 2004). Ursprüngliches Lebergewebe wird zugunsten von bindegewebigem Ersatzmaterial immer mehr abgebaut; es findet eine regelrechte Vernarbung des Organs statt.

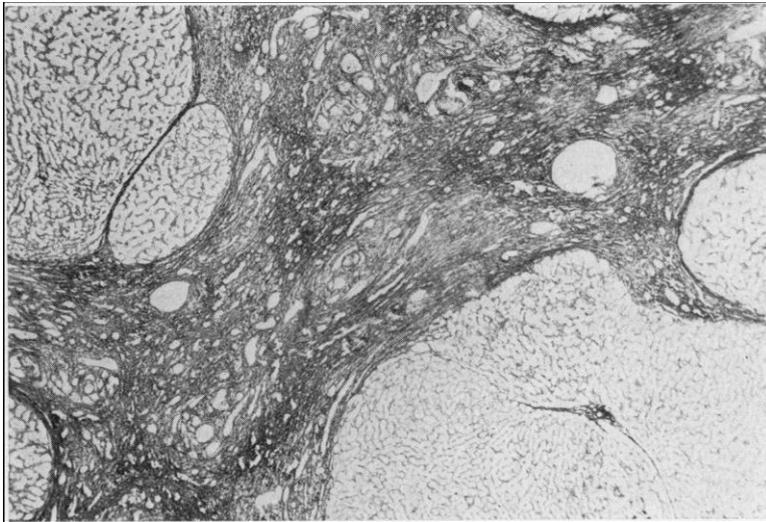


Abbildung 2: Zirrhose unbekannter Ätiologie mit makronodulärem Erscheinungsbild; die Noduli sind durch breite fibrosierte Septen getrennt (postnekrotisches Bild) (aus: Anthony et al., 1978).

Die zirrhotische Leber ist schließlich vollkommen von Bindegewebssepten durchzogen und knotig geschrumpft, wobei man morphologisch nach Größe der Noduli zwischen mikro- und makronodulärer Ausbildung der Zirrhose unterscheiden kann (Nonomura et al., 1986). Die mikronoduläre Form der Zirrhose kann in die makronoduläre Form übergehen (Fauerholdt et al., 1983).

Eine Leberzirrhose geht oft mit schwerwiegenden Komplikationen einher, welche im Folgenden erläutert werden.

2.1.3.1 Portale Hypertonie und Varizenbildung

Ein portaler Hypertonus bei Leberzirrhose mit konsekutiver Varizenbildung entsteht durch den erhöhten Widerstand in der Organstrombahn der Leber und der dadurch resultierenden Änderung des Blutflusses. Der Druck in der Pfortader steigt über den Normalwert von 4 bis 8 mmHg, was zur Ausbildung von Kollateralkreisläufen führt, die das Blut in Gefäße des Systemkreislaufs mit geringerem Widerstand umleiten. Der Blutfluss erfolgt dann alternativ über die Venae gastricae dextra et sinistra und die Venae oesophageae in die obere Hohlvene, sowie über den Plexus venosus rectalis und die Venae iliacae internae in die untere Hohlvene.

Auch ein Abfluss über die Venen im Ligamentum falciforme der Leber und die Venae paraumbilicales auf der Bauchdecke ist möglich. Ebenso gelangt mehr Blut in die zuführenden Gefäße des Pankreas, der Nebenniere und v.a. der Milz, was u.a. eine Splenomegalie bedingen kann (Jalan & Hayes, 2000).

Die Kollateralgefäße der Umgehungskreisläufe sind normalerweise von dünnem Kaliber und dilatieren unter dem verstärkten Blutfluss bei portaler Hypertonie stark, was sie als Varizen imponieren lässt. Die so entstehende Gefäßzeichnung der Venae paraumbilicalis auf der Bauchdecke bezeichnet man auch als Caput medusae. Am Plexus venosus rectalis kann es durch den gleichen Mechanismus zur Ausbildung von Hämorrhoiden kommen (Hosking et al., 1989), und auch im Bereich der Venae oesophageae können Varizen entstehen. Diese ab einem Pfortaderdruck von 10 mmHg (Bosch et al., 1986) auftretenden Ösophagusvarizen sind aufgrund ihrer Lage extrem rupturgefährdet: Hier wirkt beim Schlucken und bei der Passage von Speisebrocken sowie beim Husten und Pressen zusätzlich ein erhöhter Druck auf die Gefäße. Eine Ruptur der Varizen an der Speiseröhre oder am Magenfundus kann zu massiven Blutungen führen und so eine akut lebensbedrohliche Komplikation darstellen (Nozoe et al., 2002; Tsokos & Turk, 2002). Die Mortalitätsrate beträgt hierbei über 50% (Jalan & Hayes, 2000), das Risiko einer erneuten Blutung über 60% (De Franchis & Primignani, 2001). Empfohlen wird deshalb eine jährliche endoskopische Untersuchung des Ösophagus und des Magens für Patienten mit Leberzirrhose, um ein eventuell bestehendes Varizenleiden rechtzeitig zu erkennen und ggf. eine frühzeitige medikamentöse Prophylaxe mit einem Betablocker einzuleiten, wodurch das Rupturrisiko gesenkt werden kann (Patch et al., 2002). Als Folge des gesteigerten Blutflusses verändert sich auch die Gefäßarchitektur des Magens bei portalem Hypertonus. Es kommt zu Ektasien der submukösen Venen und der Kapillaren, die in der gastralen Schleimhaut verlaufen. Diese sogenannte portale Gastroenteropathie kann ebenfalls für obere gastrointestinale Blutungen bei Patienten mit Leberzirrhose verantwortlich sein (Primignani et al., 2001). Blutungsinzidenzen können als chronische Sickerblutung oder als akute obere gastrointestinale Blutung mit typischen Symptomen wie Hämatemesis bzw. Melaena auftreten.

2.1.3.2 Aszites und infektiöse Komplikationen

Die Ausbildung eines Aszites stellt eine weitere mögliche Konsequenz des Pfortaderhochdruckes dar. Durch die sinusoidale portale Hypertension wird vermutlich über

gefäßerweiternde Substanzen eine arterielle Dilatation im Gebiet der splanchnischen Zirkulation verursacht. So wird eine Umverteilung des Blutes begünstigt, was die Reduktion des effektiven arteriellen Blutvolumens und die Stimulation der systemischen Baro- und Volumenrezeptoren zur Folge hat. Es kommt zur Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, wodurch Natriumretention und Vasokonstriktion erfolgen und die Entstehung eines Aszites gefördert wird. Als weitere schwere Komplikation der Leberzirrhose ist die Aszites-assoziierte spontane bakterielle Peritonitis zu nennen, welche sich bei Patienten mit fortgeschrittener Leberschädigung aufgrund der vermehrten intestinalen bakteriellen Besiedlung bei gleichzeitiger Veränderung der intestinalen Mukosabariere und eingeschränkter lokaler Immunabwehr entwickeln kann (Caruntu & Banea, 2006).

2.1.3.3 Hepatische Enzephalopathie

Eine sehr schwere Komplikation der Leberzirrhose ist die hepatische Enzephalopathie, die durch neuropathologische Hirnveränderungen gekennzeichnet ist. Ihre Entstehung ist auf mangelnde Entgiftung neurotoxischer Stoffe, speziell Ammoniak, im Rahmen der metabolischen Leberinsuffizienz bzw. der portalen Hypertonie zurückzuführen. Die Gefahr einer hepatischen Enzephalopathie besteht besonders dann, wenn zu einer fortgeschrittenen Leberzirrhose Komplikationen hinzukommen, die Elektrolytverschiebungen oder eine Reduktion des Intravasalvolumens verursachen. Die Ausbildung eines Hirnödems und die Erhöhung des intrakraniellen Drucks können potentiell tödliche Komplikationen darstellen.

2.1.3.4 Störungen der Blutgerinnung

Durch den zirrhotischen Umbau der Leber kommt es auch zur Einschränkung ihrer Syntheseleistung. Dies kann Störungen der Blutgerinnung bedingen. Der hepatischen Koagulopathie liegt ein Mangel an in der Leber produzierten Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren zu Grunde; hierbei ist die Prothrombinzeit verlängert. Zusätzlich treten oft Thrombopathien bzw. Thrombopenien auf. Sie werden durch den portalen Hypertonus begünstigt, welcher der Milz ein vermehrtes Blutvolumen zuführt, wodurch ein größerer Anteil des Plättchenpools in der Milz sequestriert wird (Aoki et al., 1993). Die inadäquate

Thrombopoetinproduktion der zirrhotischen Leber wird ebenfalls für die sinkende Plättchenzahl verantwortlich gemacht (Rios et al., 2005).

Auch Verbrauchskoagulopathien, die wohl auf eine gestörte Endotoxinclearance und auf Parenchymuntergänge zurückzuführen sind, können bei Leberzirrhose gehäuft beobachtet werden (Mammen, 1994).

Gerinnungsstörungen bei Patienten mit Leberzirrhose sind von großer klinischer Bedeutung, da eine eingeschränkte Blutgerinnung zusätzlich das Mortalitätsrisiko bei einer Varizenblutung erhöht (Huber et al., 2001; Sharara & Rockey, 2001).

2.1.3.5 Hepatozelluläres Karzinom

Bei zirrhotischem Umbau des Lebergewebes ist eine erhöhte Entartungstendenz der Hepatozyten zu beobachten. Vor allem bei Patienten mit Zirrhose durch Infektion mit dem Hepatitis C Virus ist das Risiko, an einem hepatozellulären Karzinom zu erkranken, signifikant erhöht (Kaplan & Reddy, 2003; Ruster et al., 1996).

2.2 Bedeutung des Fibrorestadiums

Um den Zeitpunkt des Therapiebeginns zur Verhinderung der Fibroseprogression und Zirrhoseentstehung sinnvoll zu wählen, stellt das Fibrorestadium eine wichtige Orientierungsmarke dar (Fleig et al., 2004a; Fleig et al., 2004b; National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement, 2002; Zeuzem, 2004b). Es kann zur Verlaufskontrolle mit oder ohne Therapie herangezogen werden, da die Fibroseprogression ein wichtiger Parameter für den Krankheitsfortschritt bzw. den Therapieerfolg darstellt (Myers et al., 2003). Das Ausmaß des bindegewebigen Umbaus der Leber ist dabei nicht nur ein entscheidender Faktor für die Bestimmung des Erkrankungsstadiums, sondern auch für die Evaluation der Prognose, da eine fortschreitende Fibrosierung zur Ausbildung einer Leberzirrhose führen kann.

2.2.1 Therapiemöglichkeiten

Für viele Lebererkrankungen stehen heute kurative Therapiemöglichkeiten zur Verfügung.

Bei Patienten, in deren Fall eine kurative Therapie nicht bzw. nicht mehr möglich ist, werden Therapieansätze verfolgt, die das Fortschreiten der Grunderkrankung aufhalten und damit die Fibroseprogression stoppen sollen. Dabei werden die Stabilisierung des Gesundheitszustandes sowie die Verbesserung bzw. der Erhalt der Leberfunktion angestrebt.

Bei toxisch oder viral bedingter Leberschädigung kann die Eliminierung der auf die Leber einwirkenden Noxen in vielen Fällen eine Krankheitsprogression bzw. ein Fortschreiten der Fibrose verhindern.

Eine antifibrotische Therapie im eigentlichen Sinn ist derzeit noch nicht verfügbar. Verschiedene Wirkstoffe, die zur Behandlung von Lebererkrankungen eingesetzt werden, weisen aber ein gewisses Potential zur Hemmung der Fibroseprogression auf. Durch ihre entzündungshemmende Wirkung haben so Glucocorticoide, die bei der Autoimmunhepatitis eingesetzt werden, und Ursodeoxycholsäure, die bei der Behandlung der primär biliären Zirrhose Verwendung findet, einen günstigen Einfluss auf die Gewebestruktur. Bei der nicht-alkoholischen Fettleber bzw. Fettleberhepatitis wird der HMG-CoA-Reduktasehemmer Simvastatin angewandt, der die Proliferation der hepatischen Sternzellen zu hemmen vermag. Ein inhibitorischer Effekt auf die Aktivität dieser Zellen lässt sich mit Interferonen erreichen; sie werden zur Behandlung viraler Hepatitiden eingesetzt (Sakaida et al., 1999).

Ist die Leber einmal vollständig zirrhotisch umgebaut, bleibt als kurativer Therapieansatz meist nur die Lebertransplantation. Eine erfolgreiche Organverpflanzung kann den Patienten über viele Jahre hinweg wieder eine deutliche Verbesserung der Lebensqualität gewähren. Die Einjahresüberlebensraten nach Lebertransplantation liegen bei 80-90% (Hussain & Nghiem, 2002). Dagegen leben von den Patienten mit kritisch dekompensierter Zirrhose unter konservativer Therapie nach sechs Monaten nur noch ca. 55% (Wehler et al., 2001). Probleme nach Lebertransplantation können jedoch sowohl in Form von Abstoßungsreaktionen als auch in Form von Schädigung des Transplantatorgans durch die persistierende Grunderkrankung, speziell durch rezidivierende virale Hepatitiden, auftreten (Di Marco et al., 1999; Knoop et al., 1994; Knoop et al., 1995; Macedo et al., 2000; Marinos et al., 2000; Reich et al., 2000; Sheiner et al., 1995). Eine immunsuppressive Therapie nach dem operativen Eingriff soll Abstoßungsreaktionen vermeiden, ist jedoch auch mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten von Infektionen und opportunistischer Erkrankungen verbunden.

Patienten mit Leberzirrhose werden meist einer symptomatischen Therapie zugeführt. Diese stützt sich, wie oben beschrieben, vor allem auf die Vermeidung bzw. das Management der bereits genannten Komplikationen.

Der Zeitpunkt des Therapiebeginns bei chronischer Lebererkrankung sollte so gewählt werden, dass die Patienten auch im Hinblick auf mögliche Nebenwirkungen der Therapie den größtmöglichen Benefit erwarten können.

Grundsätzlich besteht der wichtigste Therapieschritt zunächst in der Elimination der schädigenden Noxe wo immer möglich; im Fall der ethyltoxischen Leberschädigung bedeutet dies den Verzicht auf Alkohol, bei medikamentös-toxischer Schädigung entsprechend die Umstellung der Medikation. Eine sofortige medikamentöse Therapieeinleitung ist bei primär sklerosierender Cholangitis und bei Hämochromatose indiziert. Bei anderen Lebererkrankungen wird die Indikation zur Therapie u.a. unter Berücksichtigung des Fibrorestadiums und der entzündlichen Aktivität gestellt, da die Progression der Fibrose je nach Grunderkrankung sehr unterschiedlich ausgeprägt sein kann. Für die chronische Hepatitis C z.B. stellt ein Fibrosegrad von F2 oder größer nach den METAVIR- Score (Bedossa & Poynard, 1996) ein entscheidendes Kriterium zur Therapieindikation dar (Stimac & Milic, 2005).

Während einer Behandlung ist die Verlaufskontrolle der Leberfibrose sehr wichtig, um die Effizienz der Therapie zu überprüfen. Besonders bei zu Grunde liegender Hepatitis C Infektion, welche einen Großteil der Leberfibrosen verursacht, ist der Erfolg der Standardtherapie bei verschiedenen Patientenkollektiven variabel. Die Rate der Therapieversager ist bei mit HCV Genotyp 2, 3 und 5 infizierten Patienten mit 20% wesentlich niedriger als bei Patienten mit HCV Genotyp 1, wo sie bis zu 60% betragen kann (Chander et al., 2002). Andere Faktoren, wie beispielsweise hohes Alter, frühe Leberzirrhoseentwicklung, ein vorausgegangenes Nichtansprechen auf einen Therapieversuch oder ein Relapse der Viruslast nach Therapie, senken ebenfalls die Erfolgsrate (Zeuzem, 2004a). Weiterentwickelte pegylierte Interferone und eine verlängerte Therapiedauer können zwar die Erfolgsraten steigern, aber dennoch keine Viruselimination bei allen Patienten garantieren (Zeuzem et al., 2004c; Zeuzem et al., 2004d). Polymerase- und Proteaseinhibitoren scheinen hier vielversprechend.

Um den Patienten das bestmögliche Outcome zu ermöglichen, sollte in Verlaufskontrollen daher der Zustand des Lebergewebes und speziell die Fibroseprogression regelmäßig untersucht werden.

2.3 Diagnostik zur Bestimmung des Fibrorestadiums

2.3.1 Invasive Diagnostik: Leberpunktion und Histologie

Eine präzise Bestimmung des Leberfibrorestadiums ist von großer Bedeutung sowohl für die Prognose und die Verlaufskontrolle als auch für die Therapieeinleitung bei chronischer Lebererkrankung (National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement, 2002). Der Goldstandard zur Beurteilung des Fibrorestadiums ist die Leberpunktion mit nachfolgender histologischer Aufarbeitung des Gewebes. Mit dieser Methode kann insbesondere bei Lebererkrankungen unbekannter Genese die Diagnose gesichert und neben dem Fibrorestadium auch die entzündliche Aktivität im Gewebe bestimmt werden. Das Verfahren hat jedoch auch einige Nachteile, die im Folgenden aufgeführt werden.

Da die Biopsie eine invasive Methode darstellt, kann sie mit nicht unerheblichen Komplikationen behaftet sein. Diese können sowohl in Form von Blutungsinzidenzen oder Schmerzen auftreten, sehr selten kann es auch zur Ausbildung eines Pneumothorax oder einer biliären Peritonitis kommen. Für die zur Punktion häufig verwendete Menghini-Nadel betrug die Komplikationsrate in einer Studie 1:1000 (Piccinino et al., 1986). Von einigen Patienten wird die Untersuchung als schmerzhaft empfunden (Bravo et al., 2001; Cadranel et al., 2000; Castera et al., 1999). Postpunktionsschmerz oder asymptomatische Blutungen treten zwar insgesamt häufiger auf, sind jedoch zu den leichteren Komplikationen zu rechnen (Hederstrom et al., 1989; Minuk et al., 1987). Besondere Risikofaktoren, wie Malignome, HIV-Infektionen, Nieren- und Leberinsuffizienz und angeborene Blutgerinnungsanomalien können Blutungskomplikationen bei Leberpunktion begünstigen (Conn, 1991; Gordon et al., 1991; McGill et al., 1990; Ozdogan et al., 1996; Piccinino et al., 1986). Eine ausführliche Anamnese und das Einhalten der Standards beim Punktionsverfahren können helfen, Risiken zu minimieren (Grant & Neuberger, 1999).

Die bei der Punktion entnommenen Leberstanzzylinder werden histologisch ausgewertet; der Befund kann dem Patienten daher erst oft nach einigen Tagen mitgeteilt werden.

Bei der Gewinnung des Biopsates und der Auswertung der histologischen Schnitte können außerdem verschiedene Faktoren zu Variabilität der Befunde führen, was die diagnostische Genauigkeit der Methode limitieren kann. Eine beträchtliche Abweichung der Ergebnisse zweier Pathologen, die dasselbe Präparat untersuchten, ist beschrieben (Bedossa et al., 1988). Auch aufeinanderfolgende Probeentnahmen an der gleichen Punktionsstelle wiesen Ergebnisvariabilitäten von 10-20% auf; Probeentnahmen durch unterschiedliche Verfahren wie perkutane Biopsie oder chirurgische Gewebeentnahme, sowie Punktionen aus unterschiedlichen Bereichen der Leber, etwa dem rechten und linken Leberlappen, führten ebenfalls zu abweichenden Resultaten (Bedossa et al., 2003; Maharaj et al., 1986; Regev et al., 2002).

Des Weiteren können Heterogenitäten im Gewebe, speziell unterschiedliche Fibrosierungsstadien in verschiedenen Organbereichen, verborgen bleiben, da die Gewebeentnahme auf einen kleinen Teil der Leber begrenzt ist: Die Größe eines Stanzzylinder beträgt im Verhältnis zur Größe der ganzen Leber etwa 1:25000 - 1: 50000.

Somit ist die Leberbiopsie zur Bestimmung des Fibrorestadiums eine relativ aufwendige und mit einigen potentiellen Nachteilen behaftete Methode. Einige Patienten sind zudem nicht bereit, die Punktion zur Verlaufskontrolle wiederholen zu lassen. Des Weiteren ist die Leberpunktion nicht in allen Fällen bedenkenlos anwendbar; Kontraindikationen sind beispielsweise Blutgerinnungsstörungen, Gefäßanomalien, akute fieberige Infekte oder eine bestehende Schwangerschaft (Bravo et al., 2001).

2.3.2 Nicht-invasive Diagnostik

Die oben genannten Nachteile der Leberpunktion ließen die Nachfrage nach evaluierten Untersuchungstechniken aufkommen, mit denen man den bindegewebigen Umbau der Leber nicht-invasiv darstellen kann. Ziel ist eine möglichst genaue, schnelle und komplikationslose Messung des Fibrorestadiums in verschiedenen Bereichen des Organs, die bei Bedarf beliebig oft wiederholt werden kann.

Hierzu wurden verschiedenartige Ansätze entwickelt und evaluiert.

2.3.2.1 Sonographie, MRT und CT

Die klassische Sonographie sowie die konventionelle Kernspin- und die Computertomographie eignen sich zur Beurteilung des bindegewebigen Leberumbaus nur begrenzt. Mit diesen bildgebenden Verfahren kann zwar eine Veränderung und Verdichtung des Gewebes festgestellt werden, aber eine Abgrenzung beispielsweise zur Fettleber oder eine genaue Bestimmung des Fibrorestadiums sind nicht sicher möglich. Diese Methoden erweisen sich eher als vorteilhaft bei der Detektion von Raumforderungen bzw. Rundherden im Lebergewebe, oder bei der Diagnostik der Leberzirrhose.

Bei der Beurteilung der zirrhotischen Leber kann die Diagnose in bis zu 88% der Fälle mit Hilfe bestimmter sonographischer Zeichen gestellt werden (Aube et al., 1999). Durch den Nachweis von Zirrhosezeichen wie narbige und knotig-eingezogene, wellige Oberfläche, Regeneratknoten im inhomogenen Leberparenchym, Hypertrophie des Lobus caudatus, rarifizierte und geschlängelte Lebervenen, Zeichen der portalen Hypertension im Farbduplex sowie Aszites, Ausbildung von Kollateralgefäßen oder auch Splenomegalie kann eine Leberzirrhose per Ultraschall, MRT oder CT diagnostiziert werden (Harbin et al., 1980).

Bereits geringe Aszitesmengen können mittels Sonographie, Kernspin- oder Computertomogramm nachgewiesen werden.

2.3.2.2 Transiente Elastographie

Der FibroScan® (Echosens, Paris, France) ist ein eigenständiges, ultraschall-basiertes Untersuchungsgerät, das speziell zur nicht-invasiven transienten Elastographie der Leber entwickelt wurde.

Er ist mit einer Sonde ausgestattet, die intercostal auf die Haut aufgesetzt wird und einen Ultraschallkopf enthält. Die Sonde ist auf der Achse eines Vibrationsgenerators angebracht (Sandrin et al., 2003).



Abbildung 3: FibroScan®, Gerät zur Durchführung der nicht-invasiven Leberfibrosebestimmung mittels transientser Elastographie (Firma Echosens, Paris)

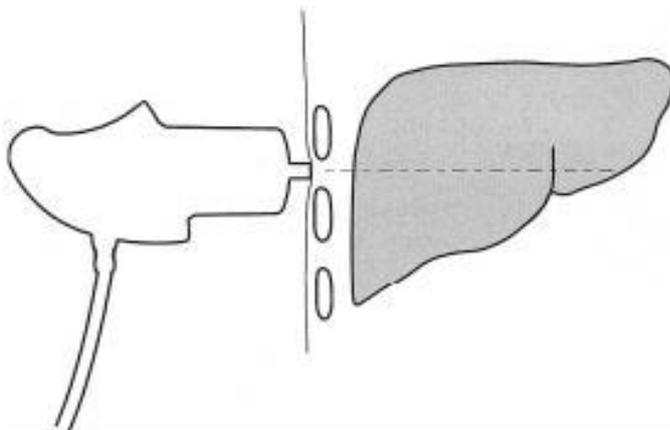


Abbildung 4: Schematische Darstellung der FibroScan®- Sonde und ihrer Untersuchungsposition (aus:Ziol et al., 2005)



Abbildung 5: Untersuchungsposition zur nicht-invasiven Leberfibrosebestimmung durch transiente Elastographie mit dem FibroScan®

Bei der Untersuchung wird eine niedrigfrequente Vibrationswelle (50 MHz) generiert, die das zu untersuchende Gewebe durchwandert. Indem die Ultraschallsonde gleichzeitig mittels hochfrequenter Ultraschallimpulse die Ausbreitungsgeschwindigkeit $V_S = \frac{dS}{dT}$ (Änderung der Strecke S/Änderung der Zeit T) der Vibrationswelle misst, kann die Gewebeelastizität bestimmt werden (Castera et al., 2006; Foucher et al., 2006; Ziol et al., 2005).

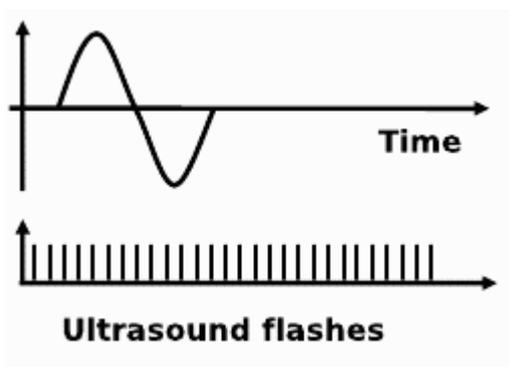


Abbildung 6: Grafik zur Veranschaulichung der Messung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Vibrationswelle im Gewebe durch hochfrequente Ultraschallimpulse (Ultrasound flashes)

Das zugrunde liegende Prinzip hierfür ist: je fester das Gewebe, d.h. je größer seine Dichte ρ , desto schneller ist die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Vibrationswelle V_S , und umgekehrt. Für die Steifheit (Stiffness) E gilt folgende Formel: $E = 3\rho V_S^2$. Die Messergebnisse der Steifheit (Lebersteifheit) werden in Zahlenwerten mit der Einheit kPa angegeben: Je steifer das Gewebe, desto höher der Messwert und das entsprechende Fibrosestadium.

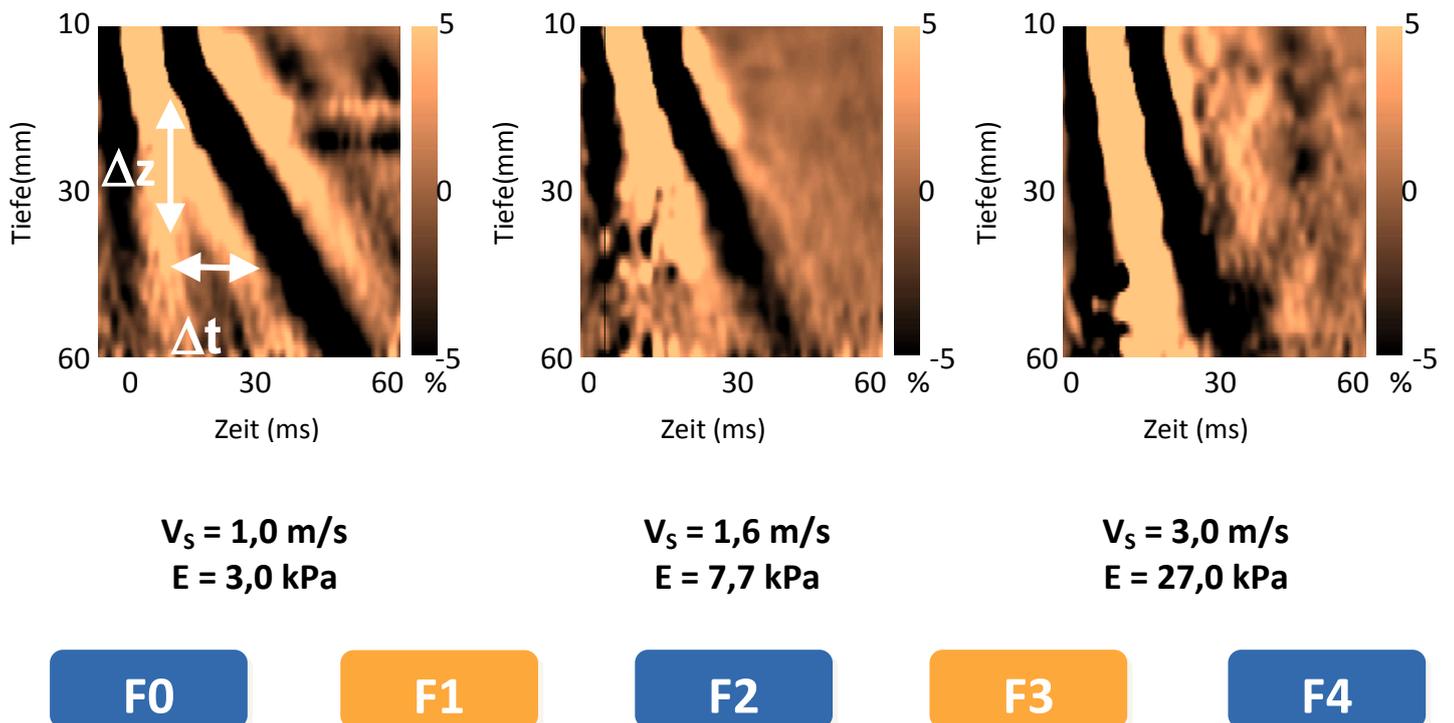


Abbildung 7: Beispiele für die Berechnung verschiedener Steifheits-Werte bei verschiedenen Stadien der Leberfibrose. Je höher die Dichte des Lebergewebes, desto höher die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Vibrationswelle und die Steifheit des Gewebes.

Die transiente Elastographie wurde bereits in mehreren großen Studien getestet, wobei eine hohe Präzision der Untersuchungsmethode festgestellt werden konnte (Castera et al., 2005; Corpechot et al., 2006; Foucher et al., 2005; Ziol et al., 2005).

Im Anschluss an die Untersuchung kann das Ergebnis sofort ausgedruckt und dem Patienten mitgeteilt werden. Der ausgedruckte Befundbogen enthält neben Patientendaten, Elastogramm und den Messwerten als Einzelmesswerte auch bereits den berechneten Median, die Erfolgsrate (success rate), die Abweichung der einzelnen Messwerte (intraobserver variability) sowie die Cut-off Werte der entsprechenden Fibrosestadien zur Interpretation an Hand aktueller Studienergebnisse.

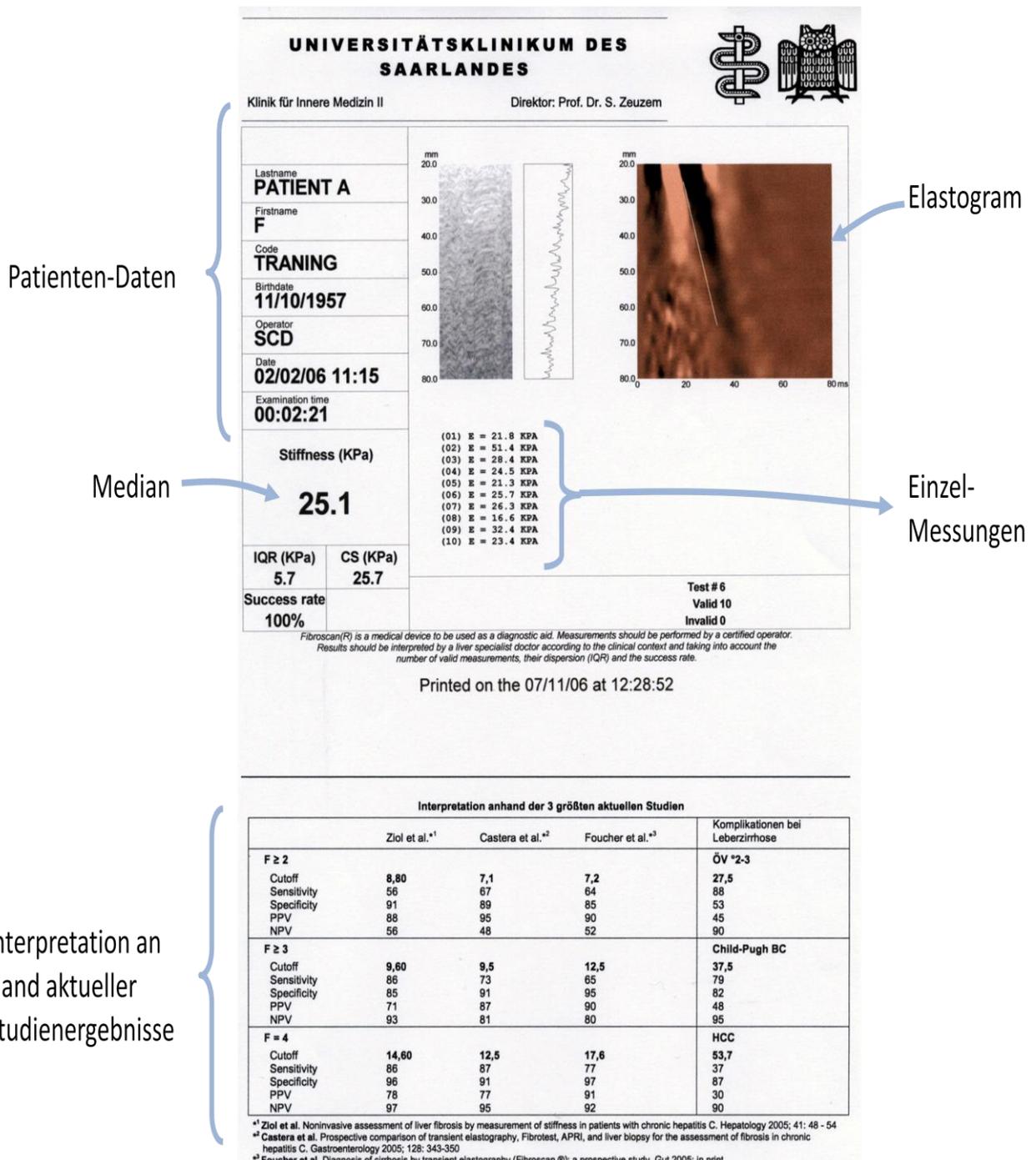


Abbildung 8: Befundbogen mit den Ergebnissen der nicht-invasiven Leberfibrosebestimmung durch transiente Elastographie mit dem FibroScan®. Der FibroScan® kann direkt mit einem Drucker verbunden werden.

In einer Studie von Ziol et al. mit 327 Hepatitis C-Patienten betragen die Werte der AUROC (area under receiver operating characteristics curve), welche die diagnostische Genauigkeit darstellen, 0,79 für signifikante Fibrose ($F \geq 2$), 0,91 für schwere Fibrose ($F \geq 3$) und 0,97 für

Zirrhose ($F = 4$), bei größerer Biopsielänge entsprechend sogar 0,81 bzw. 0,95 und 0,99, wobei das Konfidenzintervall jeweils 95% betrug (Ziol et al., 2005).

Castera et al. ermittelten in ihrer Publication AUROC Werte von 0,83 für signifikante Fibrose ($F \geq 2$), sowie 0,90 für schwere Fibrose ($F \geq 3$), und 0,95 für Zirrhose ($F = 4$). Die Cut-offs beruhen 7,1 kPa für $F \geq 2$, sowie 9,5 kPa für $F \geq 3$ und 12,5 kPa für $F = 4$ (Castera et al., 2005).

Corpechot et al. konnten zeigen, dass die transiente Elastographie eine zuverlässige Methode zur Beurteilung des Erkrankungsstadiums der primär biliären Zirrhose darstellt (Corpechot et al., 2006).

Foucher et al. konnten ebenfalls belegen, dass die mit der transienten Elastographie gemessene Steifheit des Lebergewebes signifikant mit dem Fibrorestadium korreliert ($r = 0,73$; $p < 0,0001$). Als AUROC Werte (mit 95% Konfidenzintervall) wurden 0,80 für signifikante Fibrose ($F \geq 2$), 0,90 für schwere Fibrose ($F \geq 3$) und 0,96 für Leberzirrhose ($F = 4$) ermittelt. Anhand eines Cut-off Wertes von 17,6 kPa wurden Zirrhosepatienten mit einem positiven prädiktiven Wert von 90% identifiziert. Die Steifheit der Leber korrelierte signifikant mit klinischen, biologischen und morphologischen Parametern der Lebererkrankung. Bei einem negativen prädiktiven Wert von $> 90\%$ betrug die Cut-offs für das Vorliegen von Ösophagusvarizen des Stadiums 2 oder 3 27,5 kPa, von Zirrhose entsprechend Child-Pugh B oder C 37,5 kPa, von vorausgegangenem Aszites 49,1 kPa sowie von hepatocellulärem Karzinom und ösophagealer Blutung 53,7 kPa bzw. 62,7 kPa. Bei Werten unterhalb der entsprechenden Cut-offs kann das Vorliegen dieser Komplikationen mit einer Wahrscheinlichkeit von 90% ausgeschlossen werden (Foucher et al., 2006)

In Metaanalysen konnte die hohe diagnostische Genauigkeit der transienten Elastographie weiter bestätigt werden (Friedrich-Rust et al., 2008; Shaheen et al., 2007; Talwalkar et al., 2007).

Diese vielversprechenden Ergebnisse machen die transiente Elastographie zu einer interessanten nicht-invasiven Methode zur Diagnostik der Leberfibrose und -zirrhose bei Patienten mit chronischer Lebererkrankung. Allerdings ist für die Durchführung dieser Untersuchung die kostspielige Anschaffung eines zusätzlichen Gerätes nötig; der finanzielle Aufwand ist etwa doppelt so hoch ist für die nachfolgend beschriebene Methode der Realtime Elastographie, mit welcher ein high-end Sonographiegerät aufgerüstet werden kann.

2.3.2.3 Realtime Elastographie

In das Hitachi EUB 8500 high-end Ultraschallgerät (Hitachi Medical Systems) integriert werden kann die Methode der Realtime Elastographie, welche die Phasenverschiebung im Gewebe misst. Bei der Realtime Elastographie handelt es sich um eine nicht-invasive bildgebende Untersuchungstechnik, bei der die Beschaffenheit des Gewebes direkt mit einem 7,5-13 MHz Ultraschallkopf untersucht werden kann (Frey, 2003; Friedrich-Rust et al., 2007). Es werden manuell Drücke unterschiedlicher Intensität auf die Leber ausgeübt und aus der Dichte- und Volumendifferenz zwischen dem komprimierten und dem nichtkomprimierten Gewebe dessen Elastizitätsverteilung bestimmt. Der Methode liegt das Prinzip zu Grunde, dass sich weiches Gewebe leichter komprimieren lässt als festes Gewebe.

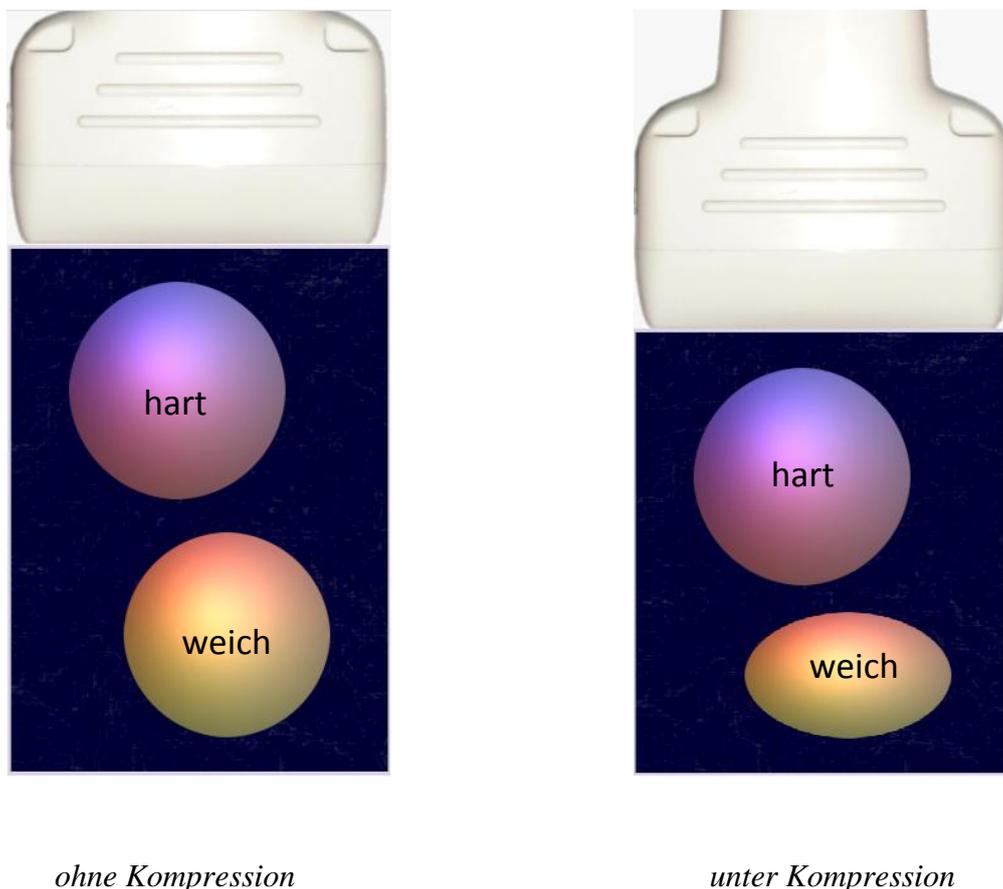


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Kompressionseigenschaften unterschiedlich harter Gewebe bei Untersuchung mittels Realtime Elastographie. Weiche Gewebeanteile lassen sich durch den Schallkopf leichter komprimieren also harte Gewebeanteile (aus: Frey et al., 2003)

Bei der Untersuchung werden Dehnungs- und Belastungswerte des Gewebes vor und nach der Gewebekompression anhand der reflektierten Ultraschallwellen gemessen. Da die Belastungswerte nicht unmittelbar direkt aus den reflektierten Ultraschallwellen ermittelt werden können, basiert die von Hitachi Medical Systems entwickelte Realtime Elastographie auf der so genannten kombinierten Autokorrelationsmethode (Frey, 2003; Yamakawa & Shiina, 1999; Yamakawa & Shiina, 2001). Dieses Verfahren mit 3D-Finite-Berechnung ermöglicht eine Abschätzung der Belastungswerte des Gewebes. Hierbei ist die Berücksichtigung der seitlichen Verschiebungen von Gewebestrukturen bei der Messung möglich, die dann in das Ergebnis mit eingerechnet werden.

Da die Berechnung der Elastizitätsverteilung in Echtzeit geschieht, wird dieses Verfahren als Realtime Elastographie bezeichnet (Cespedes & Ophir, 1993; Frey, 2003; Konofagou & Ophir, 1998; Ophir et al., 1991; Srinivasan et al., 2002).

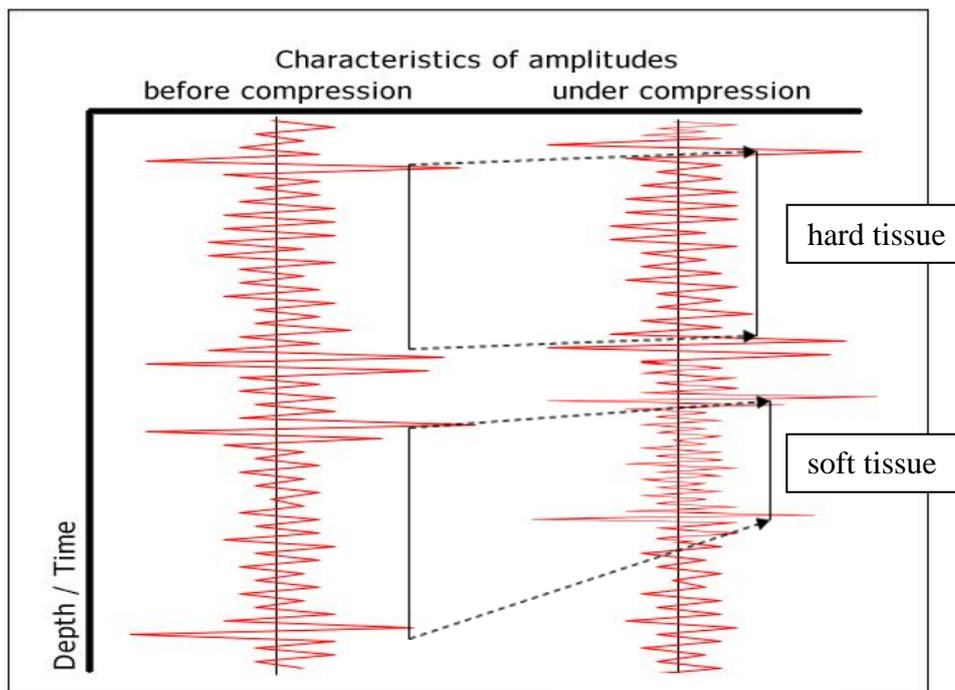


Abbildung 10: Darstellung der Änderung der mit der Realtime Elastographie gemessenen Amplituden vor und unter Kompression von harten und weichen Gewebeanteilen (nach: Frey et al., 2003)

Bei der Untersuchung wird ein farbcodiertes Bild des Gewebeabschnitts erstellt, welches das Bild des konventionellen B-Modus überlagert (siehe *Abbildungen 11 und 12*). Auf der Farbskala entspricht blau der härtesten und rot der weichsten Gewebekonsistenz (Frey, 2003).

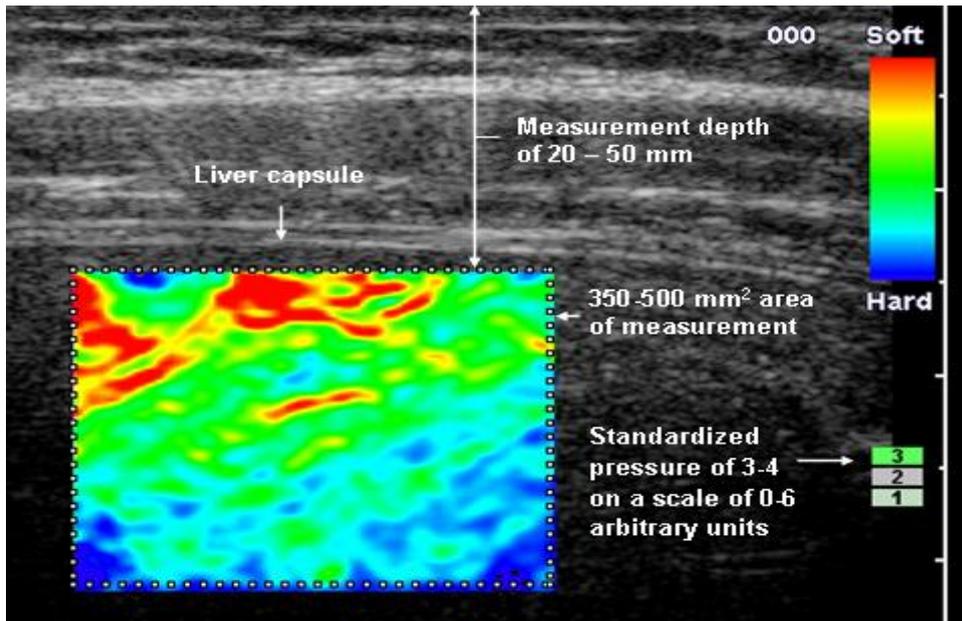


Abbildung 11: Realtime Elastographie mit Gewebeelastizitätsverteilung, dargestellt als farbkodiertes Bild über dem konventionellen B-mode Bild. Das Bild zeigt ein Beispiel eines Normalbefundes (aus: Friedrich-Rust et al., 2007).

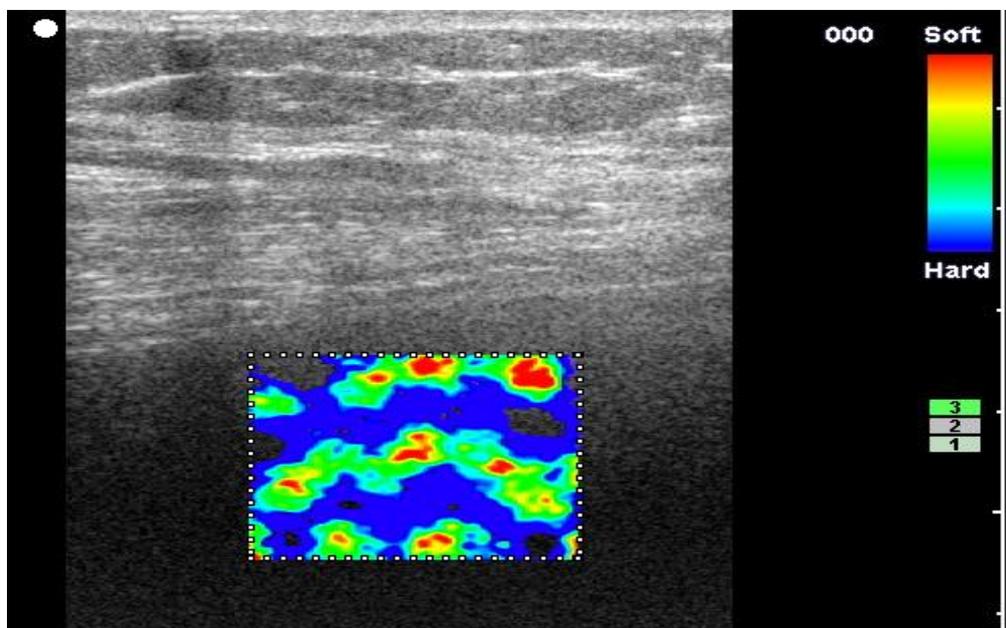


Abbildung 12: Realtime Elastographie mit Gewebeelastizitätsverteilung, dargestellt als farbkodiertes Bild über dem konventionellen B-mode Bild. Das Bild zeigt ein Beispiel einer Leberzirrhose; der Anteil von Gewebe mit festerer Konsistenz (blau) ist deutlich vermehrt.

Die Realtime Elastographie wurde in mehreren Studien zunächst zum Auffinden und Beurteilen von fokalen Läsionen der Mamma, der Prostata und der Schilddrüse geprüft (Giuseppetti et al., 2005; König et al., 2005; Krouskop et al., 1998; Lorenz et al., 2000; Lyshchik et al., 2005; Thomas et al., 2006). In einer Studie von Frey et al. konnte im Phantommodell gezeigt werden, dass per Realtime Elastographie ein Gewebeeinschluss festerer Konsistenz gegenüber dem umgebenden weicheren Gewebe differenziert und lokalisiert werden kann. Außerdem konnten fokale Läsionen der Mamma detektiert werden (Frey, 2003).

In einer ersten Studie der hiesigen Arbeitsgruppe von Friedrich-Rust et al. wurde die Realtime Elastographie dann auch zur Bestimmung des Leberfibrosestadiums eingesetzt. Die farbkodierten Bilder wurden quantifiziert und eine Formel zur Elastizitätsberechnung definiert (s. Patienten und Methoden). In dieser Untersuchung betragen die AUROC-Werte als Maß für die diagnostische Genauigkeit 0,75 für die Diagnose der signifikanten Fibrose ($F \geq 2$), 0,73 für die Diagnose der schweren Fibrose ($F \geq 3$), und 0,69 für die Diagnose der Zirrhose ($F = 4$). Unter Berücksichtigung der Verteilung der Elastizitätsscores nach dem METAVIR- Score wurden die Cut-offs mit 100,1 für $F \geq 2$, 102,5 für $F \geq 3$, und 111,75 für $F = 4$ festgelegt. Insgesamt konnten Patienten mit signifikanter Fibrose ($F \geq 2$) mit einer Sensitivität von 80% korrekt mit der Realtime Elastographie identifiziert werden (Friedrich-Rust et al., 2007).

2.3.2.4 Biochemische Marker

Da der bindegewebige Umbau der Leber mit dem Untergang der Hepatozyten und einer veränderten Synthesituation einhergeht, sind Änderungen verschiedener hämatologischer Parameter zu beobachten, wodurch eine Aussage über potentielle Fibrosierungsvorgänge in der Leber gemacht werden kann. Dabei wird zwischen direkten und indirekten Fibrosemarkern unterschieden.

Direkte Marker spiegeln unmittelbar den Stoffwechsel der extrazellulären Matrix im Lebergewebe wider. Hierzu gehört die Hyaluronsäure, die in einer Studie das Vorliegen einer Zirrhose mit einem negativen prädiktiven Wert von 99% ausschließen konnte (McHutchison et al., 2000). Eine genaue Bestimmung des Fibrosestadiums war jedoch nicht möglich (Patel et al., 2003). Des Weiteren konnte für Cytokin TGF- β , welches den Hauptstimulus zur Produktion des fibrotischen Bindegewebes darstellt, in zwei Studien eine Korrelation mit dem

Fibrosestadium bzw. der Fibroseprogression gezeigt werden (Kanzler et al., 2001; Nelson et al., 1997). Verschiedene Metalloproteasen (MMPs) und ihre Inhibitoren (TIMPs), die zusammen den dynamischen Prozess des Auf- und Abbaus der extrazellulären Matrix regeln, wurden ebenfalls in Studien auf ihre Aussagekraft bezüglich der Fibrose untersucht, wobei die Ergebnisse unterschiedlich ausfielen (Benyon et al., 1996; Boeker et al., 2002; Iredale et al., 1995; Murawaki et al., 1999; Walsh et al., 1999). Ein relativ neuer Fibrosemarker ist der Fibroblasten-Wachstumsfaktor YKL-40. Er scheint bei Patienten mit alkoholtoxischer Leberschädigung aussagekräftig zu sein (Nojgaard et al., 2003).

Indirekte Fibrosemarker wie z.B. Leberenzyme, Thrombozytenzahl, Bilirubin, Albumin und Gerinnungsparameter zeigen Änderungen der Leberfunktion an, die aus dem Fibrosierungsprozess resultieren. Als einzelne Marker haben sie sich nicht durchgesetzt, aber die Kombination der indirekten Marker kann Hinweise auf die Fibroseprogression geben. Zu nennen sind hier der FibroTest® und der ActiTest® (BioPredictive) (Bailly, 2004; Brailion, 2004; Castera et al., 2005; Castera et al., 2006; Ferard et al., 2006; Halfon et al., 2002; Halfon et al., 2006; Imbert-Bismut et al., 2004; Le et al., 2004; Ngo et al., 2006; Payen & Combis, 2004; Poynard et al., 2004; Poynard et al., 2005; Poynard et al., 2006; Ratziu et al., 2006; Rossi et al., 2003), der Forns Score (Forns et al., 2002), und der Aspartate Transaminase to Platelet Level Ratio Index (APRI) (Castera et al., 2005; Wai et al., 2003).

Nachfolgend werden die Tests erläutert, die in der vorliegenden Studie Verwendung fanden.

FibroTest

Der FibroTest® (BioPredictive; www.biopredictive.com) wird mit einer patentierten Formel berechnet, in welche die Werte für die Fibrosemarker Apolipoprotein A1, alpha-2-Makroglobulin und Haptoglobin, sowie für die Leberenzyme Gamma-Glutamyl-Transpeptidase, der Bilirubin-Wert und ein Index für das Geschlecht einfließen.

Nach einer Studie von Halfon et al. betrug der AUROC- Wert für die diagnostische Genauigkeit des FibroTest bezüglich der signifikanten Fibrose ($F \geq 2$) 0,79 und bezüglich der schweren Fibrose ($F \geq 3$) 0,80 (Halfon et al., 2006). Dies bestätigt die in früheren Studien evaluierte Aussagekraft des FibroTest® (Poynard et al., 2006; Ratziu et al., 2006) bezüglich der Diagnose der Leberfibrose.

ActiTest®

Der ActiTest® (BioPredictive; www.biopredictive.com) berechnet sich aus einem patentierten Algorithmus der Werte Gamma-Glutamyl-Transpeptidase, Bilirubin, alpha-2-Makroglobulin, Apolipoprotein A1, Haptoglobin, ALT und dem Alter. Evident ist eine gute Korrelation mit der inflammatorischen Leberaktivität, insbesondere bezüglich der Entzündungs- und Nekroserate bei Patienten mit Hepatitis C.

Der AUROC-Wert als Maß für die diagnostische Genauigkeit bezüglich einer signifikanten entzündlichen Aktivität (A2-A3) betrug in einer Studie von Halfon et al. 0,73 (Halfon et al., 2006). Dies bestätigt, dass der ActiTest® zur Diagnostik der entzündlichen Leberaktivität eingesetzt werden kann, wie bereits in früheren Studien herausgestellt werden konnte (Halfon et al., 2004; Poynard et al., 2004).

2.3.2.5 Kombinationsmethoden

Vor allem die Kombination der nicht-invasiven Methoden transiente Elastographie und Realtime Elastographie mit verschiedenen biochemischen Tests haben vielversprechende Ergebnisse bei der Bestimmung des Leberfibrosestadiums gezeigt.

Eine Studie von Castera et al. zeigte, dass mit einer übereinstimmenden Kombination von FibroTest® und transienter Elastographie in 84 % der Fälle einer signifikanten Fibrose ($F \geq 2$), in 95 % der Fälle einer schweren Fibrose ($F \geq 3$) und in 94 % der Fälle einer Zirrhose das Ergebnis der Leberbiopsie bestätigt werden konnte (Castera et al., 2005).

Eine Studie von Friedrich-Rust et al. konnte eine Steigerung der diagnostischen Genauigkeit durch Kombination von Realtime-Elastographie, Gamma-Glutamyl-Transferase und Thrombozytenzahl aufzeigen. Hierbei war die Sensitivität für die Detektion einer signifikanten Fibrose 84,4 %; die diagnostische Genauigkeit wurde mit AUROC Werten von 0,93 für signifikante Fibrose ($F \geq 2$), sowie 0,95 für schwere Fibrose ($F \geq 3$) und 0,91 für Leberzirrhose ($F = 4$) angegeben (Friedrich-Rust et al., 2007).

2.4 Ziele der Studie und Fragestellungen

In der vorliegenden Studie wurden Patienten mit chronischer Lebererkrankung mit den beiden nicht-invasiven Methoden transiente Elastographie und Realtime Elastographie untersucht.

Bei allen Patienten war das Fibroestadium der Leber nach sonographisch-assistierter Leberpunktion (F0-F4) oder Ultraschallbefund mit gesicherten Zirrhosezeichen (F4) bekannt. Die mittels transienter Elastographie und Realtime Elastographie erhobenen Befunde wurden jeweils mit den histologischen oder sonographischen Vorbefunden der Patienten verglichen und der Grad der Übereinstimmung analysiert. Dies diente dazu, folgende Fragestellungen zu prüfen:

- Liefert eine der beiden nicht-invasiven Elastizitätsmessungen gegenüber der anderen signifikant bessere Ergebnisse?
- Hat eine der Methoden bei bestimmten Patientengruppen entscheidende Vorteile?
- Kann anhand der Ergebnisse die Realtime Elastographie validiert und optimiert werden?

3 Patienten und Methoden

3.1 Konzept der Studie

3.1.1 Art der Studie

Bei der vorliegenden Studie handelt sich um eine vergleichende Diagnosestudie. Zwei alternative Geräte zur nicht-invasiven Messung des Fibrosestadiums der Leber wurden im Vergleich zur invasiven Goldstandard-Diagnostik (Leberpunktion) geprüft.

3.1.2 Art und Herkunft der verwendeten Daten

Für die Studie wurden folgende bereits erhobene Untersuchungsdaten verwendet (Sekundärdaten):

- Histologiebefunde nach sonographie-assistierten Leberpunktionen, die maximal 12 Monate zurück lagen (3.3.1)
alternativ dazu:
- Ultraschall- oder MRT-Befunde mit sicheren Zirrhosezeichen (3.3.2).

Diese Daten stammen aus der Patientendatenbank SAP System sowie aus dem Archiv der Endoskopie des Universitätsklinikums des Saarlandes, Homburg.

Des Weiteren wurden folgende neue Befunde erhoben (Primärdaten):

- Elastizitätsmessung der Leber mittels transiente Elastographie (3.3.3.1)
- Elastizitätsmessung der Leber mittels Realtime Elastographie (3.3.3.2)
- Blutuntersuchung (3.3.4)
- Patientenbefragung (3.3.5)

3.1.3 Zielkriterien

Prüfkriterium war der Vergleich der diagnostischen Genauigkeit (diagnostic accuracy) der beiden alternativen Elastographieverfahren transiente Elastographie und Realtime Elastographie bei verschiedenen Patientenkollektiven.

Die entsprechenden Histologie- bzw. Ultraschall-/Kernspinvorbefunde (3.3.1, 3.3.2) der Patienten wurden dabei als Referenzmethode angesehen.

3.1.4 Zeitplan

Die Primärdaten wurden zwischen dem 01.09.2005 und dem 30.11.2006 erhoben.

Als Sekundärdaten (Referenzdaten) wurden Histologiebefunde bzw. Sonographie-/MRT-Befunde verwendet, die nach dem 30.03.2005 erhoben worden waren. Da bei unbehandelter chronischer Lebererkrankung die mittlere Progressionsrate der Leberfibrose pro Jahr auf 0,085-0,120 Fibrorestadien entsprechend dem METAVIR Score geschätzt werden kann (Thein et al., 2008), war es gerechtfertigt, Leberpunktate zu verwenden, deren Entnahme bis zu 12 Monate zurücklag. Der mittlere Abstand zwischen Leberpunktion und nicht-invasiver Fibroseevaluation betrug 3,5 Monate.

Im Anschluss an die Datenerhebung erfolgte die Analyse der Messergebnisse mit statistischer Auswertung (3.5).

3.2 Patientenkollektiv

Eingeschlossen wurden Patienten mit chronischer Lebererkrankung, die zur Leberpunktion vorstellig waren, oder bei denen bereits ein Leberpunktionsbefund bzw. eine sonographisch/kernspintomographisch diagnostizierte Leberzirrhose vorlag.

Als ursächliche Grunderkrankungen sind zu nennen:

- virale Hepatitiden (HBV, HCV, HDV; auch Coinfektionen)
- AIH (Autoimmunhepatitis)
- PBC (primär biliäre Zirrhose)
- ASH (alkoholische Steatohepatitis)

- NAFLD (nicht-alkoholische Fettlebererkrankung) bzw. NASH (nicht-alkoholische Steatohepatitis)
- medikamentös-toxische Leberfibrose bzw. -zirrhose
- Hämochromatose.

Die Studie wurde in Einklang mit den ethischen Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

Sämtliche Patientendaten wurden in anonymisierter Form protokolliert.

3.2.1 Fallzahlen

Die genaue Aufteilung des anonymisierten Patientenkollektivs beschreibt *Tabelle 1: Patientencharakteristik* (4.1).

3.2.2 Einschlusskriterien

3.2.2.1 Einschlusskriterien für Patienten mit Leberzirrhose

Für Patienten mit bekannter Leberzirrhose galten folgende Einschlusskriterien:

- vorherige Diagnose der Leberzirrhose durch Sonographie/MRT *oder*:
- vorherige Diagnose der Leberzirrhose mittels Histologie nach sonographisch assistierter Leberpunktion.

3.2.2.2 Einschlusskriterien für Patienten ohne Leberzirrhose

Bei Patienten mit nicht-zirrhosisch umgebauter Leber wurde folgendes Einschlusskriterium angewandt:

- vorherige Diagnose des Fibrorestadiums der Leber mittels Histologie nach sonographisch assistierter Leberpunktion, die nicht länger als 12 Monate zurücklag *oder*:
- aktuelle Vorstellung zur geplanten sonographisch assistierten Leberpunktion.

3.2.3 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen wurden alle Probanden mit chronischer Lebererkrankung, bei denen kein Histologiebefund nach sonographisch assistierter Leberpunktion innerhalb der letzten 12 Monate vorlag oder geplant war, und gleichzeitig keine sonographisch/kernspintomographisch diagnostizierte Leberzirrhose bestand.

Weitere Ausschlusskriterien waren Aszites bei Patienten mit Leberzirrhose zum Zeitpunkt der Untersuchung, andere chronische Lebererkrankung als die unter 3.2 genannten, sowie gezielt sonographie-gesteuerte Leberpunktionen, die lediglich zur Abklärung von Raumforderungen oder Rundherden der Leber durchgeführt wurden.

3.3 Verwendete Untersuchungsmethoden

3.3.1 Leberpunktion und Histologie

3.3.1.1 Durchführung der Leberpunktion

Die Durchführung der sonographisch assistierten Leberpunktion erfolgte nach Menghini-Technik in Lokalanästhesie rechts intercostal in der mittleren Axillarlinie. Nach vorangehender Ultraschallkontrolle zur Bestimmung der Punktionsstelle und sorgfältiger Desinfektion der rechten Thoraxwand wurde eine Lokal- und Tiefenanästhesie mit 10 ml Xylonest 1% durchgeführt und dann nach Stichinzision mit einer 1,2 mm dicken Hepafix®-Nadel unter Aspiration punktiert. Es wurden ein oder mehrere 1,2 mm dicke Stanzzyylinder entnommen und sofort in Formalinlösung fixiert. Die Gewebeentnahme erfolgte nach sonographisch assistierter Markierung der Punktionsstelle ohne direkte Ultraschallkontrolle. Nach der Versorgung der Inzisionsstelle mit einem sterilen Verband wurden die Patienten in Rechtsseitenlage mit einem Sandsack auf dem Stichkanal positioniert. Aufgrund der Gefahr von Nachblutungen mussten die Patienten eine vierstündige Bettruhe einhalten und während dieser Zeit auch nüchtern bleiben. In unserer Klinik wurden die Patienten zur Beobachtung für den Punctionstag und den Folgetag stationär aufgenommen. Innerhalb der ersten vier Stunden nach Punction fanden alle 30 Minuten Blutdruck- und Pulskontrollen statt. Eine

klinische Untersuchung und die Anfertigung eines Blutbildes erfolgten am Abend des Punktionstages, bei Verdacht auf eine biopsiebedingte Blutung bereits entsprechend früher.

3.3.1.2 Histologische Beurteilung

Die Biopsiezylinder wurden in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Dicke der mit Hematoxylin-Eosin und Elastica-van-Giesson gefärbten Schnitte betrug 4 µm.

Datum der Leberpunktion und Länge der Stanzzyylinder wurden anonymisiert in tabellarischer Form erfasst.

Die histologische Auswertung erfolgte durch das Institut für Pathologie der Universitätsklinik des Saarlandes, Homburg, und durch die Referenzpathologen Dr. V. Dries, Mannheim und Prof. Dr. P. Schirmacher, Heidelberg.

Die Pathologen waren gegenüber den Ergebnissen der Elastographieuntersuchungen sowie gegenüber den Resultaten der Laboranalysen verblindet.

Für die histologische Beurteilung gibt es verschiedene Scores, wobei sich für die Evaluation des Fibrorestadiums in unserer Klinik die Einteilung in Grade F0 bis F6 nach Ishak (Ishak et al., 1995) sowie der METAVIR Score als Skala von F0 bis F4 (Bedossa & Poynard, 1996) bewährt haben. Dem METAVIR Score liegen folgende Einteilungskriterien zugrunde:

- F0: keine Fibrose
- F1: portale Fibrose ohne Septen (leichte Fibrose)
- F2: portale Fibrose mit wenigen Septen (signifikante Fibrose)
- F3: zahlreiche Septen ohne Zirrhose (schwere Fibrose)
- F4: Zirrhose.

Da der METAVIR Score für Patienten mit viraler Hepatitis entwickelt wurde (Groupe Metavir, 1994) und in unserer Studie Patienten mit unterschiedlichen Lebererkrankungen eingeschlossen wurden, erfolgte die Beurteilung in dieser Studie nach dem Desmet/Scheuer Score (Desmet et al., 1994). Der Desmet/Scheuer Score ist ein deskriptiver Score, der wie auch der METAVIR Score die Fibrosierung der Leber in 4 Stadien quantifiziert. Nach Desmet/Scheuer wird zwischen minimaler, milder, mäßiger und schwerer Fibrose (Stadien 1-4) unterschieden. Der Desmet/Scheuer Score ist zur Beurteilung der Leberfibrose unabhängig

von der Ätiologie der Lebererkrankung geeignet, daher findet er in dieser Studie Verwendung.

3.3.2 Untersuchung mittels Sonographie, MRT und CT

Da eine Leberzirrhose bei Vorliegen der Zirrhosezeichen (2.3.2.3) sonographisch oder durch ein Kernspintomogramm diagnostiziert werden kann, wurde bei solchen Patienten auf eine Leberpunktion verzichtet.

Um die Diagnose einer Zirrhose durch Ultraschall oder MRT zu stellen, mussten mindestens drei der folgenden Zeichen vorliegen: wellige, knotig-narbige Oberfläche, Regeneratknoten, rarifizierte Lebervenen, hypertrophierter Lobus caudatus und/oder Kalibersprung der Pfortader. Außerdem wurde auf das Vorliegen von Aszites geachtet.

Die Ultraschalluntersuchungen wurden mit einem 3,5 MHz Schallkopf zur Beurteilung des Parenchyms und mit einem 7,5 MHz Schallkopf zur Darstellung der Organoberfläche durchgeführt.

3.3.3 Elastizitätsmessung der Leber

3.3.3.1 Untersuchung mittels transienter Elastographie

Die Untersuchung mit dem FibroScan® wurde intercostal über dem rechten Leberlappen durchgeführt, wobei die Patienten in Rückenlage mit dem rechten Arm hinter dem Kopf positioniert waren.

Bei jedem Patienten erfolgten initial an 2 bis 4 verschiedenen Stellen Probemessungen über mindestens 6 cm dickem Leberparenchym ohne große Blutgefäße, um eine eventuelle Heterogenität der Gewebebeschaffenheit zu erkennen. Bei ähnlichen Probemesswerten wurde anschließend an genau einer Stelle eine Messreihe von 10 erfolgreichen Messungen durchgeführt, und daraus der Mittelwert berechnet. Bei unterschiedlichen Probemesswerten, also bei Verdacht auf heterogener Leberbeschaffenheit, wurde zusätzlich an einer zweiten Stelle eine weitere Messreihe von 10 erfolgreichen Messungen durchgeführt, wobei auch hier der Mittelwert ermittelt wurde. Die Untersuchung dauerte pro Patient etwa 5 bis 10 min.

Die vorläufigen Messwerte für die Stiffness (Steifheit) in kPa konnten sofort ausgedruckt und den Patienten unter Vorbehalt mitgeteilt werden. Messergebnisse, die nicht den Mindest-Qualitätsanforderungen entsprachen (success rate > 60% und IQR < 30%), wurden von der Gesamtauswertung ausgeschlossen. Die success rate (Erfolgsrate) steht für den Prozentsatz an gültigen Messungen einer Messreihe; bei jedem Patienten mussten von 10 Messungen mindestens 6 Messungen valide Messwerte ergeben. Außerdem durfte die IQR (inter quartal range), welche die Abweichungen der 10 erfolgreichen Messungen untereinander angibt, maximal 30% betragen.

3.3.3.2 Untersuchung mittels Realtime Elastographie

Die Realtime Elastographie wurde intercostal über dem rechten Leberlappen mit einem 7,5-13 mHz Schallkopf durchgeführt. Dazu mussten die Patienten in Rückenlage den rechten Arm hinter den Kopf nehmen und wurden angewiesen, während der Untersuchung normal zu atmen. An der zu untersuchenden Stelle musste das Gewebe mindestens eine Dicke von 6 cm aufweisen, zugleich durften keine großen Blutgefäße dort vorhanden sein.

Die Größe des zu messenden Gewebeabschnittes betrug 350-500 mm², die Messtiefe 20 bis 50 mm. Für valide Messungen musste auf das Gewebe ein Druck der Stärke 3-4 auf einer Skala von 0-6 Einheiten ausgeübt werden. Die Messergebnisse wurden in Form von farbcodierten Bildern gespeichert.

Bei jedem Patient wurden zehn valide Messungen vorgenommen, was ungefähr 5-10 min pro Proband dauerte.

Für die Auswertung der Messwerte bezüglich des Fibrorestadiums bediente man sich zweier verschiedener Scores, dem German Elasticity Score und dem Japanese Elasticity Score, welche zuvor in entsprechenden Studien evaluiert worden waren (Friedrich-Rust M et al., 2007; Tatsumi et al., 2008).

Für die Berechnung des German Elasticity Scores wurde die Elastizität des Gewebes nach der Farbcodierung der Bilder auf einer Skala von 0 (minimale Elastizität, blau) bis 10 (maximale Elastizität, rot) bewertet (Friedrich-Rust et al., 2007). Dabei wurde für jeden Bildpunkt ein Elastizitätswert bestimmt. Dazu wurde das speziell entwickelte Computerprogramm MATLAB (version 6, MathWorks Inc., Natick, MA, USA) verwendet. Aus den Ergebnissen wurden zusammenfassend als statistische Größen Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Frequenz der Pixelwerte über 0,75 der Einzelmessungen berechnet. In einem zweiten

Schritt wurden von jeder Messung alle Bilder, die unter standardisiertem Druck ermittelt worden waren, statistisch analysiert. Dies geschah mit dem professionellen Computerprogramm SPSS (version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Um Ausreißerwerte zu identifizieren und auszuschließen, basierte die endgültige Analyse auf 10 zusammenfassenden Variablen, welche der Elastizität mit hoher Reproduzierbarkeit entsprachen. Zur Ermittlung einer Formel für die Berechnung der optimalen Elastizitätswerte fand die schrittweise multivariate logistische Regression Verwendung. Der Elastizitätsscore wurde schließlich nach der folgenden Formel berechnet:

Elasticity Score = $177 + 50 * \text{Log}_{10} (\text{Median}(\text{Freq}(\text{pixel} \geq 0,75))) - 13000 * \text{Min}(\text{Min}(\text{pixel with values above 0}))$ (Friedrich-Rust et al., 2007).

Zur Berechnung des Japanese Elasticity Score wurde die Elastizität des untersuchten Gewebes entsprechend den farbcodierten Bildern mit Werten von 0-255 beschrieben, wobei rot (0) dem weichsten und blau (255) dem festesten Gewebe entsprachen (Tatsumi et al., 2008) Danach erfolgte die Berechnung der Mediane +/- der Standardabweichungen zu den einzelnen ROI (region of interest). Die prozentualen Anteile der blauen Areale in den ROI, der Anteil der Vermischung von weichem und festem Gewebeanteilen (Quadrat der Länge geteilt durch das blaue Areal), die Schiefe der Verteilung, sowie die Bildanteile, welche andersartige Gewebestrukturen enthielten, das Angular Second Moment (ASM) und die Entropie (mittlerer Informationsgehalt) wurden ebenfalls für die einzelnen ROI berechnet (Tatsumi et al., 2008).

3.3.4 Blutuntersuchung

3.3.4.1 Laborparameter

Bestimmt wurden die folgenden Blutwerte:

- Haptoglobin
- alpha-2-Makroglobulin
- Apolipoprotein 1
- Albumin
- International normalized ratio (INR)
- Aspartat-Aminotransferase (ASAT)
- Alanin-Aminotransferase (ALAT)
- Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)

- gesamtes Bilirubin
- Thrombozytenzahl

Alle beschriebenen Parameter wurden im Zentrallabor der Universitätsklinik des Saarlandes, Homburg, bestimmt, und die Enzymaktivitäten gemäß der International Federation of Clinical Chemistry Standards bei 37°C gemessen.

3.3.4.2 Biochemische Scores

Folgende biochemische Scores wurden bestimmt:

- FibroTest® (BioPredictive), berechnet aus den Parametern Apolipoprotein A1, alpha-2-Makroglobulin und Haptoglobin, sowie den Leberenzymen Gamma-Glutamyl-Transpeptidase, dem Bilirubin-Wert und einem Index für das Geschlecht. Zur Auswertung werden die Zahlenwerte des FibroTest® verschiedenen Fibrosegraden auf einer Skala von 0 bis 4 nach dem METAVIR-Score (Bedossa & Poinard, 1996) zugeordnet:

0,00 - 0,21 \leftrightarrow F0

0,22 - 0,27 \leftrightarrow F0-F1

0,28 - 0,31 \leftrightarrow F1

0,32 - 0,48 \leftrightarrow F1-F2

0,49 - 0,58 \leftrightarrow F2

0,59 - 0,72 \leftrightarrow F3

0,73 - 0,74 \leftrightarrow F3-F4

0,74 - 1,00 \leftrightarrow F4

- ActiTest® (BioPredictive), berechnet aus den Werten von Gamma-Glutamyl-Transpeptidase, Bilirubin, alpha-2-Makroglobulin, Apolipoprotein A1, Haptoglobin, ALT und dem Alter. Die Auswertung erfolgt durch Zuordnung der Zahlenwerte zu einer Skala von 0 bis 3 entsprechend den Aktivitätsgraden des METAVIR Scores (Bedossa & Poinard, 1996):

0,00 - 0,17 \leftrightarrow A0

0,18 - 0,29 \leftrightarrow A0-A1

0,30 - 0,36 \leftrightarrow A1

0,37 - 0,52 \leftrightarrow A1-A2

0,53 – 0,60 \leftrightarrow A2

0,61 – 0,63 \leftrightarrow A2-A3

0,64 – 1,00 \leftrightarrow A3

3.3.5 Befragung der Patienten bezüglich antiviraler Therapie

Patienten mit Hepatitis B bzw. Hepatitis C, bei denen im April 2005 oder später eine Leberbiopsie durchgeführt wurde, wurden gefragt, ob sie sich zwischen der Leberpunktion und der Untersuchung mit transienter Elastographie bzw. Realtime Elastographie einer antiviralen Behandlung unterzogen hatten. Keiner der untersuchten Patienten erhielt im diesem Zeitraum eine komplette antivirale Therapie.

3.5 Datenanalyse und statistische Auswertung

Die Analyse der Untersuchungsdaten erfolgte mit Unterstützung des Instituts für Biomathematik und Medizinische Informatik der Universität des Saarlandes, Homburg; speziell durch Dr. M. F.Ong und Dr. E. Herrmann.

Als Datenverarbeitungsprogramme wurden SPSS statistics software (version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA), sowie MATLAB (version 6, MathWorks Inc., Natick, MA, USA) verwendet.

Da die Elastizitäts- und Laborscores nicht normalverteilt waren, kam der Jonckheere-Terpstra-Test zur Anwendung, um die Scores mit dem histologischen Fibroestadium zu vergleichen.

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte als Medianlinie und in Form des Intervalles zwischen der 25. und der 75. Perzentile (Box-Plot).

Die Korrelation zwischen beiden Scores wurde des Weiteren durch den Spearman Korrelationskoeffizienten erfasst.

Elastizitätsscores und Laborwerte wurden durch die receiver operating characteristics (ROC) Kurven beschrieben. Die ROC Kurve ist repräsentativ für das Verhältnis der Sensitivität zu 1-Spezifität für alle möglichen Cut-off Werte. Die Fläche unter der Kurve (AUROC, area under the ROC curve) und das innere 95%- Intervall der AUROC wurden berechnet (SPSS, version

12.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Nähert sich hierbei die AUROC der Zahl 1,0 an, so bedeutet dies höchste diagnostische Genauigkeit.

Durch ein gebräuchliches Optimierungsverfahren, das die Summe der Sensitivitäten beim Vorhersagen der einzelnen Stadien maximiert, konnten die Cutt-off Werte definiert werden, die den Vorhersagebereich für jedes Fibroestadium festsetzen. Schließlich wurden Sensivität, Spezifität, sowie positiver und negativer prädiktiver Wert ohne weitere Angleichungen aus der gleichen Datenbank mittels MATLAB (version 6, MathWorks Inc., Natick, MA, USA) berechnet.

Auf diese Weise wurde die gesamte Studienpopulation analysiert. Bei Patienten mit nachgewiesener Leberzirrhose wurden das Fibroestadium als F4 nach METAVIR bzw. Desmet/Scheuer eingestuft.

4 Ergebnisse

4.1 Patientencharakteristik

Insgesamt erfüllten 146 Patienten die Aufnahmekriterien und konnten in die Studie eingeschlossen werden. Bei 12 dieser Patienten konnte jedoch mit der transienten Elastographie kein verwertbares Untersuchungsergebnis erhoben werden, da keine 10 validen Messungen möglich waren. Deshalb wurden diese Patienten aus der endgültigen Auswertung der Vergleichsstudie ausgeschlossen wurden, welche dann noch 134 Patienten umfasste. Die Untersuchungsdaten der 12 Patienten wurden jedoch verwendet, um potentiell beeinflussende und zu Fehlmessungen führende Faktoren, wie z.B. den Body Mass Index (BMI), zu untersuchen.

Tabelle 1 zeigt die demographischen Daten der Patienten.

Bei den 22 Patienten mit Leberzirrhose wurde das Fibrorestadium nach dem Desmet/Scheuer Score als F4 klassifiziert.

Tabelle 1: Patientencharakteristik

| Eigenschaft | Patienten (n=134) |
|--|--------------------------|
| Geschlecht: m / w | 69/65 |
| Alter (Jahre) | 47 ± 14 (Bereich: 18-76) |
| BMI (kg/m ²) | 25 ± 4 (Bereich: 15-40) |
| AST (x ULN) | 1.42 ± 1.10 |
| ALT (x ULN) | 1.87 ± 2.87 |
| GGT (x ULN) | 1.59 ± 1.79 |
| Gesamt-Bilirubin (mg/dL) | 0.95 ± 1.10 |
| Thrombozytenzahl (10 ³ /mm ³) | 203 ± 80 |
| Diagnose: | |
| Hepatitis C | 81 |
| Hepatitis B | 19 |
| AIH | 11 |
| PBC/PSC | 5 |
| NASH | 7 |
| andere* | 11 |
| Desmet/Scheuer Fibroestadium | |
| F0 | 13 |
| F1 | 53 |
| F2 | 23 |
| F3 | 14 |
| F4 | 31 |
| Histologische Steatose bei 112 Pat. mit LB | |
| S0 | 38 |
| S1 | 42 |
| S2 | 15 |
| S3 | 8 |
| S4 | 9 |

**ASH, Hämochromatose, Toxische Hepatopathie*

LB = Leberbiopsie; AIH = Autoimmunhepatitis; PBC = Primäre biliäre Zirrhose; PSC = Primäre sklerosierende Cholangitis; NASH = Nicht-Alkoholische Steatohepatitis

4.2 Korrelation der nicht-invasiven Untersuchungsmethoden mit der Leberhistologie

Tabelle 2 und Abbildung 13 zeigen die Korrelation zwischen den nicht-invasiven Untersuchungsmethoden und der Histologie.

Die transiente Elastographie (FibroScan®) korrelierte signifikant mit der Histologie ($r = 0,73$; $p < 0,001$), ebenso der FibroTest® ($r = 0,65$; $p < 0,001$).

Für die Realtime Elastographie konnte die beste signifikante Korrelation anhand des Japanese Elasticity Score ermittelt werden, welcher mit dem Angular Second Moment (ASM) die Homogenität der Bilder prüft ($r = 0,30$; $p < 0,001$).

Tabelle 2: Korrelation der nicht-invasiven Methoden mit der Histologie

| | Desmet/Scheuer Score | p-Wert | Chevallier Score | p-Wert |
|--|-----------------------------|---------------|-------------------------|---------------|
| FibroScan® | 0,73 | < 0,001 | 0,61 | < 0,001 |
| FibroTest® | 0,65 | < 0,001 | 0,58 | < 0,001 |
| German Elasticity Score (Friedrich-Rust et al., 2007) | 0,08 | 0,38 | 0,07 | 0,51 |
| Japanese Elasticity Score (MEAN) (Tatsumi et al., 2008) | -0,23 | < 0,01 | -0,21 | < 0,05 |
| Japanese Elasticity Score (ASM) (Tatsumi et al., 2008) | 0,30 | < 0,001 | 0,33 | < 0,001 |

ASM= Angular Second Moment

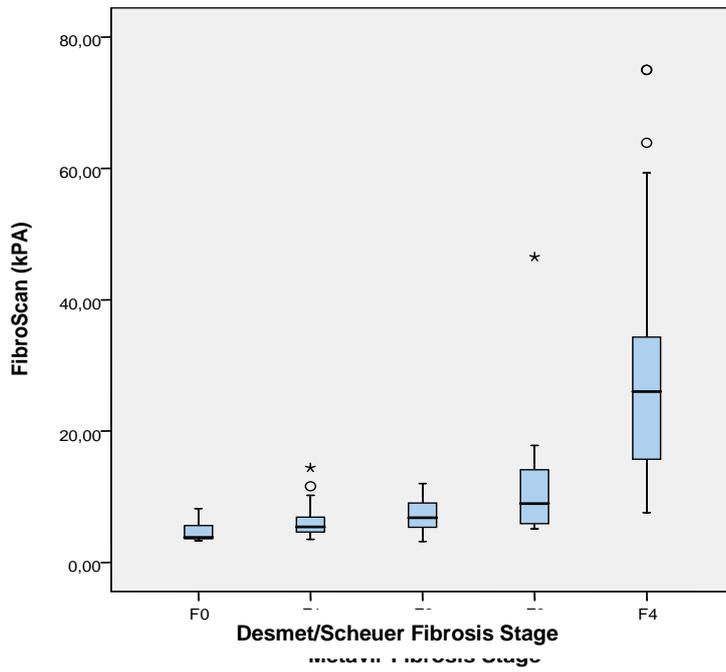


Abbildung 13a

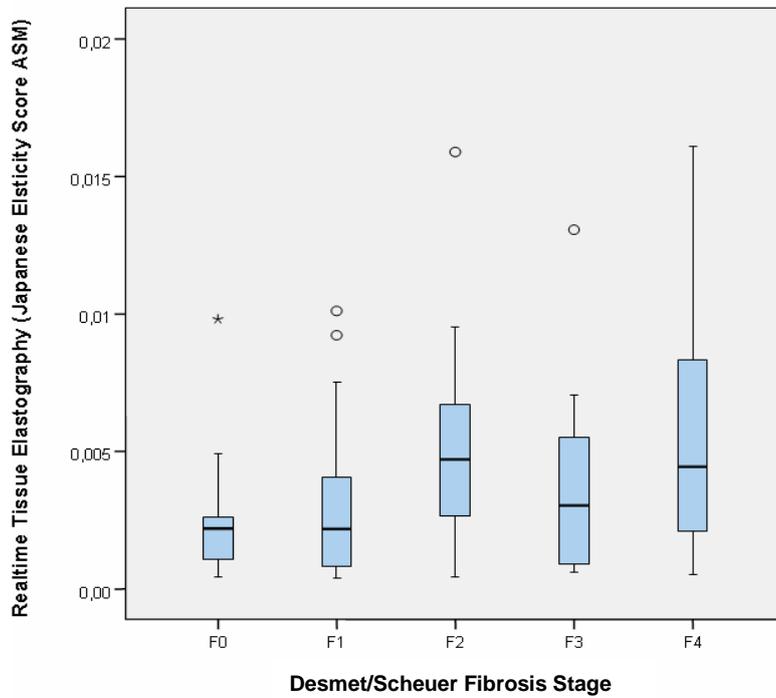


Abbildung 13b

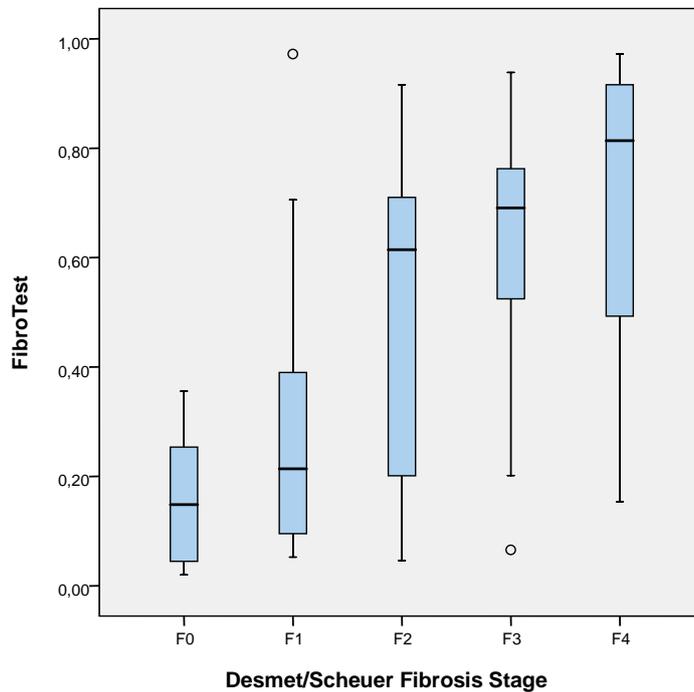


Abbildung 13c

Abbildung 13:

Box Plots für transiente Elastographie (13a), Realtime Elastographie (13b) und FibroTest® (13c) unter Verwendung des Japanese Elasticity Score ASM für alle Fibrosestadien. Die oberen Ränder der Kästen repräsentieren jeweils das erste, die unteren Ränder der Kästen jeweils das dritte Quartil. Die Länge der Kästen stellt den Interquartilsbereich dar, innerhalb dessen sich 50 % der Werte befinden. Die dicke Linie durch die Mitte der Kästen repräsentiert jeweils den Median. Die nach unten und oben abschließenden Querstriche markieren jeweils die Werte für Minimum bzw. Maximum (Streubereich). Die kleinen Kreise stellen Ausreißer dar.

Die diagnostische Genauigkeit der nicht-invasiven Methoden wurde mit Hilfe der AUROC (area under receiver operating characteristics curve) bei signifikanter Korrelation mit der Biopsie berechnet.

Dabei wurden die verschiedenen Fibroestadien (F2 entsprechend signifikanter Fibrose, F3 entsprechend schwerer Fibrose und F4 entsprechend Zirrhose) nach Desmet/Scheuer verglichen. Die transiente Elastographie erwies sich als die Methode mit der höchsten diagnostischen Genauigkeit bei schwerer Fibrose oder Zirrhose. Im Stadium F2 der signifikanten Fibrose wies der FibroTest® eine leicht höhere diagnostische Genauigkeit auf als die transiente Elastographie.

In allen Fibroestadien waren transiente Elastographie und FibroTest® der Realtime-Elastographie bezüglich der diagnostischen Genauigkeit überlegen.

Die Ergebnisse sind in *Tabelle 3* und *Abbildung 14* dargestellt.

Tabelle 3:

Area under ROC curve (95% Konfidenzintervall) für Realtime Elastographie (Japanese Elasticity Score), transiente Elastographie und FibroTest® nach Desmet/Scheuer Fibroestadium

| Methode | F ≥ 2 | F ≥ 2 angepasst^{*1} | F ≥ 3 | F = 4 |
|-------------------------------------|-----------------------|---|-----------------------|------------------------|
| Transient Elastography | 0,84 (0,78 – 0,91) | 0,86 | 0,91 (0,85 – 0,97) | 0,97 (0,94 – 0,995) |
| Japanese Elasticity Score (MEAN) | 0,64 (0,55 – 0,74) | 0,65 | 0,59 (0,49 – 0,70) | 0,63 (0,52 – 0,74) |
| Japanese Elasticity Score (ASM) | 0,69 (0,60 – 0,78) | 0,71 | 0,63 (0,53 – 0,73) | 0,65 (0,54 – 0,76) |
| FibroTest® (nur n=107) | 0,85 (0,77 – 0,92) | 0,87 | 0,84 (0,76 – 0,92) | 0,83 (0,74 – 0,92) |

^{*1}*DANA-angepasste AUROC (Poynard et al., 2007a) für ein einheitliches DANA von f 2,5*

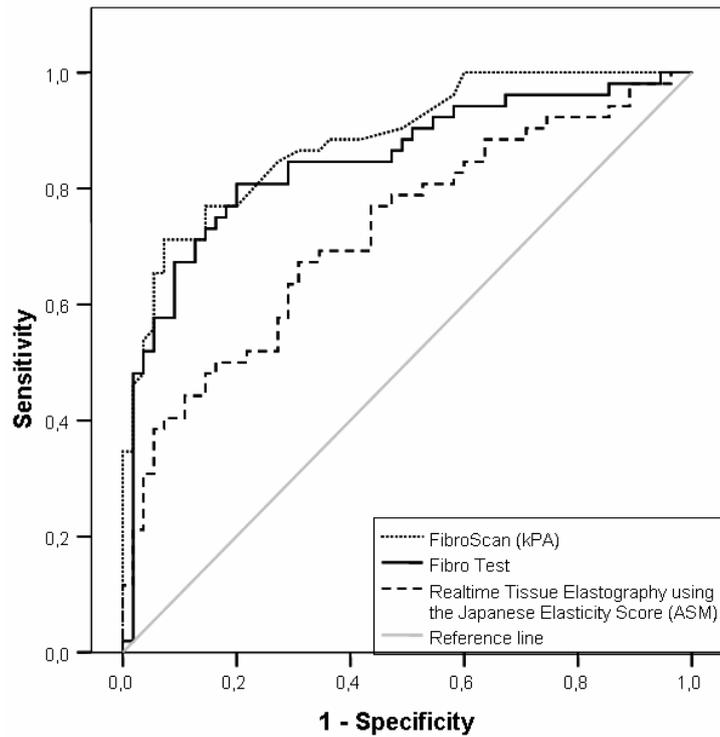


Abbildung 14a

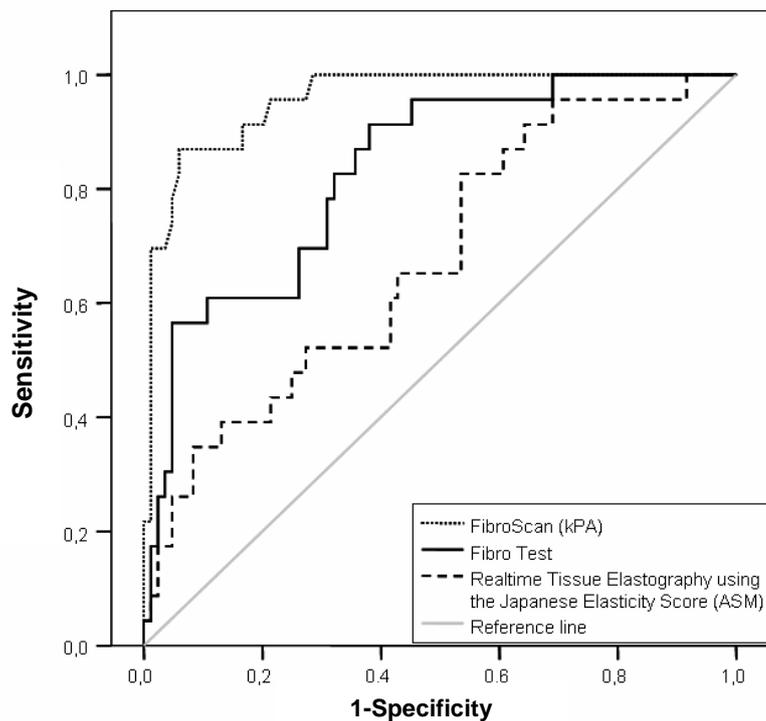


Abbildung 14b

Abbildung 14: Receiver operating characteristic (ROC) Kurven für transiente Elastographie (FibroScan®), FibroTest® und Realtime Elastographie unter Verwendung des Japanese Elasticity Score ASM zur Diagnostik von signifikanter Fibrose (Desmet/Scheuer $F \geq 2$) (14a) und Zirrhose (Desmet/Scheuer $F = 4$) (14b).

In einer Subanalyse wurden nur Patienten mit Hepatitis C Virus eingeschlossen (n = 81). Hierbei änderte sich die Korrelation der nicht-invasiven Methoden mit der Histologie nicht signifikant.

Die nachfolgende *Tabelle 4* beinhaltet die ermittelten Werte für Spezifität und Sensitivität sowie den positiven prädiktiven Wert (PPV) und negativen prädiktiven Wert (NPV) bei Verwendung der transienten Elastographie. Hierbei wurden die in früheren Studien ermittelten Cutt-offs zu Grunde gelegt.

Tabelle 4: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV in % (95% Konfidenzintervall) für ermittelte Cut-off Werte (kPa) der transienten Elastographie zur Diagnostik der Fibrorestadien nach Desmet/Scheuer

| | Value | F ≥ 2 | F ≥ 3 | F = 4 |
|------------------------------------|--|------------|-------------|-------------|
| Alle Patienten (n=134) | Cut-off * (Foucher J et al., 2006) | 7,2 | 12,5 | 17,6 |
| | Sensitivität | 74 (61-83) | 62 (47-76) | 71 (52-86) |
| | Spezifität | 79 (67-88) | 99 (94-99) | 98 (93-99) |
| | Positiver prädiktiver Wert | 78 (66-87) | 96 (82-99) | 92 (73-99) |
| | Negativer prädiktiver Wert | 74 (62-84) | 84 (75-90) | 92 (85-96) |
| Nur HCV Patienten (n=81) | Cut-off ** (Castera L et al., 2005) | 7,1 | 9,5 | 12,5 |
| | Sensitivität | 64 (47-79) | 69 (48-86) | 80 (52-96) |
| | Spezifität | 81 (66-91) | 95 (85-99) | 94 (85-98) |
| | Positiver prädiktiver Wert | 76 (58-89) | 86 (64-97) | 75 (48-93) |
| | Negativer prädiktiver Wert | 71 (56-83) | 87 (75-94) | 95 (87-99) |

* Foucher Gut 2005

** Castera Gastroenterology 2005

Für die Realtime Elastographie konnte bei den Patienten mit Hepatitis C jedoch unter Verwendung des Japanese Elastizitätsscores eine Tendenz zur höheren inversen Korrelation der mit der Histologie beobachtet werden (-0,30 gegenüber -0,22 bezüglich der Desmet/Scheuer Klassifikation), Dies entspricht einer tendenziell besseren Übereinstimmung der Realtime Elastographie mit der Histologie bei diesem Patientekollektiv.

4.3 Korrelation der nicht-invasiven Methoden untereinander

Für die transiente Elastographie konnte bezüglich des FibroTest® eine signifikante Korrelation gezeigt werden ($r = 0,54$; $p < 0,001$). Bei der Analyse der transienten Elastographie gegenüber der Realtime Elastographie unter Verwendung des Japanese Elastizitätsscores MEAN zeigte sich eine inverse Korrelation ($r = -0,29$; $p < 0,05$) (Abbildung 15). Dementsprechend korrelierte auch der FibroTest® invers mit der Realtime Elastographie unter Verwendung des Japanese Elasticity Score ($r = -0,26$; $p < 0,01$).

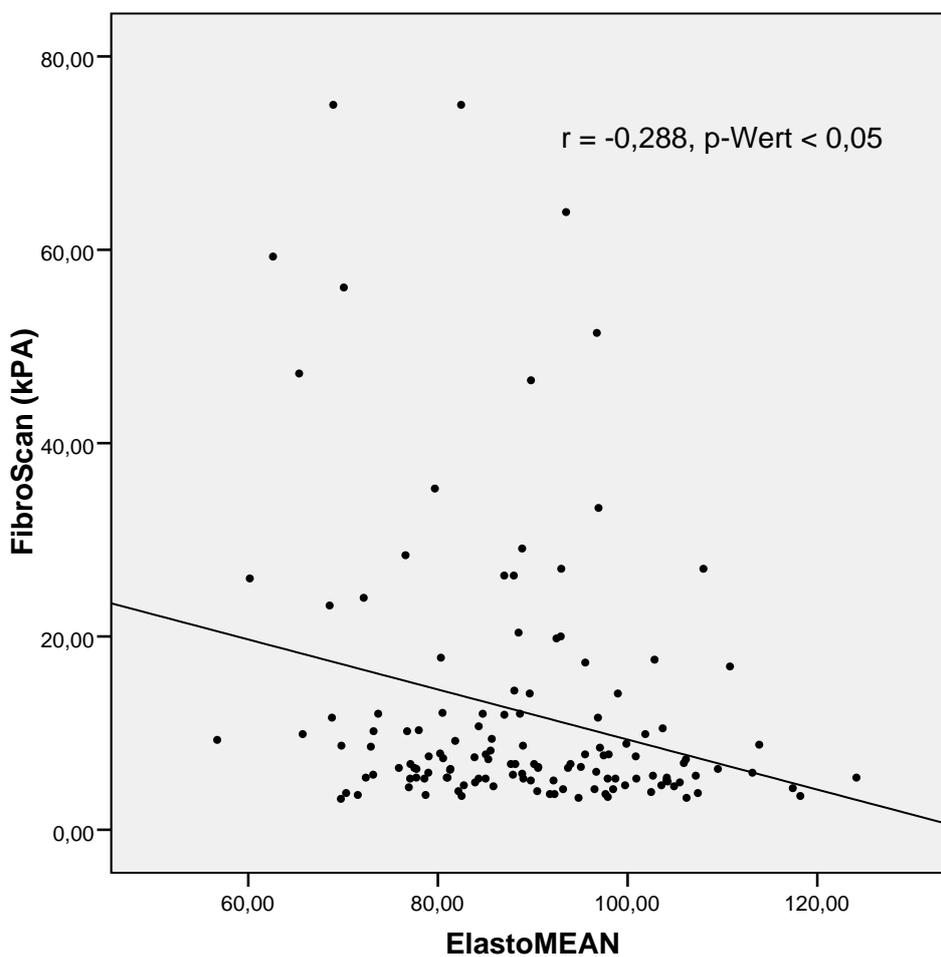


Abbildung 15:

Punktwolke zur Korrelation von transienter Elastographie und Realtime Elastographie

4.4 Einflussfaktoren bei den Messungen

Das Vorliegen einer histologisch gesicherten Steatosis hepatis hatte keinen Einfluss auf die Messergebnisse der transienten Elastographie und der Realtime Elastographie. Dennoch war zu beobachten, dass die Patienten, bei denen die geforderte Anzahl von 10 validen Messungen mit der transienten Elastographie nicht erreicht werden konnte, durchschnittlich einen höheren Body Mass Index (BMI) aufwiesen als die Patienten, bei denen die Untersuchung problemlos durchführbar war (31 kg/m^2 gegenüber 25 kg/m^2).

Der nicht-invasive Marker für entzündliche Aktivität ActiTest® zeigte eine signifikante Korrelation von 0,37 ($p < 0,001$) mit der histologisch bestimmten entzündlichen Aktivität.

Bei histologisch nachgewiesener erhöhter nekroinflammatorische Aktivität und entsprechend erhöhten Werten für den ActiTest® bzw. des Alanin-Aminotransferase (ALT) Blutspiegels resultierten entsprechend höhere Messwerte bei der transienten Elastographie, dem FibroTest®, und auch bei der der Realtime Elastographie (unter Verwendung des Japanese Elastizitätsscores ASM).

Bei den Patienten ohne signifikant erhöhte entzündliche Aktivität A0-A1 im ActiTest® ($< 0,56$; $n = 78$) ergaben sich aus den zugehörigen Messwerten der transienten Elastographie ein Median von 7,15 kPa bzw. ein Mittelwert von 9,44 kPa. Bei den Patienten mit signifikanter inflammatorischer Aktivität A2-A3 nach ActiTest® ($> 0,57$; $n = 32$) lagen die Stiffness-Werte der transienten Elastographie mit einem Median von 10,5 kPa und einem Mittelwert von 16,06 kPa entsprechend höher.

Bei unseren Auswertungen erbrachte der Ausschluss von Biopsien mit geringerer Länge (10 bis 15 mm; $n = 31$) keine signifikante Verbesserung der Resultate.

Zusammenfassend konnten in der vorliegenden Studie sowohl die transiente Elastographie als auch die Realtime Elastographie als statistisch signifikante Methoden zur Evaluation der Leberfibrose verwendet werden, wobei die höchste diagnostische Genauigkeit im Gesamtkollektiv durch Elastizitätsmessung mittels transienten Elastographie erreicht werden konnte.

Die Kombination mit biochemischen Markern (FibroTest®/ActiTest®) erwies sich für beide Elastographieverfahren als sinnvoll. Bei Patienten mit erhöhter entzündlicher Aktivität konnte diese mit dem ActiTest® statistisch signifikant detektiert werden. Dies ist von Bedeutung, da

sowohl die beiden Elastographieverfahren als und auch der FibroTest® bei vermehrter Entzündungsaktivität falsch hohe Werte ergeben können, was bei der nicht-invasiven Bestimmung des Leberfibrosestadiums entsprechend berücksichtigt werden muss.

5 Diskussion

Das Leberfibrosestadium ist nicht nur ein wichtiger Faktor zur Evaluation der Schwere der Lebererkrankung, es kann auch im Rahmen der Verlaufskontrolle zur Beurteilung des Krankheitsprogresses herangezogen werden. Deshalb stellt die genaue Bestimmung des Leberfibrosestadiums eine wichtige Orientierungsmarke für die Therapieplanung und auch für die Evaluation der Prognose von Patienten mit chronischer Lebererkrankung dar.

Die zur Evaluation der Fibrose übliche sonographie-gesteuerte Leberpunktion ist jedoch mit einigem Aufwand verbunden und kann wie jeder invasive Eingriff mit Komplikationen einhergehen. Daher besteht ein Bedarf an neuen, nicht-invasiven Methoden, in welche die Erwartung gesetzt wird, praktisch ohne Komplikationsrisiko und mit geringem Untersuchungsaufwand eine akkurate Fibrosebestimmung durchführen zu können.

In der hier vorliegenden Studie wurden zwei ultraschall-ähnliche Methoden der nicht-invasiven Leberdiagnostik (transiente Elastographie und Realtime Elastographie) sowie zwei biochemische Scores (FibroTest® und ActiTest®) hinsichtlich ihrer diagnostischen Genauigkeit und Korrelation mit der Leberbiopsie untersucht.

5.1 Überlegungen zum Studiendesign

Es sind bereits viele Studien zur Evaluation verschiedener Methoden der nicht-invasiven Fibrosediagnostik veröffentlicht worden. In den letzten Jahren wurde neben verschiedenen Fibrosemarkern auch die transiente Elastographie intensiv evaluiert. Eine erste Pilotstudie zur Realtime Elastographie zeigte bei Patienten mit Hepatitis C, dass die Methode möglicherweise ebenfalls zur nicht-invasiven Beurteilung des Leberfibrosestadiums verwendet werden kann. Die Realtime Elastographie lässt sich im Gegensatz zur transienten Elastographie in ein high-end Ultraschallgerät integrieren und kann somit im Rahmen einer Routine-Ultraschallkontrolle einfach und problemlos im gleichen Untersuchungsgang zum Einsatz kommen. Eine Validierungsstudie zur Fibrosediagnostik mit dieser Methode fehlt jedoch bisher. Auch gibt es noch nicht genügend Daten zur Realtime Elastographie bei Lebererkrankungen nicht viraler Genese.

Ziel der vorliegenden Arbeit war eine unmittelbare Gegenüberstellung von transienter Elastographie und Realtime Elastographie bei der nicht-invasiven Leberfibrosebestimmung.

Um im direkten Vergleich zu untersuchen, ob eine der beiden nicht-invasiven Untersuchungsmethoden entscheidende Vorteile bei bestimmten Patientenkollektiven aufweist, wurden in die vorliegende Studie Patienten mit verschiedenen Grunderkrankungen, die alle zur Ausbildung einer Leberfibrose führen können, eingeschlossen. Bei allen teilnehmenden Patienten musste das Fibrosestadium durch eine vorausgegangene Leberpunktion oder im Falle einer Leberzirrhose ggf. auch durch eine Sonographie-/MRT-Untersuchung bestimmt worden sein.

In den bereits zur transienten Elastographie veröffentlichten Studien hatte sich herausgestellt, dass die Messungen bei Patienten mit einem BMI > 27 mit der herkömmlichen Messsonde nur unzureichend oder gar nicht durchführbar waren. Dennoch wurden diese Patienten nicht von der hier vorliegenden Studie ausgeschlossen, da auch bei diesem Patientenkollektiv eine Fibrosebestimmung für Therapieentscheidung und Prognose notwendig ist. Es sollte untersucht werden, ob bei diesen Patienten die Realtime Elastographie zu einer adäquaten nicht-invasiven Messung herangezogen werden kann.

Da in vorausgegangenen Studien ebenfalls festgestellt werden konnte, dass Aszites die Untersuchung sowohl mit der transienten Elastographie als auch mit der Realtime-Elastographie beeinträchtigt, da beide Messmethoden einen engen Kontakt zur Leber voraussetzen, wurden in der hier vorliegenden Studie Patienten ausgeschlossen, bei denen zum Untersuchungszeitpunkt Aszites vorlag. Aszites gehört bereits zu den typischen Zeichen einer Leberzirrhose und kann sonographisch nachgewiesen werden; deshalb ist bei diesen Patienten eine spezielle Fibroseevaluation meist überflüssig.

Allgemein ist zur Durchführung der transienten Elastographie die Anschaffung eines zusätzlichen eigenständigen Gerätes notwendig, die Realtime Elastographie dagegen lässt sich in ein high-end Ultraschallgerät integrieren. Die Fibrosebestimmung mittels Realtime Elastographie kann daher im Rahmen einer Routine-Ultraschalluntersuchung erfolgen, welche bei allen Patienten mit chronischer Lebererkrankung einmal jährlich durchgeführt werden sollte, um unter Anderem den Gefäßstatus zu erheben und Raumforderungen auszuschließen.

5.2 Vergleich der erzielten Ergebnisse mit der bisherigen Studienlage

Die transiente Elastographie sowie der FibroTest® stellen die zur Zeit am Besten evaluierten nicht-invasiven Methoden zur Diagnostik der Leberfibrose dar. Mit der transienten Elastographie konnte in früheren Studien eine signifikante Fibrose mit hoher diagnostischer Genauigkeit erkannt werden. In einer umfangreichen Metaanalyse, die 50 Studien einbezog, betrug die mittlere diagnostische Genauigkeit ausgedrückt als AUROC 0,84 für die Diagnose der signifikanten Fibrose und 0,89 für schwere Fibrose, sowie 0,94 für Leberzirrhose, wobei das Konfidenzintervall jeweils 95% betrug (Friedrich-Rust et al., 2008). Zwei frühere Reviews hatten die hohe Spezifität und Sensivität bzw. diagnostische Genauigkeit der transienten Elastographie bei der nicht-invasiven Fibrosebestimmung bereits aufgezeigt (Shaheen et al., 2007; Talwalkar et al., 2007).

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie gehen bezüglich transienter Elastographie und FibroTest® mit den guten Resultaten der früheren Studien konform. Die transiente Elastographie korrelierte signifikant mit der Histologie ($r = 0,73$; $p < 0,001$). Die diagnostische Genauigkeit (AUROC, area under receiver operating characteristics curve) bezogen auf den Desmet/Scheuer Fibrosescore betrug hier im Mittel 0,84 für signifikante Fibrose ($F \geq 2$), 0,91 für schwere Fibrose ($F \geq 3$) und 0,97 für Leberzirrhose ($F = 4$). Zwischen transienter Elastographie und FibroTest® konnte eine signifikante Korrelation gezeigt werden ($r = 0,54$; $p < 0,001$). Transiente Elastographie und Realtime Elastographie unter Verwendung des Japanese Elasticity Score korrelierten untereinander invers ($r = -0,29$, $p < 0,05$) (Abbildung 15). Dementsprechend konnte auch für den FibroTest® eine inverse Korrelation mit der Realtime Elastographie unter Verwendung des Japanese Elasticity Score ($r = -0,26$, $p < 0,01$) gezeigt werden.

Für den FibroTest® hatten erste Outcome-Studien im Vergleich zur Leberbiopsie bei Hepatitis C Patienten sogar einen vergleichbaren prognostischen Wert für die Voraussage von auf die Lebererkrankung zurückzuführenden Komplikationen sowie die Mortalität gezeigt: Die diagnostische Genauigkeit (ausgedrückt als AUROC) betrug 0,96 für den FibroTest® gegenüber 0,91 ($p = 0,01$) für die Leberbiopsie bezüglich auftretender HCV Komplikationen, sowie 0,96 für den FibroTest® gegenüber 0,87 ($p = 0,046$) für die Leberbiopsie bei Betrachtung der Mortalität (Ngo et al., 2006). In der hier vorliegenden Studie betrug die diagnostische Genauigkeit (AUROC) für den FibroTest® bezogen auf den Desmet/Scheuer Fibrosescore im Mittel 0,87 für signifikante Fibrose ($F \geq 2$), 0,84 für schwere Fibrose ($F \geq 3$) und 0,83 für Leberzirrhose ($F = 4$).

Ergebnisse von Outcome-Studien zur transienten Elastographie liegen derzeit noch nicht vor.

Auch die Realtime Elastographie wurde bereits in zwei Studien zur Detektion der signifikanten Fibrose bzw. der Zirrhose eingesetzt. Dabei kamen zwei unterschiedliche Methoden der Berechnung eines Elastizitätsscores aus den bei der Untersuchung generierten farbcodierten Bildern zur Anwendung: der German Elasticity Score (Friedrich-Rust M et al., 2007) und der Japanese Elasticity Score (Tatsumi et al., 2008). Keine dieser Methoden war jedoch bislang durch die Untersuchung einer unabhängigen Patientengruppe validiert worden. In der hier vorliegenden Studie wurden beide Methoden zur Auswertung herangezogen und die Resultate mit den bereits gut etablierten nicht-invasiven Methoden transiente Elastographie und FibroTest® verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Realtime Elastographie in ihrer aktuellen Form der transienten Elastographie und dem FibroTest® bei der nicht-invasiven Diagnostik der Leberfibrose insgesamt unterlegen ist. Der für Patienten mit Hepatitis C in einer früheren Studie ermittelte German Elasticity Score (Friedrich-Rust et al., 2007) konnte in der hier vorliegenden Untersuchung nicht validiert werden. Die diagnostische Genauigkeit (AUROC) der Realtime Elastographie in Verbindung mit diesem Score betrug in der Studie von Friedrich-Rust et al. 0,75 für die Diagnose der signifikanten Fibrose (Fibrosestadium entsprechend dem METAVIR Score F2), sowie 0,73 für schwere Fibrose (F3) und 0,69 für Leberzirrhose (F4). Der German Elasticity Score war unter Verwendung der schrittweisen multivariaten logistischen Regressionsanalyse entwickelt worden und schloss Variablen mit hoher Interobserver-Reproduzierbarkeit ein. Er wurde zwar zusätzlich für die Studienpopulation optimiert, war aber seitdem noch nicht in einer weiteren, unabhängigen Studienpopulation validiert worden.

Bessere Resultate konnten in der hier vorliegenden Studie unter Verwendung des Japanese Elasticity Scores erzielt werden. In der Publikation von Tatsumi, in welcher dieser Score entwickelt wurde, konnten vergleichbar gute Resultate wie bei Verwendung der transienten Elastographie erzielt werden, es bestand eine negative Korrelation mit $r = -0,587$; $p < 0,05$ (Tatsumi et al., 2008). Eine weitere Untersuchung bestätigte diese gute diagnostische Genauigkeit der Realtime Elastographie bei Hepatitis C Patienten (Tatsumi et al., 2010). In der hier vorliegenden Studie konnten diese hervorragenden Ergebnisse jedoch nicht reproduziert werden. Für die Realtime Elastographie konnte die beste signifikante Korrelation mit der Biopsie anhand des Japanese Elasticity Score mit dem Angular Second Moment (ASM) ermittelt werden ($r = 0,30$; $p > 0,001$). Die diagnostische Genauigkeit (AUROC),

bezogen auf den Desmet/Scheuer Fibrosescore, betrug hier im Mittel 0,71 für signifikante Fibrose ($F \geq 2$), 0,63 für schwere Fibrose ($F \geq 3$) und 0,65 für Leberzirrhose ($F = 4$).

Zwischen FibroTest® und Realtime Elastographie konnte eine signifikante Korrelation unter Verwendung des Japanese Elasticity Score ASM gezeigt werden, sowie eine inverse Korrelation unter Verwendung des Japanese Elasticity Score MEAN ($r = -0,26$, $p < 0,01$).

Darüber hinaus erfolgte in der hier vorliegenden Studie eine Subanalyse der erzielten Ergebnisse im Hinblick auf die unterschiedlichen Grunderkrankungen. In dieser zusätzlichen Auswertung wurden speziell Patienten mit Hepatitis C Virus betrachtet. Dabei konnte keine signifikante Änderung der Korrelation der nicht-invasiven Methoden mit der Histologie festgestellt werden, jedoch zeigte sich bei Patienten mit Hepatitis C die Tendenz zu einer stärkeren inversen Korrelation als im Gesamtkollektiv, was einer tendenziell besseren Übereinstimmung der Realtime Elastographie unter Verwendung des Japanese Elasticity Score mit der Histologie bei diesem Patientenkollektiv entspricht.

Die alleinige Auswertung von Patienten mit Hepatitis C konnte in der vorliegenden Studie die Ergebnisse des bei der Auswertung der Realtime Elastographie verwendeten Elastizitätsscores nicht verbessern. Daher können die verschiedenen Grunderkrankungen der Patienten in der hier vorliegenden Studie die geringe diagnostische Genauigkeit des German Elasticity Score, welche eine Diskrepanz zu den Ergebnissen vorheriger Studien darstellt, nicht erklären. Der German Elasticity Score ist somit in seiner aktuellen Form derzeit nicht zur nicht-invasiven Leberfibrosemessung verwendbar.

Allen untersuchten nicht-invasiven Methoden war gemeinsam, dass bei Patienten mit histologisch nachgewiesener entzündlicher Aktivität insgesamt höhere Messwerte auffielen und damit falsch hohe Fibroestadien diagnostiziert wurden. Bei diesen Patienten fanden sich entsprechend erhöhte Blutspiegel der Alanin-Aminotransferase, sowie entsprechend höhere Werte bei Berechnung des ActiTest® als Parameter zur Darstellung der entzündlichen Aktivität.

Bei Patienten mit akuter Hepatitis oder exazerbierter chronischer Hepatitis und entsprechenden laborchemischen Veränderungen bzw. einem erhöhten ActiTest® ist also zu berücksichtigen, dass die Messwerte der transienter Elastographie und der Realtime Elastographie falsch hoch ausfallen können und damit möglicherweise weniger aussagekräftig bezüglich der Fibrosediagnostik sind. Diesem Phänomen könnte beispielsweise eine Konsistenzveränderung der Leber im Sinne einer Verhärtung durch akute entzündliche

Prozesse im Gewebe mit erhöhter Kapselspannung zu Grunde liegen, aufgrund derer dann höhere Stiffness-Werte bei der Elastographie gemessen werden.

Entsprechend zeigten Coco et al. in einer Studie, dass die transiente Elastographie nur dann als verlässliche Methode zur Fibrosebestimmung bei chronischer Hepatitis anwendbar ist, wenn bei der Auswertung der Untersuchungsergebnisse deutliche Veränderungen der biochemischen Aktivität berücksichtigt werden. In der Studie wurde der Zusammenhang des Alanin-Aminotransferase-Spiegels, des Fibroestadiums und verschiedener nicht-invasiver Fibrosemarker (APRI, Forns Score, FibroTest® und Hyaluronsäure) und der transienten Elastographie untersucht. Die Schwankungen der Serumtransaminasespiegel und der Steifheit des Lebergewebes wurden über einen Zeitraum von 6 Monaten verglichen. Es wurde 8,3 kPa als Cut-off für signifikante Fibrose und 14 kPa als Cut-off für Leberzirrhose festgelegt, wobei die Sensitivitäten jeweils 85,2% bzw. 78,3% und die Spezifitäten 90,7% bzw. 98,2% betragen. Der positive prädiktive Wert betrug 93,9% bzw. 97,8%, der negative prädiktive Wert 78,8% bzw. 81,6%. Die diagnostische Genauigkeit konnte mit 87,3% für signifikante Fibrose und 88,2% für Leberzirrhose angegeben werden. Insgesamt wurden in der Studie mit der transienten Elastographie im Vergleich zu den Fibrosemarkern genauere Untersuchungsergebnisse erzielt ($p < 0,001$). Bei Patienten mit biochemischer Remission, d.h. spontan oder nach antiviraler Therapie normalisierten ALT-Serumspiegeln (48 von 228 Patienten, 21%) war die Lebersteifheit entsprechend signifikant geringer als bei Patienten mit histologisch gleichem Fibroestadium und erhöhtem ALT-Serumspiegel ($p < 0,001$). Die Schwankungen der Lebersteifheit verliefen parallel zu denen des ALT-Serumspiegels und stiegen um das 1,3-3 fache bei 10 Patienten mit exazerbierter Hepatitis. Bei 21 Patienten mit stabiler biochemischer Aktivität dagegen blieb die Lebersteifheit unverändert ($p < 0,001$) (Coco et al., 2007).

Auch Sagir et al. zeigten, dass die transiente Elastographie nicht zur verlässlichen Fibrosebestimmung bei akuter Leberschädigung mit erhöhter Entzündungsaktivität herangezogen werden kann. In ihrer Studie wurden bei 15 von 20 Patienten mit akuter Hepatitis und entsprechend erhöhter entzündlicher Serumaktivität, bei denen in der Leberhistologie (bei 11 der 15 Patienten durchgeführt), sonographisch und klinisch keine Zirrhosezeichen vorlagen, mittels transienter Elastographie eine Leberzirrhose und damit ein falsch hohes Fibroestadium diagnostiziert. Ein signifikanter Unterschied wurde hierbei bezüglich der initialen Bilirubinwerte (5,8 +/- 6,5 mg/dl vs. 15,7 +/- 11,8 mg/dl; $p = 0,042$) und des Alters (32,4 +/- 17,5 Jahre vs. 49,7 +/- 15,8 Jahre; $p = 0,042$) zwischen Patienten mit Lebersteifheit von weniger bzw. mehr als 12,5 kPa beobachtet. Bei später durchgeführten

Folgeuntersuchungen von 6 dieser Patienten wurden dann nach Abklingen der akuten hepatischen Phase entsprechend durchgehend niedrigere Messwerte mittels transientser Elastographie erhoben, die sich alle unter dem Cut-Off Wert für Leberzirrhose befanden (Sagir et al., 2008).

Poynard et al. konnten in einer Metaanalyse nachweisen, dass der FibroTest® eine effektive Alternative zur Leberbiopsie bei Patienten mit chronischer viraler Hepatitis B und C, bei nicht-alkoholbedingter Steatosis hepatis und bei alkoholbedingter Lebererkrankung darstellt. Dabei wurden hinsichtlich der diagnostischen Genauigkeit bei mittlerer und schwerer Fibrose ähnlich gute Resultate erzielt. In der Metaanalyse wurden 30 Studien begutachtet, bei denen insgesamt 6378 Patienten sowohl eine Leberbiopsie als auch eine FibroTest®-Bestimmung erhalten hatten. Die mittlere standardisierte AUROC betrug 0,84 (95% Konfidenzintervall, 0,83-0,86); die Ätiologie der Lebererkrankung hatte bei der Analyse keinen Einfluss auf die Ergebnisse. Bezüglich der verschiedenen Fibroteststadien gab es keine wesentlichen Unterschiede zwischen den erzielten diagnostischen Genauigkeiten (Poynard et al., 2007b).

5.3 Grenzen der Leberbiopsie

Fast alle bisher publizierten Studien, die nicht-invasive Methoden zur Diagnostik der Leberfibrose untersuchten, orientierten sich an der Leberbiopsie als Goldstandard. Doch auch für die Leberbiopsie und die histologische Analyse der Biopsate wurden Intra- und Interobservervariabilitäten festgestellt, die sich mindernd auf Spezifität und Sensitivität der Methode auswirken können. Mehta et al. konnten in einer Studie zeigen, dass eine verminderte Sensitivität und Spezifität der Leberbiopsie dazu führen können, dass die korrekte Evaluation nicht-invasiver Untersuchungsmethoden erschwert oder gar verfälscht wird. Mehta et al. fordern als Ergebnis ihrer Studie einen neuen Goldstandard zur Evaluation der nicht-invasiven Methoden, da im Falle einer geringeren Spezifität und Sensitivität der Leberbiopsie als Goldstandardmethode auch für einen Fibrosemarker, der den Schweregrad der Erkrankung perfekt misst, eine diagnostische Genauigkeit > 90% nicht erreicht werden kann (Mehta et al., 2009)

5.4 Vergleich von transienter Elastographie und Realtime Elastographie bei verschiedenen Patientenkollektiven

In der vorliegenden Studie konnte im Patientengesamtkollektiv sowohl für die transiente Elastographie als auch für die Realtime Elastographie (unter Verwendung des Japanese Elasticity Score) eine signifikante Korrelation mit dem Desmet/Scheuer Fibrosescore gezeigt werden.

Die höchste diagnostische Genauigkeit für die nicht-invasive Fibrosemessung wurde hierbei durch die Untersuchung mit der transienten Elastographie erzielt; die AUROC Werte für die Diagnostik der signifikanten Fibrose und der Zirrhose zeigten eine signifikant höhere diagnostische Genauigkeit als bei Verwendung der Realtime Elastographie (*Tabelle 3, Abbildung 14*).

Das bessere Ergebnis der transienten Elastographie im Gesamtkollektiv hängt möglicherweise mit der verwendeten Technik zusammen.

Bei der transienten Elastographie mit dem FibroScan® wird eine Vibration in die Leber fortgeleitet und die Geschwindigkeit der sich ausbreitenden Welle im Gewebe gemessen. Für diese Methode wurde bereits eine ausgezeichnete Intra- und Interobserver-Reproduzierbarkeit gezeigt (Fraquelli et al., 2007). Die Messung des FibroScan® basiert auf der Analyse der Ausbreitungsgeschwindigkeit einer das Lebergewebe durchlaufenden Welle, die durch einen standardisierten Impuls zustande kommt und eine standardisierte Strecke zurücklegt. Die kleine Sonde des Gerätes ermöglicht eine rein interkostale Messung ohne Kompression der Rippen, was die transiente Elastographie hier im Vergleich zur Realtime Elastographie zu einer weniger fehleranfälligen Methode macht.

Bei Untersuchung mittels Realtime Elastographie, welche die Elastizität des Gewebes durch Kompression prüft, kommt es dagegen immer auch zu einer leichten Kompression der Rippen, da bisher keine Sonde verfügbar ist, deren Größe eine rein interkostale Messung ermöglicht.

Die Realtime Elastographie bestimmt in jedem Messfeld (ROI, region of interest) den jeweils relativ weichsten bzw. härtesten Gewebeanteil. In einer fibrosierten Leber liegt typischerweise ein diffuses Gewebebild vor. Das Prinzip der Realtime Elastographie basiert auf der Ausgangstheorie, dass es sich bei den festen Gewebeanteilen innerhalb einer ROI um

fibrotische Areale handelt, während weiche Gewebeanteile gesundes Leberparenchym repräsentieren. Die Komprimierbarkeit des Gewebes wird unter Ausübung eines bestimmten Kompressionsdruckes gemessen, und danach die Verteilung von festem und weichem Gewebe innerhalb des jeweiligen ROI errechnet. In der hier vorliegenden Studie ist diese Methode mit hoher Variabilität assoziiert, was möglicherweise durch eine homogenere Verteilung des fibrotischen Gewebes in der Leber und damit durch das Fehlen von gesundem Referenzgewebe in der ROI bedingt sein kann. Damit deckt sich die Beobachtung, dass bei Verwendung des Angular Second Moment (ASM), welches die Homogenität eines Bildes misst, eine bessere Korrelation mit histologisch nachgewiesener Leberfibrose ermittelt werden konnte als bei Verwendung der mittleren Elastizität (MEAN).

Wie bereits im Vorfeld von anderen Autoren diskutiert, könnte die Qualität der Elastizitätsmessung mit der Realtime Elastographie verbessert werden, indem umgebendes nicht-hepatisches Gewebe als weiches Referenzgewebe in die Messung einbezogen wird (Saftoiu et al., 2007). Hier sind weitere Studien zur genaueren Evaluation erforderlich, wobei in der Umgebung der Leber nur ventral gelegenes Referenzgewebe wie beispielsweise subkutanes Gewebe in Frage kommt, was bei der Messung jedoch zu Artefakten in den dorsalen Anteilen des Lebergewebes führen kann. In einer dazu publizierten Studie wird die Verwendung des rechten Astes der Portalvene als weiches Referenzgewebe vorgeschlagen (Gulizia et al., 2008), wozu entsprechende Untersuchungsergebnisse jedoch bisher noch fehlen.

Mit beiden nicht-invasiven Untersuchungsmethoden können zwar im Vergleich zur Biopsie größere Anteile der Leber untersucht und Messungen an verschiedenen Loci durchgeführt werden, allerdings ist eine Evaluation der ganzen Leber schwierig. Mit der transienten Elastographie können Messungen fast ausschließlich am rechten Leberlappen durchgeführt werden. Auch mit der Realtime Elastographie sind Messungen von ventral nicht in allen Fällen möglich, da der linke Leberlappen sonographisch nicht immer erreichbar ist. Dennoch sind die Messareale in der Leber mit dieser Methode gezielter auswählbar und es kann somit möglicherweise eine größere Anzahl von Leberarealen untersucht werden als mit der transienten Elastographie. Um diesen Vorteil zu nutzen, muss, wie oben beschrieben, die Methode noch weiter optimiert werden. Eine akut erhöhte entzündliche Aktivität im Lebergewebe ist zu berücksichtigen, da in dieser Situation mit beiden Elastographiemethoden falsch hohe Fibrosewerte gemessen werden können.

Das Vorliegen einer Steatosis bzw. der Grad der Leberverfettung hatte in der vorliegenden Studie keinen Einfluss auf das Ergebnis der Elastizitätsmessung; dies deckt sich mit bereits veröffentlichten Studienergebnisse zur transienten Elastographie (Nahon et al., 2008).

Wie auch schon in früher veröffentlichten Studien konnten jedoch bei adipösen Patienten mit BMI > 27 nicht genügend valide Messungen mit der herkömmlichen Messsonde der transienten Elastographie durchgeführt werden; die erforderliche Erfolgsrate (success rate) von 60% wurde bei diesem Patientenkollektiv nicht erzielt.

Die Firma Echosens entwickelte daher bereits eine Sonde für adipöse bzw. sehr muskulöse Patienten, um diese Einschränkung der diagnostischen Möglichkeiten bei Untersuchungen mittels transienter Elastographie in Zukunft zu vermeiden. Es wird angenommen, dass die Fehlermessung bei Patienten mit BMI > 27 mit der Dicke des subkutanen Fettgewebes bzw. der Muskulatur zusammenhängt, da die Messung bereits in einer Tiefe von 2,5 cm unterhalb der Haut beginnt und das Signal bis insgesamt 6,5 cm in das Gewebe eindringt. Die neue Sonde hingegen beginnt die Messung erst in einer Tiefe von 3,5 - 7,5 cm und soll damit den Störfaktor des dickeren subkutanen Fettgewebes bei Adipositas bzw. der dickeren Muskelschicht bei sehr muskulösen Patienten umgehen, um akkurate Messungen mittels transienter Elastographie auch bei Patienten mit BMI > 27 ermöglichen. De Ledinghen et al. konnten mit dieser neuen sogenannten XL Sonde in einer Studie bereits eine höhere Anzahl gültiger Messungen bei adipösen Patienten erzielen als mit der herkömmlichen Sonde (De Ledinghen et al., 2010); eine Studie von Friedrich-Rust et al. konnte dieses Ergebnis bei Patienten mit NASH bestätigen (Friedrich-Rust et al., 2010). Weitere Studien zur Evaluation der neuen XL Sonde sind zu erwarten.

Im Vergleich zur transienten Elastographie konnten mit der Realtime Elastographie bei allen Patienten unabhängig vom BMI verwertbare Untersuchungsdaten erhoben werden.

5.5 Limitationen der Studie

Eine gewisse Limitation der Datenanalyse der hier vorliegenden Studie besteht darin, dass auch Leberbiopsien eingeschlossen wurden, welche eine Länge unterhalb des allgemeinen Standards von 15mm aufwiesen, sofern sie mindestens 6 Portalfelder beinhalteten. In einer

zusätzlichen Auswertung konnte jedoch gezeigt werden, dass der Ausschluss dieser kürzeren Biopsien keine signifikante Auswirkung auf die Ergebnisse hatte. Des Weiteren bestanden bei der Mehrheit der Patienten mit Leberzirrhose klinisch offensichtliche Zirrhosezeichen, weshalb bei diesen Patienten ganz auf eine Biopsie verzichtet wurde. Die hier vorliegende Studie unternimmt jedoch einen Vergleich der verschiedenen nicht-invasiven Methoden zur Leberfibrosebestimmung, wobei der Einschluss von Patienten mit nachgewiesener Leberzirrhose alle Methoden gleich weit betraf.

5.6 Schlussfolgerung

Die Realtime Elastographie ist in ihrer aktuellen Form der transienten Elastographie bei der Beurteilung des Leberfibrosestadiums unterlegen und kann sie nicht ersetzen.

Beide Methoden weisen bezüglich der Durchführung und der diagnostischen Genauigkeiten bei verschiedenen Patientenkollektiven sowohl Vor- als auch Nachteile auf.

Die transiente Elastographie zeichnet sich im Gesamtkollektiv durch eine höhere diagnostische Genauigkeit gegenüber der Realtime Elastographie aus. Bei Patienten mit einem BMI > 27 können jedoch mit der herkömmlichen Messsonde oftmals keine valide Untersuchungsdaten erhoben werden. Ob die von der Firma Echosens, Paris für adipösere Patienten entwickelte neuartige FibroScan® XL Sonde hier zuverlässig Abhilfe schaffen kann, muss noch in entsprechenden Studien evaluiert werden.

Die Realtime Elastographie erwies sich zur Leberfibrosebestimmung bisher stets weniger geeignet als beispielsweise zur Detektion und Analyse solider Tumore, die sich innerhalb einer ROI durch die homogene festere Gewebebeschaffenheit gut vom ebenfalls homogenen weicheren umgebenden Gewebe abgrenzen ließen. In den ursprünglich zur Realtime Elastographie veröffentlichten Studien wurde die Methode zur Evaluation von sonographisch abgrenzbaren Tumoren eingesetzt; hierbei ergaben sich dementsprechend hervorragende Ergebnisse mit höherer Reproduzierbarkeit der Messwerte. So wurde die Realtime Elastographie bei der Detektion und Differenzierung von Läsionen der Mamma (Liu et al., 2008), der Schilddrüse (Asteria et al., 2008) sowie der Prostata (Konig et al., 2005) erprobt, wobei es darum ging, durch Messung der Gewebeelastizität zwischen einem soliden festen Tumorgewebe und dem umgebenden weichen Referenzgewebe zu unterscheiden.

Messfehler durch die zu diffuse Verteilung der fibrotischen Areale bei fehlendem gesunden Referenzgewebe limitieren gegenwärtig die diagnostische Genauigkeit der Realtime Elastographie im Vergleich zur transienten Elastographie. Für die Realtime Elastographie sind also technische Verbesserungen und weitere Studien sowohl zur Berechnung der Elastizitäts-Scores als auch zur Optimierung der verwendeten Untersuchungsmethodik notwendig. Ein Vorteil der Realtime Elastographie besteht darin, dass sie sich in ein high-end Sonographiegerät integrieren lässt und die Leberfibrosemessung damit im Rahmen einer Routine-Ultraschalluntersuchung im gleichen Untersuchungsgang durchführbar ist.

In ihrer aktuellen Form kann die Methode jedoch nicht zur nicht-invasiven Fibrosediagnostik verwendet werden. Für die Zukunft werden weitere Studien zur Optimierung der Realtime Elastographie bei der Leberdiagnostik erwartet.

Eine sinnvolle Ergänzung der Leberbiopsie als invasive Goldstandard-Methode durch die nicht-invasive Fibroseevaluation ist beispielsweise zur Verlaufskontrolle der Erkrankung bereits möglich. Besonders aussagekräftig ist eine Kombination von sonographiebasierter Elastizitätsmessung und Fibrosemarkern. Weitere Evaluationen der nicht-invasiven Fibrosediagnostik sollen für Patienten mit chronischer Lebererkrankung zukünftig eine schonende, zuverlässige und reproduzierbare Bestimmung des Fibrorestadiums ermöglichen.

5.7 Ausblick

Bereits heute können die in dieser Studie geprüften nicht-invasiven Methoden zur Leberfibrosediagnostik sinnvoll eingesetzt werden, beispielsweise zur Verlaufskontrolle der Erkrankung. Bei Kontraindikationen bezüglich der Leberbiopsie kann alternativ eine nicht-invasive Fibrosebestimmung mit den hier evaluierten Messmethoden erwogen werden. Zukünftig sind weitere Studien notwendig, um die diagnostische Genauigkeit der Methoden zu verbessern, damit Patienten mit chronischer Lebererkrankung von zuverlässigen und schonenden diagnostischen Methoden profitieren können. Insbesondere die Kombination von unterschiedlichen nicht-invasiven Verfahren erscheint dazu vielversprechend. Bedingt durch das Fehlen einer perfekten Referenzmethode und den Limitationen der Leberbiopsie werden Outcome-Studien erwartet, die beispielsweise die 5 Jahres Morbidität und Mortalität bezogen auf die Lebererkrankung beurteilen. Dies ist für eine sichere Aussage bezüglich der Qualität der nicht-invasiven Verfahren und für einen Vergleich mit der Leberbiopsie notwendig.

Möglicherweise haben sowohl die invasiven als auch die nicht-invasiven Verfahren ihren Stellenwert. Zu erwarten ist, dass die Zahl der insgesamt erforderlichen Leberbiopsien durch die Weiterentwicklung der nicht-invasiven Methoden zur Leberfibrosediagnostik zurückgehen wird.

6 Literaturverzeichnis

1. Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, Poulsen HE, Scheuer PJ, Sobin LH (1978) The morphology of cirrhosis. Recommendations on definition, nomenclature, and classification by a working group sponsored by the World Health Organization. *J Clin Pathol* 31:395-414
2. Aoki Y, Hirai K, Tanikawa K (1993) Mechanism of thrombocytopenia in liver cirrhosis: kinetics of indium-111 tropolone labelled platelets. *Eur J Nucl Med* 20:123-129
3. Asteria C, Giovanardi A, Pizzocaro A, Cozzaglio L, Morabito A, Somalvico F, Zoppo A (2008) US-elastography in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. *Thyroid* 18:523-531
4. Aube C, Oberti F, Korali N, Namour MA, Loisel D, Tanguy JY, Valsesia E, Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, Rifflet H, Maiga MY, Penneau-Fontbonne D, Caron C, Cales P (1999) Ultrasonographic diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *J Hepatol* 30:472-478
5. Bailly F (2004) Severe hepatopathies in HIV patients. Assessment of fibrosis: hepatic biopsy, Fibrotest. *Med Mal Infect* 34 Spec No 2:4-6
6. Bedossa P, Poynard T, Naveau S, Martin ED, Agostini H, Chaput JC (1988) Observer variation in assessment of liver biopsies of alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res* 12:173-178
7. Bedossa P, Poynard T, Mathurin P, Lemaigre G, Chaput JC (1993) Transforming growth factor beta 1: in situ expression in the liver of patients with chronic hepatitis C treated with alpha interferon. *Gut* 34:146-147
8. Bedossa P, Poynard T (1996) An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 24:289-293
9. Bedossa P, Dargere D, Paradise V (2003) Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 38:1449-1457
10. Benyon RC, Iredale JP, Goddard S, Winwood PJ, Arthur MJ (1996) Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 is increased in fibrotic human liver. *Gastroenterology* 110:821-831
11. Benyon RC, Iredale JP (2000) Is liver fibrosis reversible? *Gut* 46:443-446
12. Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF (2000) Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med* 342:1350-1358
13. Boeker KH, Haberkorn CI, Michels D, Flemming P, Manns MP, Lichtinghagen R (2002) Diagnostic potential of circulating TIMP-1 and MMP-2 as markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chim Acta* 316:71-81

14. Bosch J, Mastai R, Kravetz D, Navasa M, Rodes J (1986) Hemodynamic evaluation of the patient with portal hypertension. *Semin Liver Dis* 6:309-317
15. Brailion A (2004) Fibrotest and development of public research. *Gastroenterol Clin Biol* 28:929
16. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S (2001) Liver biopsy. *N Engl J Med* 344:495-500
17. Brenner DA, Waterboer T, Choi SK, Lindquist JN, Stefanovic B, Burchardt E, Yamauchi M, Gillan A, Rippe RA (2000) New aspects of hepatic fibrosis. *J Hepatol* 32:32-38
18. Cadranel JF, Rufat P, Degos F (2000) Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEFL). *Hepatology* 32:477-481
19. Caruntu FA, Benea L (2006) Spontaneous bacterial peritonitis: pathogenesis, diagnosis, treatment. *J Gastrointest Liver Dis* 15:51-56
20. Castera L, Negre I, Samii K, Buffet C (1999) Pain experienced during percutaneous liver biopsy. *Hepatology* 30:1529-1530
21. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, De Ledinghen V (2005) Prospective comparison of transient elastography, fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 128:343-350
22. Castera L, Foucher J, Bertet J, Couzigou P, De Ledinghen V (2006) FibroScan and FibroTest to assess liver fibrosis in HCV with normal aminotransferases. *Hepatology* 43:373-374
23. Caulet S, Fabre M, Schoevaert D, Lesty C, Meduri G, Martin E (1989) Quantitative study of centrilobular hepatic fibrosis in alcoholic disease before cirrhosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 416:11-17
24. Cespedes EL, Ophir J (1993) Reduction of image noise in elastography. *Ultrason Imag* 15:73-88
25. Chander G, Sulkowski MS, Jenckes MW, Torbenson MS, Herlong HF, Bass EB, Gebo KA (2002) Treatment of chronic hepatitis C: a systematic review. *Hepatology* 36:135-144
26. Coco B, Oliveri F, Maina AM, Ciccorossi P, Sacco R, Colombatto P, Bonino F, Brunetto MR (2007) Transient elastography: a new surrogate marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases. *J Viral Hepat* 14:360-369
27. Conn HO (1991) Liver biopsy: increased risks in patients with cancer. *Hepatology* 14:206-209
28. Corpechot C, El Naggar A, Poujol-Robert A, Ziol M, Wendum D, Chazouilleres O, De Ledinghen V, Dhumeaux D, Marcellin P, Beaugrand M, Poupon R (2006) Assessment of biliary fibrosis by transient elastography in patients with PBC and PSC. *Hepatology* 43:1118-1124

29. De Ledinghen V, Vergniol J, Foucher J, El-Hajbi F, Merrouche W, Rigalleau V (2010) Feasibility of liver transient elastography with FibroScan using a new probe for obese patients. *Liver Int* 30:1043-1048
30. De Franchis R, Primignani M (2001) Natural history of portal hypertension in patients with cirrhosis. *Clin Liver Dis* 5:645-663
31. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ (1994) Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 19:1513-1520
32. Deuffic S, Poynard T, Valleron AJ (1999) Correlation between hepatitis C virus prevalence and hepatocellular carcinoma mortality in Europe. *J Viral Hepat* 6:411-413
33. Di Marco V, Lo IO, Camma C, Vaccaro A, Giunta M, Martorana G, Fuschi P, Almasio PL, Craxi A (1999) The long-term course of chronic hepatitis B. *Hepatology* 30:257-264
34. Dietrichson O (1975) Chronic persistent hepatitis. A clinical, serological, and prognostic study. *Scand J Gastroenterol* 10:249-255
35. Fauerholdt L, Schlichting P, Christensen E, Poulsen H, Tygstrup N, Juhl E (1983) Conversion of micronodular cirrhosis into macronodular cirrhosis. *Hepatology* 3:928-931
36. Ferard G, Piton A, Messous D, Imbert-Bismut F, Frairi A, Poynard T, Lessinger JM (2006) Intermethod calibration of alanine aminotransferase (ALT) and gamma-glutamyltransferase (GGT) results: application to Fibrotest and Actitest scores. *Clin Chem Lab Med* 44:400-406
37. Fleig WE, Krummener P, Lesske J (2004a) Criteria for the definition of acute and chronic hepatitis C. *Z Gastroenterol* 42:707-713
38. Fleig WE, Krummenerl P, Lesske J, Dienes HP, Zeuzem S, Schmiegel WH, Häussinger D, Burdelski M, Manns MP (2004b) Diagnosis, progression and therapy of hepatitis C virus infection as well as viral infection in children and adolescents--results of an evidenced based consensus conference of the German Society for Alimentary Metabolic Disorders and in cooperation with the Hepatitis Competence Network. *Z Gastroenterol* 42:703-704
39. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, Bruguera M, Sanchez-Tapias JM, Rodes J (2002) Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 36:986-992
40. Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castera L, Le Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P, De Ledinghen V (2006) Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (Fibroscan): a prospective study. *Gut* 55:403-408
41. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Conte D, Donato MF, Ronchi G, Colombo M (2007) Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut* 56:968-973

42. Frey H (2003) Realtime-elastography. A new ultrasound procedure for the reconstruction of tissue elasticity. *Radiologe* 43:850-855
43. Friedman SL (2000) Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 275:2247-2250
44. Friedrich-Rust M, Ong MF, Herrmann E, Dries V, Samaras P, Remberger K, Zeuzem S, Sarrazin C (2007) Realtime-Elastography for non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic viral hepatitis. *Am J Roentgenol* 188:758-764
45. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, Herrmann E (2008) Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology* 134:960-974
46. Friedrich-Rust M, Hadji-Hosseini H, Kriener S, Herrmann E, Sircar I, Kau A, Zeuzem S, Bojunga J (2010) Transient elastography with a new probe for obese patients for non-invasive staging of non-alcoholic steatohepatitis. *Eur Radiol.* 2010 Jun 6, Epub
47. Giuseppetti GM, Martegani A, Di Cioccio B, Baldassarre S (2005) Elastosonography in the diagnosis of the nodular breast lesions: preliminary report. *Radiol Med* 110:69-76
48. Gonzalez M, Acuna R, Reyes H, Arancibia F, Carvajal C, Donoso S (1993) Congenital hepatic fibrosis: an uncommon cause of portal hypertension. *Rev Med Chil* 121:791-794
49. Gordon SC, Veneri RJ, McFadden RF, Reddy KR, Schiff ER (1991) Major hemorrhage after percutaneous liver biopsy in patients with AIDS. *Gastroenterology* 100:1787
50. Grant A, Neuberger J (1999) Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. *British Society of Gastroenterology. Gut* 45 Suppl 4:IV1-IV11
51. Gressner AM (1996) Mediators of hepatic fibrogenesis. *Hepatogastroenterology* 43:92-103
52. Groupe Metavir (1994) Which classification for chronic hepatitis? Lessons from the hepatitis C virus. *Gastroenterol Clin Biol* 18:403-406
53. Gulizia R, Ferraioli G, Filice C (2008) Open questions in the assessment of liver fibrosis using real-time elastography. *AJR Am J Roentgenol* 190:370-371
54. Halfon P, Imbert-Bismut F, Messous D, Antoniotti G, Benchetrit D, Cart-Lamy P, Delaporte G, Doutheau D, Klump T, Sala M, Thibaud D, Trepo E, Thabut D, Myers RP, Poynard T (2002) A prospective assessment of the inter-laboratory variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest) in patients with chronic liver disease. *Comp Hepatol* 1:3
55. Halfon P, Ouzan D, Cattan L, Cacoub P (2004) The prognostic tools of hepatitis C virus infections. *Presse Med* 33:542-543
56. Halfon P, Bourliere M, Deydier R, Botta-Fridlund D, Renou C, Tran A, Portal I, Allemand I, Bertrand JJ, Rosenthal-Allieri A, Rotily M, Sattonet C, Benderitter T,

- Saint Paul MC, Bonnot HP, Penaranda G, Degott C, Masseyeff MF, Ouzan D (2006) Independent prospective multicenter validation of biochemical markers (fibrotest-actitest) for the prediction of liver fibrosis and activity in patients with chronic hepatitis C: the fibropaca study. *Am J Gastroenterol* 101:547-555
57. Harbin WP, Robert NJ, Ferrucci JT, Jr (1980) Diagnosis of cirrhosis based on regional changes in hepatic morphology: a radiological and pathological analysis. *Radiology* 135:273-283
 58. Hederstrom E, Forsberg L, Floren CH, Prytz H (1989) Liver biopsy complications monitored by ultrasound. *J Hepatol* 8:94-98
 59. Heintges T, Mohr L, Niederau C, Strohmeyer G (1995) Diagnose und Therapie der autoimmunen Hepatitis. *Z Gastroenterol* 33:462-467
 60. Hosking SW, Smart HL, Johnson AG, Triger DR. (1989) Anorectal varices, haemorrhoids, and portal hypertension. *Lancet* 1:349-352
 61. Huber M, Schwarz W, Vogl T, Zeuzem S (2001) Clinical aspects of liver cirrhoses and its complications and diagnostic problems. *Radiologe* 41:840-851
 62. Hussain HK, Nghiem HV (2002) Imaging of hepatic transplantation. *Clin Liver Dis* 6:247-70
 63. Imbert-Bismut F, Messous D, Thibault V, Myers RB, Piton A, Thabut D, Devers L, Hainque B, Mercadier A, Poynard T (2004) Intra-laboratory analytical variability of biochemical markers of fibrosis (Fibrotest) and activity (Actitest) and reference ranges in healthy blood donors. *Clin Chem Lab Med* 42:323-333
 64. Iredale JP, Goddard S, Murphy G, Benyon RC, Arthur MJ (1995) Tissue inhibitor of metalloproteinase-I and interstitial collagenase expression in autoimmune chronic active hepatitis and activated human hepatic lipocytes. *Clin Sci (Lond)* 89:75-81
 65. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RN (1995) Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 22:696-699
 66. Jalan R, Hayes PC (2000) UK guidelines on the management of variceal haemorrhage in cirrhotic patients. *British Society of Gastroenterology. Gut* 46 Suppl 3-4:III1-III15
 67. Kaczynski J, Hansson G, Wallerstedt S (2005) Clinical features in hepatocellular carcinoma and the impact of autopsy on diagnosis. A study of 530 cases from a low-endemicity area. *Hepatogastroenterology* 52:1798-1802
 68. Kanzler S, Baumann M, Schirmacher P, Dries V, Bayer E, Gerken G, Dienes HP, Lohse AW (2001) Prediction of progressive liver fibrosis in hepatitis C infection by serum and tissue levels of transforming growth factor-beta. *J Viral Hepat* 8:430-437
 69. Kaplan DE, Reddy KR (2003) Rising incidence of hepatocellular carcinoma: the role of hepatitis B and C; the impact on transplantation and outcomes. *Clin Liver Dis* 7:683-714

70. Knoop M, Lusebrink R, Langrehr JM, König V, Berg T, Wedell A, Hopf U, Neuhaus P (1994) Incidence and clinical relevance of recurrent hepatitis C infection after orthotopic liver transplantation. *Transpl Int* 7 Suppl 1:221-223
71. Knoop M, Bechstein WO, Blumhardt G, Langrehr JM, Berg T, König V, Wedell A, Hopf U, Neuhaus P (1995) Recurrent hepatitis C infection after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 27:1208-1210
72. König K, Scheipers U, Pesavento A, Lorenz A, Ermert H, Senge T (2005) Initial experiences with real-time elastography guided biopsies of the prostate. *J Urol* 174:1-115
73. Konofagou E, Ophir J (1998) A new elastographic method for estimation and imaging of lateral displacements, lateral strains, corrected axial strains and poisson's ratios in tissues. *Ultrasound Med Biol* 24:1183-1199
74. Krouskop TA, Wheeler TM, Kallel F, Garra BS, Hall T (1998) Elastic moduli of breast and prostate tissue under compression. *Ultrason Imaging* 20:260-274
75. Le CS, Thabut D, Messous D, Munteanu M, Ratziu V, Imbert-Bismut F, Poynard T (2004) The predictive value of Fibrotest vs. APRI for the diagnosis of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 39:862-863
76. Lefkowitz JH (1982) Primary sclerosing cholangitis. *Arch Intern Med* 142:1157-1160
77. Liu H, Jiang YX, Liu JB, Zhu QL, Sun Q (2008) Evaluation of breast lesions with contrast-enhanced ultrasound using the microvascular imaging technique: initial observations. *Breast* 17:532-539
78. Lorenz A, Ermert H, Sommerfeld HJ, Garcia-Schürmann M, Senge T, Philippou S. (2000) Ultraschall Elastographie der Prostata. *Ultraschall Med* 21:8-15
79. Lyshchik A, Higashi T, Asato R, Tanaka S, Ito J, Mai JJ, Pellot-Barakat C, Insana MF, Brill AB, Saga T, Hiraoka M, Togashi K (2005) Thyroid gland tumor diagnosis at US Elastography. *Radiology* 237:202-211
80. Macedo G, Costa MJ, Gomes A, Ribeiro LM, Carneiro F, Teixeira A, Tome RA (2000) Hepatitis C virus infection and liver transplantation. *Transplant Proc* 32:2667
81. Maharaj B, Maharaj RJ, Leary WP, Cooppan RM, Naran AD, Pirie D (1986) Sampling variability and its influence on the diagnostic yield of percutaneous needle biopsies of the liver. *Lancet* 1:523-525
82. Mammen EF (1994) Coagulation defects in liver disease. *Med Clin North Am* 78:545-554
83. Marinos G, Rossol S, Carucci P, Wong PY, Donaldson P, Hussain MJ, Vergani D, Portmann BC, Williams R, Naoumov NV (2000) Immunopathogenesis of hepatitis B virus recurrence after liver transplantation. *Transplantation* 69:559-568
84. Mathurin P, Duchatelle V, Ramond MJ, Degott C, Bedossa P, Erlinger S, Benhamou JP, Chaput JC, Rueff B, Poynard T (1996) Survival and prognostic factors in patients

- with severe alcoholic hepatitis treated with prednisolone. *Gastroenterology* 110:1847-1853
85. McGill DB, Rakela J, Zinsmeister AR, Ott BJ (1990) A 21-year experience with major hemorrhage after percutaneous liver biopsy. *Gastroenterology* 99:1396-1400
 86. McHutchison JG, Blatt LM, de MM, Craig JR, Conrad A, Schiff ER, Tong MJ. (2000) Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. Consensus Interferon Study Group. *J Gastroenterol Hepatol* 15:945-951
 87. Mehta SH, Lau B, Afdhal NH, Thomas DL (2009) Exceeding the limits of liver histology markers. *J Hepatol* 50:36-41
 88. Minuk GY, Sutherland LR, Wiseman DA, MacDonald FR, Ding DL (1987) Prospective study of the incidence of ultrasound-detected intrahepatic and subcapsular hematomas in patients randomized to 6 or 24 hours of bed rest after percutaneous liver biopsy. *Gastroenterology* 92:290-293
 89. Morgan MY, Sherlock S, Scheuer PJ (1978) Portal fibrosis in the livers of alcoholic patients. *Gut* 19:1015-1021
 90. Murawaki Y, Ikuta Y, Okamoto K, Koda M, Kawasaki H (1999) Serum matrix metalloproteinase-3 (stromelysin-1) concentration in patients with chronic liver disease. *J Hepatol* 31:474-481
 91. Myers RP, Patel K, Pianko S, Poynard T, McHutchison JG (2003) The rate of fibrosis progression is an independent predictor of the response to antiviral therapy in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 10:16-22
 92. Nahon P, Kettaneh A, Tengher-Barna I, Zioli M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Ganne-Carrié N, Trinchet JC, Beaugrand M (2008) Assessment of liver fibrosis using transient elastography in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol* 49:1062-1068
 93. National Institutes of Health Consensus Development (2002) Conference Statement: Management of hepatitis C. *Hepatology* 36:3-20
 94. Nelson DR, Gonzalez-Peralta RP, Qian K, Xu Y, Marousis CG, Davis GL, Lau JY (1997) Transforming growth factor-beta 1 in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 4:29-35
 95. Ngo Y, Munteanu M, Messous D, Charlotte F, Imbert-Bismut F, Thabut D, Lebray P, Thibault V, Benhamou Y, Moussalli J, Ratziu V, Poynard T (2006) A Prospective Analysis of the Prognostic Value of Biomarkers (FibroTest) in Patients with Chronic Hepatitis C. *Clin Chem* 52:1887-1896
 96. Nojgaard C, Johansen JS, Christensen E, Skovgaard LT, Price PA, Becker U (2003) Serum levels of YKL-40 and PIIINP as prognostic markers in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol* 39:179-186
 97. Nonomura A, Hayashi M, Takayanagi N, Watanabe K, Ohta G (1986) Correlation of morphologic subtypes of liver cirrhosis with excess alcohol intake, HBV infections,

- age at death, and hepatocellular carcinoma. A study on 234 autopsy cases in Japan. *Acta Pathol Jpn* 36:631-640
98. Nozoe T, Matsumata T, Sugimachi K (2002) Clinical impact of patients with ruptured esophageal varices with death outcome. *Hepatogastroenterology* 49:185-187
 99. Ophir J, Cespedes I, Ponnekanti H, Yazdi Y, Li X (1991) Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason Imag* 13:111-114
 100. Ozdogan M, Ozgur O, Boyacioglu S, Coskun M, Kart H, Ozdal S, Telatar H (1996) Percutaneous liver biopsy complications in patients with chronic renal failure. *Nephron* 74:442-443
 101. Patch D, Sabin CA, Goulis J, Gerunda G, Greenslade L, Merkel C, Burroughs AK (2002) A randomized, controlled trial of medical therapy versus endoscopic ligation for the prevention of variceal rebleeding in patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 123:1013-1019
 102. Patel K, Lajoie A, Heaton S, Pianko S, Behling CA, Bylund D, Pockros PJ, Blatt LM, Conrad A, McHutchison JG (2003) Clinical use of hyaluronic acid as a predictor of fibrosis change in hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 18:253-257
 103. Payen JL, Combis JM (2004) Fibrotest: Epistemological evolution and ethical breakthrough. *Gastroenterol Clin Biol* 28:460-461
 104. Peters H, Noble NA, Border WA (1997) Transforming growth factor-beta in human glomerular injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 6:389-393
 105. Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G (1986) Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. *J Hepatol* 2:165-173
 106. Pinzani M, Rombouts K (2004) Liver fibrosis: from the bench to clinical targets. *Dig Liver Dis* 36:231-242
 107. Powell LW, Subramaniam VN, Yapp TR (2000) Haemochromatosis in the new millennium. *J Hepatol* 32:48-62
 108. Poynard T, Mathurin P, Lai CL, Guyader D, Poupon R, Tainturier MH, Myers RP, Muntenau M, Ratziu V, Manns M, Vogel A, Capron F, Chedid A, Bedossa P (2003) A comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases. *J Hepatol* 38:257-265
 109. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Messous D, Myers RP, Thabut D, Ratziu V, Mercadier A, Benhamou Y, Hainque B (2004) Overview of the diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest, HCV FibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. *Comp Hepatol* 3:8
 110. Poynard T, Zoulim F, Ratziu V, Degos F, Imbert-Bismut F, Deny P, Landais P, El HA, Slama A, Blin P, Thibault V, Parvaz P, Munteanu M, Trepo C (2005) Longitudinal assessment of histology surrogate markers (FibroTest-ActiTest) during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B infection. *Am J Gastroenterol* 100:1970-1980

111. Poynard T, Munteanu M, Ngo Y, Torres M, Benhamou Y, Thabut D, Ratzu V (2006) Diagnostic value of FibroTest with normal serum aminotransferases. *Hepatology* 43:374-375
112. Poynard T, Halfon P, Castera L, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Ratzu V, Benhamou Y, Bourliere M, De Ledinghen V (2007a) Standardization of ROC Curve Areas for Diagnostic Evaluation of Liver Fibrosis Markers Based on Prevalences of Fibrosis Stages. *Clin Chem* 53:1615-1622
113. Poynard T, Morra R, Halfon P, Castera L, Ratzu V, Imbert-Bismut F, Naveau S, Thabut D, Lebrec D, Zoulim F, Bourliere M, Cacoub P, Messous D, Munteanu M, De Ledinghen V (2007b) Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterol* 7:40
114. Primignani M, Dell'Era A, Fazzini L, Zatelli S, De Franchis (2001) Portal hypertensive gastropathy in patients with cirrhosis of the liver. *Recenti Prog Med* 92:735-740
115. Ratzu V, Bonyhay L, Di Marco V, Charlotte F, Cavallaro L, Sayegh-Tainturier MH, Giral P, Grimaldi A, Opolon P, Poynard T (2002) Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 35:1485-1493
116. Ratzu V, Saboury M, Poynard T (2003) Worsening of steatosis and fibrosis progression. *Gut* 52:1386-1387
117. Ratzu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, Tahiri M, Munteanu M, Thabut D, Cadranel JF, Le BB, De Ledinghen V, Poynard T (2006) Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol* 6:6
118. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pylsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER (2002) Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 97:2614-2618
119. Reich DJ, Fiel I, Guarrera JV, Emre S, Guy SR, Schwartz ME, Miller CM, Sheiner PA (2000) Liver transplantation for autoimmune hepatitis. *Hepatology* 32:693-700
120. Rios R, Sangro B, Herrero I, Quiroga J, Prieto J (2005) The role of thrombopoietin in the thrombocytopenia of patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 100:1311-1316
121. Rossi E, Adams L, Prins A, Bulsara M, de BB, Garas G, MacQuillan G, Speers D, Jeffrey G (2003) Validation of the FibroTest biochemical markers score in assessing liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clin Chem* 49:450-454
122. Ruster B, Zeuzem S, Roth WK (1996) Hepatitis C virus sequences encoding truncated core proteins detected in a hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 219:911-915
123. Saftoiu A, Gheonea DI, Ciurea T (2007) Hue histogram analysis of real-time elastography images for noninvasive assessment of liver fibrosis. *AJR Am J Roentgenol* 189:232-233

124. Sagir A, Erhardt A, Schmitt M, Haussinger D (2008) Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology* 47:592-595
125. Saito T (1987) Presenting symptoms and natural history of Wilson disease. *Eur J Pediatr* 146:261-265
126. Sakaida I, Nagatomi A, Hironaka K, Uchida K, Okita K (1999) Quantitative analysis of liver fibrosis and stellate cell changes in patients with chronic hepatitis C after interferon therapy. *Am J Gastroenterol* 94:489-496
127. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F (2003) Transient elastography: a new non-invasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 29:1705-1713
128. Shaheen AA, Wan AF, Myers RP (2007) FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review of diagnostic test accuracy. *Am J Gastroenterol* 102:2589-2600
129. Sharara AI, Rockey DC (2001) Gastroesophageal variceal hemorrhage. *N Engl J Med* 345:669-681
130. Sheiner PA, Schwartz ME, Mor E, Schluger LK, Theise N, Kishikawa K, Kolesnikov V, Bodenheimer H, Emre S, Miller CM (1995) Severe or multiple rejection episodes are associated with early recurrence of hepatitis C after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 21:30-34
131. Srinivasan S, Kallel F, Souchon R, Ophir J (2002) Analysis of adaptive strain estimation technique in elastography. *Ultrason Imaging* 24:109-118
132. Stimac D, Milic S (2005) Hepatitis C: who should be treated? *Acta Med Croatica* 59:423-427
133. Stoller JK, Tomashefski J, Jr., Crystal RG, Arroliga A, Strange C, Killian DN, Schluchter MD, Wiedemann HP (2005) Mortality in individuals with severe deficiency of alpha1-antitrypsin: findings from the National Heart, Lung, and Blood Institute Registry. *Chest* 127:1196-1204
134. Talwalkar JA, Kurtz DM, Schoenleber SJ, West CP, Montori VM (2007) Ultrasound-based transient elastography for the detection of hepatic fibrosis: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 5:1214-1220
135. Tatsumi C, Kudo M, Ueshima K, Kitai S, Takahashi S, Inoue T, Minami Y, Chung H, Maekawa K, Fujimoto K, Akiko T, Takeshi M (2008) Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using serum fibrotic markers, transient elastography (FibroScan) and real-time tissue elastography. *Intervirology* 51 Suppl 1:27-33
136. Tatsumi C, Kudo M, Ueshima K, Kitai S, Ishikawa E, Yada N, Hagiwara S, Inoue T, Minami Y, Chung H, Maekawa K, Fujimoto K, Kato M, Tonomura A, Mitake T, Shiina T (2010) Non-invasive evaluation of hepatic fibrosis for type C chronic hepatitis. *Intervirology* 53:76-81

137. Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD (2008) Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: A meta-analysis and meta-regression. *Hepatology* 48:418-431
138. Thomas A, Fischer T, Frey H, Ohlinger R, Grunwald S, Blohmer JU, Winzer KJ, Weber S, Kristiansen G, Ebert B, Kummel S (2006) Real-time elastography--an advanced method of ultrasound: First results in 108 patients with breast lesions. *Ultrasound Obstet Gynecol* 28:335-340
139. Tsokos M, Turk EE (2002) Esophageal variceal hemorrhage presenting as sudden death in outpatients. *Arch Pathol Lab Med* 126:1197-1200
140. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS (2003) A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 38:518-526
141. Walsh KM, Timms P, Campbell S, MacSween RN, Morris AJ (1999) Plasma levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinases -1 and -2 (TIMP-1 and TIMP-2) as noninvasive markers of liver disease in chronic hepatitis C: comparison using ROC analysis. *Dig Dis Sci* 44:624-630
142. Wedemeyer H, Meyer S, Manns MP (2004) Hepatitis (Hep-Net) competence network. *Internist (Berl)* 45:415-421
143. Wehler M, Kokoska J, Reulbach U, Hahn EG, Strauss R (2001) Short-term prognosis in critically ill patients with cirrhosis assessed by prognostic scoring systems. *Hepatology* 34:255-261
144. Woodward J, Neuberger J. (2001) Autoimmune overlap syndromes. *Hepatology* 33:994-1002
145. Yamakawa M, Shiina T (1999) Tissue elasticity reconstruction based on 3-dimensional finite element model. *Jpn J Appl Phys* 38:3393-3398
146. Yamakawa M, Shiina T (2001) Strain estimation using the extended combined autocorrelation method. *Jpn J Appl Phys* 40:3872-3876
147. Zeuzem S (2004a) Heterogeneous virologic response rates to interferon-based therapy in patients with chronic hepatitis C: who responds less well? *Ann Intern Med* 140:370-381
148. Zeuzem S (2004b) Standard treatment of acute and chronic hepatitis C. *Z Gastroenterol* 42:714-719
149. Zeuzem S, Diago M, Gane E, Reddy KR, Pockros P, Prati D, Shiffman M, Farci P, Gitlin N, O'Brien CB, Lamour F, Lardelli P (2004c) Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 127:1724-1732
150. Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M, Goeser T, Marcellin P, Sanchez-Tapias J, Sarrazin C, Harvey J, Brass C, Albrecht J. (2004d) Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol* 40:993-999

151. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, De Ledinghen V, Marcellin P, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M (2005) Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 41:48-54

7 Publikation/Dank

7.1 Publikation

Real-Time Tissue Elastography Versus FibroScan for Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis in Chronic Liver Disease

Real-time-Elastografie versus FibroScan zur nicht invasiven Beurteilung des Leberfibrosestadium bei chronischer Lebererkrankung

Friedrich-Rust M, Schwarz A, Ong M, Dries V, Schirmacher P, Herrmann E, Samaras P, Bojunga J, Bohle RM, Zeuzem S, Sarrazin C

Ultraschall in Med 2009; 30:478–484

7.2 Dank

Besonderen Dank möchte ich aussprechen an:

Herrn Prof. Dr. Zeuzem für die Überlassung des Themas und seine Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Sarrazin für seine Hilfe und Unterstützung.

Frau Dr. Friedrich-Rust für ihr Engagement bei der Planung, Organisation und Durchführung der Studie, und für ihre unermüdliche und liebevolle Betreuung sowie für die Korrekturlesung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Bohle für seine Unterstützung und für die Bereitstellung der histologischen Schnitte und Blöcke.

Herrn Dr. Dries und Herrn Prof. Dr. Schirmacher für die histologische Beurteilung der Biopsien.

Frau Schneider für ihre Hilfe und freundliche Unterstützung im Studienbüro.

Frau Dr. Ong und Frau Dr. Herrmann für Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Meinen Eltern für ihre Unterstützung.