

Universitätsklinikum Ulm
Zentrum für Innere Medizin
Klinik für Innere Medizin I
Ärztlicher Direktor:
Prof. Dr. Thomas Seufferlein

**Vergleich von Acoustic Structure Quantification,
Scherwellenelastographie und Histologie bei
Patienten mit diffusen Hepatopathien**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Eingereicht von

Jan Keller

geboren in Ulm

2014

Amtierender Dekan: Prof. Dr. T. Wirth

1. Berichterstatter: apl. Prof. Dr. W. Kratzer

2. Berichterstatter: apl. Prof. Dr. D. Walcher

Tag der Promotion: 17.11.2016

Teile dieser Dissertation wurden bereits am 3.12.2015 im folgenden Fachartikel veröffentlicht:

Keller J, Kaltenbach TE, Haenle MM, Oeztuerk S, Graeter T, Mason RA, Seufferlein T, Kratzer W: Comparison of Acoustic Structure Quantification (ASQ), shearwave elastography and histology in patients with diffuse hepatopathies. BMC Medical 15:58. DOI: 10.1186/s12880-015-0100-1 (2015)

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	II
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	4
2.1. Studiendesign	4
2.2. Acoustic Structure Quantification	5
2.3. Scherwellenelastographie	7
2.4. Histologie	9
2.5. Statistische Auswertung	9
3. Ergebnisse	11
3.1. Allgemeine Übersicht	11
3.2. Ergebnisse der Untersuchung mittels ASQ	13
3.2.1. Vergleich mit den Fibrosestadien	13
3.2.2. Vergleich mit den Steatosegraden	19
3.3. Ergebnisse der Untersuchung mittels VTTQ	21
3.3.1. Vergleich mit den Fibrosestadien	21
3.3.2. Untersuchung anderer Einflussfaktoren	27
3.3.3. Untersuchung der Milz mittels VTTQ	28
3.4. Ergebnisse der Untersuchung mittels VTIQ	29
3.4.1. Vergleich mit den Fibrosestadien	29
4. Diskussion	34
4.1. Acoustic Structure Quantification	34
4.2. Virtual Touch Tissue Quantification	36
4.3. Virtual Touch Imaging & Quantification	39
5. Zusammenfassung	40
6. Literaturverzeichnis	42
7. Anhang	46

Abkürzungsverzeichnis

AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases
AIH	Autoimmunhepatitis
ALT	Alanin-Aminotransferase
ARFI	Acoustic Radiation Force Impulse
ASQ	Acoustic Structure Quantification
AUC	Area Under the Curve
DHC	Ductus Hepaticus Communis
F	Fibroestadium
FD-Ratio	Focal Disturbance-Ratio
G	Grad
GGT	γ -Glutamyl-Transferase
HCC	Hepatocellular Carcinoma
INR	International Normalized Ratio
IQR	Inter-Quartile-Range
MRT	Magnetresonanztomographie
NASH	Nonalcoholic Steatohepatitis
PDF	Probability Density Function
ROC	Receiver Operating Characteristic
ROI	Region Of Interest
SNR	Signal to Noise Ratio
VIA-Index	Velocity-INR-ALT-Index
VTIQ	Virtual Touch Imaging & Quantification
VTTQ	Virtual Touch Tissue Quantification

1. Einleitung

Die Erstdiagnose und die Verlaufsuntersuchung diffuser Hepatopathien bereiten der Medizin auch heute noch einige Probleme. Umfangreiche Möglichkeiten einer Blutlabordiagnostik können bei der Differenzierung der Ätiologie helfen, eine gesicherte Diagnose ist jedoch oft erst nach einer histopathologischen Untersuchung möglich. Dabei ist die Histologie nicht nur für die Diagnosefindung von Bedeutung, sondern spielt zusätzlich eine wichtige Rolle bei der Therapieplanung und Verlaufskontrolle. Das Fibrosestadium stellt speziell bei der Behandlung der chronischen Hepatitis C einen wichtigen Marker dar [18]. Dieses gilt als prognostischer Faktor des Krankheitsverlaufes und ist somit auch ein wichtiges Entscheidungskriterium für die Wahl der adäquaten Therapie [18]. In Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine zu Beginn der Therapie vorliegende, fortgeschrittene Fibrose das Ansprechen auf eine antivirale Therapie verschlechtern kann [20]. Auch für die Therapieüberwachung und Verlaufskontrollen ist das Fibrosestadium nützlich. So sollte wegen des erhöhten Risikos der Entstehung eines Leberzellkarzinoms (HCC), ab dem Fibrosestadium F3 engmaschige Verlaufskontrollen durchgeführt werden [8]. Ähnliches gilt für die Autoimmunhepatitis (AIH) [5] und die nicht-alkoholische Steatohepatitis (NASH) [26].

Für letzteres konnte in einer Studie [21] gezeigt werden, dass es bei der histologischen Untersuchung zu Beurteilungsfehlern kommen kann. Bei 59% der Patienten bestand zwischen zwei parallel entnommenen Biopsaten eine Diskrepanz der Fibrosestadien. In 12% der Fälle betrug der Unterschied mindestens zwei Fibrosestadien. Nur bei einem von drei Patienten mit gesicherter Zirrhose konnte in beiden Gewebszylindern eine Zirrhose nachgewiesen werden. Ein Grund hierfür ist der geringe Gewebsanteil eines Stanzzylinders von geschätzt 1/50000 bezogen auf die Gesamtmasse der Leber [22]. In einer anderen Arbeit [2] konnte belegt werden, dass mit steigender Länge die Genauigkeit der Beurteilung zunahm. Während bei einer Biopsielänge von 15mm 65% der Fibrosestadien richtig beurteilt werden konnten, gelang dies bei 25mm Länge schon in 75% der Fälle. Deswegen empfiehlt die American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) [18] für ein Biopsat eine Mindestlänge von 25mm mit einer Mindestzahl von 11 Portaltrakten. Diese Qualitätskriterien werden in der Praxis jedoch nur selten erreicht, da hierfür meist mehrmaliges Punktieren oder größere Stanznadeln erforderlich sind. Beides kann jedoch

ein erhöhtes Blutungsrisiko zur Folge haben [17]. Zwei größere retrospektive Studien geben eine Auftrittswahrscheinlichkeit schwerer Komplikationen von 0,5% an [17,25].

Trotz dieser Risiken für den Patienten und den möglichen Stichprobenfehlern bei der Beurteilung gilt die Leberbiopsie bis heute als Goldstandard für die Diagnostik diffuser Hepatopathien. Dabei gibt es mehrere nichtinvasive Alternativen für die Detektion der Leberfibrose. Es wurden Scores basierend auf Laborparametern entwickelt, die eine Beurteilung der Progression der Erkrankung zulassen. Während einfachere Systeme wie der AST-to-Platelets-Ratio-Index [29] nur zwei Laborwerte einschließen, gibt es komplexere Indizes wie den Fibrotest [10] oder den Hepascore [1], die fünf beziehungsweise sechs Kriterien beinhalten. Mit diesen lässt sich eine Leberzirrhose relativ zuverlässig detektieren, sie sind aber spezifisch für Hepatitis C und lassen sich nicht ohne weiteres auf andere Hepatopathien übertragen. Der VIA-Index [27] stellt einen Versuch dar, Laborwerte mit elastographischen Messergebnissen zu kombinieren, kann aber ebenfalls nur für Hepatitis C Patienten verwendet werden und wurde bisher noch nicht in anderen Studien evaluiert.

Die Elastographie stellt eine weitere Möglichkeit der nichtinvasiven Fibroseerkennung dar und macht sich die Tatsache zu Nutze, dass die vermehrte Bindegewebeinlagerung bei einer Fibrose zur Elastizitätsabnahme des Lebergewebes führt. Hierfür gibt es sonographische Verfahren wie beispielsweise die transiente Elastographie oder die ARFI-Scherwellenelastographie, sowie die Magnetresonanz-Elastographie. Die transiente Elastographie war eine der ersten elastographischen Verfahren, die eine Quantifizierung der Messergebnisse erlaubte. Sie misst sonographisch die Geschwindigkeit von Impulswellen innerhalb des Lebergewebes. Diese werden mechanisch durch einen vibrierenden Stempel am Schallkopf erzeugt. Bisher wird dieses Verfahren jedoch nur von der Firma Echosense angeboten und ist dementsprechend teuer in der Anschaffung. Des Weiteren ist das Gerät allein für die elastographische Untersuchung dezidiert und bietet keine andere Verwendungsmöglichkeit. Eine Untersuchung bei vorliegendem Aszites oder des linken Leberlappens ist nicht möglich [7]. Trotzdem ist die transiente Elastographie ein hochsensitives Verfahren zur Erkennung eines Fibrorestadiums $> F2$ [7]. Eine etwa vergleichbare diagnostische Wertigkeit besitzt die ARFI-Scherwellenelastographie [7]. Die genaue Funktionsweise ist im Methodenteil erläutert. Im Gegensatz zur transienten Elastographie funktioniert sie auch bei Aszites und kann für Messungen im linken

Leberlappen angewendet werden. Des Weiteren kann dieses Verfahren in ein konventionelles Ultraschallgerät integriert werden und ist somit in der Praxis kosteneffizienter einsetzbar. Bisher wird dieses Verfahren allerdings von nur wenigen Herstellern in kommerziell verfügbaren Ultraschallgeräten angeboten. Eine weitere Alternative stellt die elastographische Magnetresonanztomographie dar. In einer Metanalyse [9] konnte gezeigt werden, dass diese der Scherwellenelastographie bei der Fibrosediagnostik überlegen ist. Ferner bietet sie neben der elastographischen Untersuchung die Möglichkeit der Bestimmung des Fett- und Eisengehaltes, sowie die Beurteilung und Detektion einer möglicherweise vorliegenden fokalen Läsion [9]. Nachteil ist die teils eingeschränkte Verfügbarkeit eines MRTs, sowie der hohe Zeit- und Kostenaufwand einer einzelnen Untersuchung. Neben der elastographischen Untersuchung kann die bildgebende morphologische Beurteilung zusätzlich Informationen zur Krankheitsausprägung liefern. Toshiba bietet nun mit ASQ ein Verfahren an, das erstmals eine quantifizierbare, strukturelle Analyse des Leberparenchyms ermöglichen soll [28]. Es könnte die strukturelle Inhomogenität als eine weitere Modalität der Leberfibrose quantifizierbar machen und dadurch einen wichtigen diagnostischen Zusatznutzen erbringen. Da bisher nur wenige Studien zur Überprüfung dieser Methode vorliegen, war es Ziel dieser Arbeit, ASQ anhand der ARFI-Scherwellenelastographie und der Leberbiopsie zu evaluieren.

2. Material und Methoden

Der Studienaufbau, die technischen Methoden und die Durchführung der statistischen Auswertung wurden bereits in dem Fachartikel von Keller et al. [12] in ähnlicher Form dargelegt.

2.1. Studiendesign

Entworfen wurde diese Untersuchung als klinisch prospektive Studie. Zwei nichtinvasive sonographische Verfahren zur Detektion einer Leberfibrose wurden im Vergleich zu einer Leberhistologie evaluiert. Geplant und durchgeführt wurde die Studie in der Abteilung „Zentraler Ultraschall“ der Universitätsklinik Ulm, eine interdisziplinäre Kooperation der Inneren I und der Radiologie. Vor Beginn der Patientenaufnahme erfolgte eine Prüfung und Bewilligung der Studie nach der Deklaration von Helsinki durch eine universitätseigene Ethikkommission. Die Akquirierung der Probanden erfolgte am Tag ihrer geplanten, ambulant oder stationär durchgeführten Leberpunktion. Da in den meisten Fällen ohnehin eine präinterventionelle Ultraschalluntersuchung angedacht war, brauchte diese nach Aufklärung und Zustimmung des Probanden lediglich um die neuen Verfahren erweitert werden. Alle weiteren benötigten Daten wurden im Rahmen einer Anamnese oder aus den Patientenakten erhoben. Dazu zählten unter anderem Alter, Gewicht, falls bereits gesichert die Diagnose, andere Vorerkrankungen und eingenommene Medikamente. Die Beurteilung der Gewebeprobe wurde dem Befund der Pathologie entnommen. Zu den berücksichtigten Erkrankungen gehörten lediglich diffuse Lebererkrankungen wie die Hepatitis viraler, autoimmunologischer, toxischer oder stoffwechselbedingter Genese. Fokale Leberläsionen wurden hingegen ausgeschlossen. Eine weitere Einschränkung stellte eine ausgeprägte Adipositas dar, bei welcher auf Grund der Limitationen des Ultraschalls keine zuverlässigen Messwerte erhoben werden konnten. Sicherheitshalber wurde auch die Schwangerschaft als Ausschlusskriterium gewertet. Für eine möglichst hohe Aussagekraft der Ergebnisse wurde auf einen eng limitierten, zeitlichen Abstand zwischen sonographischer Untersuchung und Leberpunktion geachtet. In allen Fällen lag nicht mehr als ein Tag dazwischen, meist nur wenige Minuten bis Stunden. Des Weiteren wurden alle Untersuchungen von lediglich zwei verschiedenen Untersuchern durchgeführt, wovon etwa dreiviertel davon streng schematisiert von mir selbst durchgeführt wurden.

2.2. Acoustic Structure Quantification

Bei dieser Methode handelt es sich um ein relativ neues Verfahren, welches erstmals durch das Toshiba Aplio auch in kommerziell verfügbaren Ultraschallgeräten zur Anwendung kommt. Dieses soll eine Beurteilung der Homogenität des Lebergewebes ermöglichen. Für diese Arbeit wurde das Toshiba Aplio 500 in Kombination mit dem 6C1 - Konvexschallkopf PVT-375BT verwendet. Dabei basiert ASQ auf den Beobachtungen von Yamaguchi et al. [31,32] die zeigen, dass die Verteilung der Echoamplituden bezogen auf eine Speckle-Einheit im homogenen Lebergewebe annähernd der Rayleigh-Verteilungsfunktion entspricht. Weitere Arbeiten von Yamada et al. [30] und Toyoda et al. [28] bestätigten diese These und führten diese weiter aus. Auf Grund der Limitation der Auflösung von Ultraschallgeräten kommt es durch Mikrostrukturen, deren Größe unterhalb der Wellenlänge der Schallquelle liegen, zu Interferenzen. Als Folge davon werden für jeden Speckle innerhalb der Leber mehrere Amplituden detektiert, die im B-Bild jedoch gemittelt als Graustufe dargestellt werden. Für ASQ werden deshalb Rohbilddaten benötigt, welche noch keine weitere Mittelung erfahren haben. Diese Rohbilddaten werden in Form eines retrospektiven Videoclips am Gerät aufgezeichnet und können auf einen PC exportiert ausgewertet werden. Bei dieser Studie betrug die Videoclip-Länge jeweils 5 Sekunden und umfasste die Leber in einem Längs- und Querschnitt. In der neuesten Version ist die Auswertung auch am Ultraschallgerät selbst möglich, diese lag uns zur Zeit der Untersuchungen jedoch noch nicht vor. Zur Auswertung kam die Software PC-ASQR in der Version V1.01R000 zum Einsatz. Diese erlaubt neben einer qualitativen farbcodierten Darstellung auch eine quantitative Analyse der Homogenität des Lebergewebes. Zuerst werden innerhalb eines Bildes bis zu vier Messregionen, sogenannte ROIs definiert, die einen möglichst großen Anteil des Lebergewebes einschließen, größere Gefäß- und Bindegewebsstrukturen jedoch aussparen. Die Software berechnet nun anhand des definierten Areals ein Chi-Quadrat-Histogramm. Grundlage dieser Berechnungen ist die Analyse der Echoamplituden-Verteilungsfunktion (im englischen „probability density function“) für eine Vielzahl kleiner Messgebiete, die automatisch innerhalb der ROIs generiert werden. Der Chi-Quadrat-Wert C_m^2 ist definiert als das Verhältnis der gemittelten Varianz σ_m^2 zu einer nach Rayleigh erwarteten Varianz σ_R^2 für den berechneten Mittelwert μ_m :

$$C_m^2 = \frac{\sigma_m^2}{\sigma_R^2(\mu_m)}$$

C_m^2 – Werte um die 100% bedeuten, dass die Varianz der PDF im Messgebiet annähernd gleich der Rayleigh-Verteilung ist. Störfaktoren, wie beispielsweise kleinere Bindegewebssepten bei einer Leberfibrose führen zu Veränderungen in der Echoamplitudenverteilung. Dadurch kann die Software auch zwischen sogenannten Rayleigh- und non-Rayleigh-Elementen unterscheiden. Bei Überschreitung einer gewissen Abweichung $\alpha=1,2$ zwischen gemitteltem C_m^2 und gemessenem C^2 , wird die Messregion als non-Rayleigh-Element definiert und im C^2 -Histogramm einer separaten blauen Kurve hinzugefügt. Rayleigh-Elemente werden hingegen von einer roten Kurve dargestellt. Non-Rayleigh-Elemente sind als Strukturen zu interpretieren, die wie Bindegewebs- und Gefäßstrukturen nicht dem üblichen Leberparenchym entsprechen. Das C^2 -Histogramm spiegelt anhand zweier Kurven die Verteilung von Chi-Quadrat-Werten innerhalb des definierten Messareals wider. Neben Parametern wie dem Mittelwert, dem Spitzenwert oder der Standardabweichung ermittelt die Software zusätzlich die sogenannte FD-Ratio, welche das Verhältnis der Fläche unter der blauen Kurve zu der der roten angibt. Je höher der Wert der FD-Ratio, umso größer der Anteil an non-Rayleigh Elementen und damit hypothetisch auch an interferierenden Mikrostrukturen. Folglich ist die FD-Ratio neben dem Mode des C^2 -Histogramm einer der wichtigsten Parameter bei der Auswertung. Für die qualitative Auswertung bietet ASQ eine farbcodierte Echtzeitdarstellung im B-Bild-Modus an. Darin werden Areale nach dem Ampelschema mit C_m^2 – Werten von 0% bis 300% farblich von grün bis rot farblich kodiert angezeigt. Um Messfehler möglichst zu vermeiden wurden die ROIs in einem Abstand von mindestens 1cm zur Leberkapsel platziert. Des Weiteren wurde darauf geachtet, dass die ROIs nur innerhalb von Bereichen mit einer guten SNR gesetzt wurden. Insgesamt wurden pro Videoclip fünf Bilder ausgewertet und die Messparameter gemittelt. Die Einstellungen am Gerät entsprachen den Standardeinstellungen, lediglich die Helligkeit wurde zur besseren Darstellung auf 100 eingestellt. Hierdurch gestaltete sich die Auswertung am PC optisch einfacher. Da es sich bei der Helligkeitsverstärkung um ein sogenanntes Post-Processing handelt, sollte dies allerdings keinen Einfluss auf die von ASQ genutzten Rohdaten haben.

2.3. Scherwellenelastographie

Hersteller Siemens war mit einer der ersten Hersteller, der mit Virtual Touch eine quantitative Bestimmung der Elastizität des Gewebes in kommerziell erhältlichen Geräten anbot. Bei dieser Arbeit wurde das Siemens Acuson S3000 verwendet, welches eine Form der Scherwellenelastographie bietet, die auf der Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) – Technologie basiert. Letzteres bedeutet, dass anders als bei der transienten Elastographie oder der Realtime-Elastographie die Kompression des Gewebes nicht durch einen mechanischen Druck erzeugt wird, sondern durch einen energetischen Ultraschallimpuls. Dieser energetische Impuls wird an einer vom Untersucher definierten Stelle im Gewebe erzeugt. Hierbei kommt es durch Kompression und Dekompression zur Auslenkung des Gewebes in Richtung der Schallwellenausbreitung. Dies führt im angrenzenden Gewebsabschnitt zu einer notwendigen Ausscherung, die sich in Form einer wellenförmigen Bewegung (Scherwelle, englisch „shear wave“) senkrecht zur Schallausbreitung im Gewebe fortsetzt. Zwei parallel zum angeregten Gewebe orientierte „Tracking Beams“ detektieren die Scherwellen und ermöglichen durch eine Zweipunktediskriminierung die Bestimmung der Scherwellengeschwindigkeit v_s in $\frac{m}{s}$. Folglich misst das Verfahren nicht direkt die Elastizität, sondern lässt unter der Annahme, dass sich Scherwellen im steiferen Gewebe schneller ausbreiten nur Rückschlüsse auf diese zu. Der genaue physikalische Zusammenhang lautet:

$$v_s = \sqrt{\frac{G}{\rho}}$$

Wobei ρ die Dichte des Gewebes darstellt und G das Schermodul, eine Materialkonstante mit der Einheit $\frac{N}{m^2} = Pa$, die die Schersteifigkeit zum Ausdruck bringt. Diese Formel gilt jedoch nur für homogene und isotropische Materialien, was nur bedingt für die Leber zutrifft. Kommt es durch eine Fibrosierung des Leberparenchyms zu einer Steifigkeitszunahme, müsste dies eine erhöhte Scherwellengeschwindigkeit zur Folge haben. Für die quantitative Elastographie bietet das Siemens Acuson S3000 zwei verschiedene Programme an. Ersteres ist Virtual Touch Tissue Quantification (VTTQ), mit welchem durch eine singuläre ROI Einzelmessungen in bis zu 8 cm Tiefe im B-Bild-Modus erhoben werden können. Bei der Untersuchung wurde der Konvexschallkopf 6C1 HD mit

einer Frequenz von 4,5 MHz betrieben. Es wurden sechs interkostale Messungen jeweils in 5cm Tiefe im rechten Leberlappen durchgeführt. Dabei wurde darauf geachtet, dass Thoraxexkursionen durch Atembewegungen möglichst vermieden werden. Zudem wurde darauf Wert gelegt, dass die ROI stets im mittleren Drittel des Schallfensters platziert war, da dort seltener Fehlmessungen auftraten. Die Mediane und Mittelwerte dieser sechs Messungen wurden für die statistische Auswertung genutzt. Eine spezielle Variante des VTTQ stellt Siemens anderes Programm: Virtual Touch Imaging & Quantification dar. Hierbei besteht durch Verwendung des Linearschallkopfes 9L4 die Möglichkeit einer Vielzahl paralleler Messungen, innerhalb einer primären ROI mit freiwählbaren Ausmaßen. Entwickelt wurde die Methode vor allem für oberflächliche Strukturen wie die Schilddrüse. Obwohl die Leberelastographie nicht dem ursprünglichen Nutzen entspricht, wurde im Rahmen dieser Studie untersucht, ob für dieses Einsatzgebiet möglicherweise ein diagnostischer Vorteil besteht. Nach erfolgreicher Messung wird der Messbereich nach Scherwellengeschwindigkeit farblich kodiert angezeigt. Um Zahlenwerte zu erhalten, können beliebig viele kleinere sekundäre ROIs innerhalb des Messareals platziert werden. Das Programm blendet automatisch Bereiche mit schlechter Messqualität aus und versucht so, Bewegungsartefakte und andere Messfehler zu minimieren. Bei dieser Arbeit wurde der Linearschallkopf 9L4 mit einer Frequenz von 8 MHz betrieben und die Eindringtiefe auf 4,5 cm begrenzt. Es wurden jeweils 6 Messpunkte 1,5 cm und 2,0 cm unterhalb der Leberkapsel platziert. Die Untersuchung des rechten Leberlappens wurde durch eine interkostale Schallkopfposition durchgeführt, die des linken durch eine epigastrische. Wegen der limitierten Eindringtiefe wurden im linken Leberlappen nur Messungen bis 1,5cm Tiefe erhoben. Alle Einstellungen entsprachen den Standardeinstellungen des Herstellers. Da die Dauer einer einzelnen Messung bei dieser Methode auf Grund des größeren Messbereichs mehr Zeit beansprucht, ist die Wahrscheinlichkeit von Bewegungs- und Messartefakten höher als bei VTTQ. Zudem ist bei einer ausgeprägten subkutanen Fettschicht die Eindringtiefe wegen der höheren Frequenz stark limitiert. Die statistische Auswertung erfolgte identisch zu der von VTTQ.

2.4. Histologie

Die Gewinnung der Lebergewebsprobe wurde unabhängig von der Studie im Rahmen der klinischen Diagnostik durchgeführt. Hierzu kam entweder eine laparoskopische Schnittbiopsie oder eine sonographisch gesteuerte, transkutane Stanzbiopsie zur Anwendung. Diese wurden in allen Fällen noch am selben Tag unmittelbar nach der Ultraschalluntersuchung durchgeführt. Alle Patienten wurden von ihrem behandelnden Arzt rechtzeitig und ausreichend über diesen Eingriff aufgeklärt. Das Biopsat wurde anschließend standardmäßig mit Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und mittels HE-, PAS- und Azanfärbung behandelt. Die Bewertung des Fibrorestadiums und Entzündungsgrades anhand der Biopsie erfolgte nach Desmet/Scheuer [6] durch die klinikinterne Pathologie. Die Klassifikation ist wie folgt definiert: Keine Fibrose (Stadium F0), geringgradige Fibrose (Stadium F1), mittelgradige Fibrose (Stadium F2), hochgradige Fibrose (Stadium F3) und Zirrhose (Stadium F4). Für die Entzündungsgrade gilt: keine Entzündung (Grad 0), minimale Entzündung (Grad 1), geringgradige Entzündung (Grad 2), mittelgradige Entzündung (Grad 3) und hochgradige Entzündung (Grad 4). Biopsate, bei denen keine eindeutige Zuordnung zu einem Stadium oder Grad erfolgte und Zwischenstadien angegeben waren, wurden mit dem jeweils höheren Stadium, beziehungsweise Grad gleichgesetzt. Zur Gewährleistung eines gewissen Qualitätsstandards und einer damit verbundenen Aussagekraft der Gewebsprobe, wurde die Mindestanzahl von vollständig beurteilbaren Portalfeldern auf vier festgelegt. Für die Länge des Biopsats galt eine Mindestlänge von 1cm. Zusätzlich wurde der Anteil der Hepatozyten mit Lipideinschlüssen histologisch bestimmt. Es wurden drei Steatosegrade definiert: Grad 0 mit einem Anteil lipidhaltiger Hepatozyten kleiner 5%, Grad 1 mit einem Anteil von 5%-30% und Grad 2 mit einem Anteil größer 30%.

2.5. Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung kam die „Statistiklabor“ – Software der Freien Universität Berlin in der Version 3.81 zur Anwendung. Dabei handelt es sich um ein frei erhältliches Programm basierend auf der Open Source Programmiersprache „R“. Die tabellarische und graphische Illustration wurde mittels Microsoft Office 2013 umgesetzt. Zur Darstellung des

Zusammenhangs zwischen dem Fibroestadium und den sonographisch erhobenen Messparametern wurden die Probanden nach deren jeweiligem Stadium eingeteilt und die Verteilung der Messparameter mit einander verglichen. Hierzu wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test verwendet, da sich die überwiegende Mehrheit der Datensätze als nicht normalverteilt, mit annähernd gleichen Varianzen darstellte. Die Vortestung auf Normalverteilung wurde mittels Shapiro-Wilk-Test durchgeführt, die auf Varianzgleichheit mittels Levene-Test. Es erfolgte eine umfangreiche, statistische Auswertung für die Mittelwerte und Mediane, der durch die Elastographie ermittelten Scherwellengeschwindigkeiten und mehreren Parametern der ASQ-Auswertung. Zur Darstellung der Güte der Differenzierungsfähigkeit der einzelnen Verfahren wurde mit Hilfe des Excel-Tools „ROC-Kurven“ von Acomed ROC-Kurven generiert und CutOff-Werte ermittelt. Eine Testung der Korrelation einzelner Parameter wurde mittels Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman durchgeführt. Für alle statistischen Tests wurde ein Signifikanzniveau von 5% verwendet.

3. Ergebnisse

Die in den folgenden Kapiteln dargestellten Ergebnisse sind so zum Teil auch in dem Fachartikel von Keller et al. [12] publiziert worden.

3.1. Allgemeine Übersicht

Insgesamt konnten 51 Patienten in unsere Studie aufgenommen werden. Die Probanden, bei denen eine Ultraschalluntersuchung wegen einer ausgeprägten Adipositas nicht möglich war, wurden dabei nicht mitgezählt. Tabelle 1 gibt eine genauere Übersicht über das Patientenkollektiv. Für vier Patienten existierten keine Punktionsergebnisse. Drei Punktionen mussten kurzfristig wegen schlechter Gerinnungswerte abgesagt werden, eine lieferte kein verwertbares Biopsat. Da lediglich bei drei Patienten histologisch eine Leberzirrhose diagnostiziert wurde, mussten die Patientengruppe mit Fibrosestadium F3 und F4 aus statistischen Gründen zusammengefasst werden.

Tabelle 1: Übersichtstabelle des Patientenkollektivs. Vom März 2013 bis März 2014 wurden 51 Patienten, die für eine diagnostisch indizierte Leberpunktion in das Universitätsklinikum Ulm einbestellt waren, in die Studie eingeschleust.

	Anzahl (%) Mittelwert ± STD
Probandenzahl	51
Männlich	31 (61%)
Weiblich	20 (39%)
Alter	51 ± 11 Jahre
Body-Mass-Index	25,5 ± 3,5 kg/m ²
Gewicht	75 ± 14 kg
Größe	1,7 ± 0,1 m
Diabetes Mellitus	
Kein	45 (88%)
Typ 1	0
Typ 2	6 (12%)
Häufigkeiten der Hepatopathien	
Hepatitis C	13 (25%)
Nicht-alkoholische Steatohepatitis	10 (20%)
Unbekannt und Sonstige	9 (18%)
Nicht-alkoholische Fettlebererkrankung	6 (12%)
Hepatitis B	5 (10%)
Autoimmun-Hepatitis	5 (10%)
Toxischer Leberschaden	3 (5%)
Fibrosestadien (F) nach Desmet/Scheuer	
Stadium F0	15 (32%)
Stadium F1	10 (21%)
Stadium F2	13 (28%)
Stadium F3 und F4	9 (19%)
Entzündungsgrade (G) nach Desmet/Scheuer	
Keine Entzündung	11 (24%)
Grad G1	15 (32%)
Grad G2	17 (36%)
Grad G3	4 (8%)
Grad G4	0 (0%)
Anteil der Hepatozyten mit Lipideinschlüssen	
Grad 0: <5%	32 (68%)
Grad 1: 5%-30%	8 (17%)
Grad 2: >30%	7 (15%)
Gewebszylinder	
Länge	1,8 ± 0,6 cm
Anzahl der Portaltrakte	7 ± 3

3.2. Ergebnisse der Untersuchung mittels ASQ

Von vier der insgesamt 51 Patienten konnte auf Grund fehlerhaft gespeicherter Bilddaten keine Auswertung mittels ASQ durchgeführt werden. Der Spearman Korrelationskoeffizient für die Messparameter des Längs- und Querschnittes der Leber betrug für die Spitzenwerte $r=0,61$ ($p<0,001$), für die Mittelwerte $r=0,73$ ($p<0,001$) und für die FD-Ratios $r=0,75$ ($p<0,001$).

3.2.1. Vergleich mit den Fibrosestadien

Wegen den bereits erwähnten Ausfällen betrug die Grundgesamtheit für diesen Vergleich $n=43$. Die Verteilung der diagnostizierten Fibrosestadien nach Desmet und Scheuer ist in Abbildung 1 dargestellt. Die Patienten mit diagnostiziertem Fibrosestadium F3 und einem Stadium F4 wurden aus statistischen Gründen zusammengefasst.

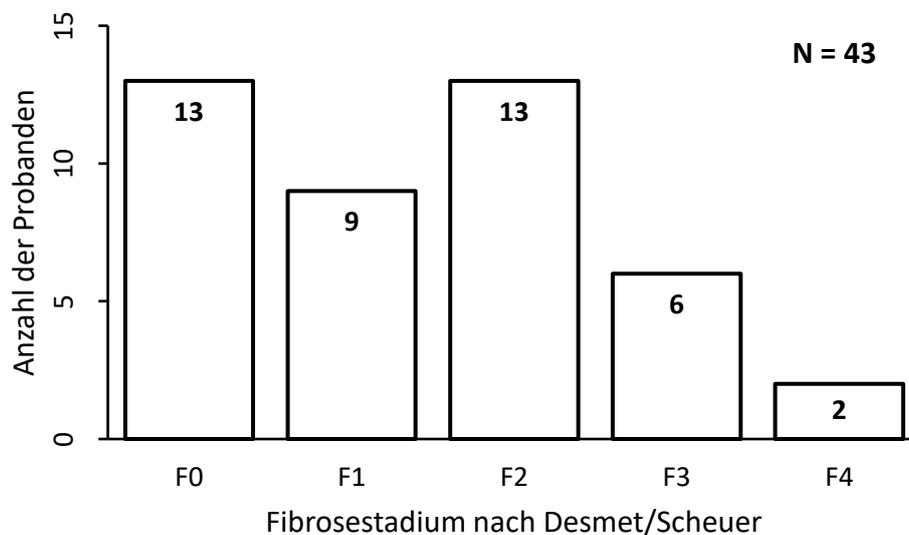


Abbildung 1: Absolute Häufigkeiten der diagnostizierten Fibrosestadien (F) nach Desmet/Scheuer innerhalb des Patientenkollektivs bezogen auf die Acoustic Structure Quantification (ASQ)-Auswertung. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Die Spearman Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen den Fibrosestadien nach Desmet und Scheuer und den mittels ASQ erhobenen Messparametern sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Spearman Korrelationskoeffizienten für den Vergleich der Fibrorestadien nach Desmet/Scheuer und den mittels Acoustic Structure Quantification erhobenen Messparametern. Jeweils für den Längs- und Querschnitt der Leber. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Messparameter des Chi-Quadrat-Histogramms		Spearman Korrelationskoeffizient
Spitzenwerte	Längsschnitt	$r = 0,02$ ($p = 0,920$)
	Querschnitt	$r = 0,09$ ($p = 0,587$)
Mittelwerte	Längsschnitt	$r = 0,04$ ($p = 0,795$)
	Querschnitt	$r = 0,00$ ($p = 0,979$)
Focal Disturbance - Ratio	Längsschnitt	$r = 0,11$ ($p = 0,481$)
	Querschnitt	$r = -0,17$ ($p = 0,271$)

Wie schon anhand der Korrelationskoeffizienten und deren Signifikanzen deutlich wird, kann hier kein Zusammenhang der ASQ-Messparameter mit den Fibrorestadien nach Desmet/Scheuer nachgewiesen werden. Schränkt man das Kollektiv auf Probanden ohne Steatosis hepatis ein, ergeben sich ebenfalls keine Signifikanzen. Allerdings ist die Anzahl an Probanden dann nicht mehr repräsentativ. Auch eine Abgrenzung der einzelnen Fibrorestadien anhand der gemessenen Ergebnisse mittels Wilcoxon-Mann-Whitney-Test gelang nicht. In der deskriptiven Statistik war für keinen der Messparameter ein Trend erkennbar. Teils war dieser sogar für den Längs- und Querschnitt gegenläufig. Die folgenden Abbildungen zeigen die nach den Fibrorestadien aufgetragenen Spitzenwerte der Chi-Quadrat-Histogramme und FD-Ratios jeweils für den Längs- und Querschnitt der Leber.

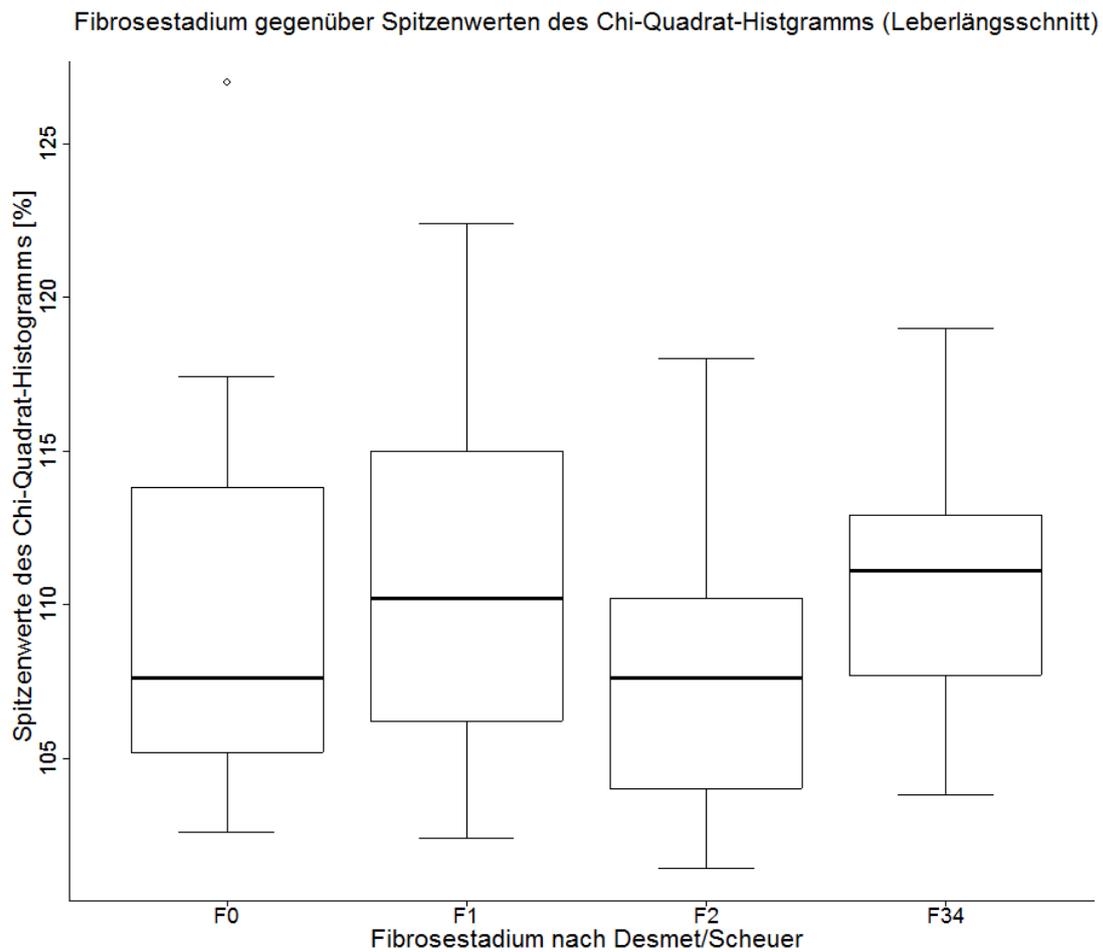


Abbildung 2: Auftragung der mittels Acoustic Structure Quantification gemessenen Spitzenwerte der Chi-Quadrat-Histogramme gegenüber den jeweiligen Fibrosestadien (F) nach Desmet und Scheuer. Die Auswertung erfolgte anhand eines Leberlängsschnittes. Aus statistischen Gründen mussten Stadium F3 und F4 zusammengefasst (F34) werden. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

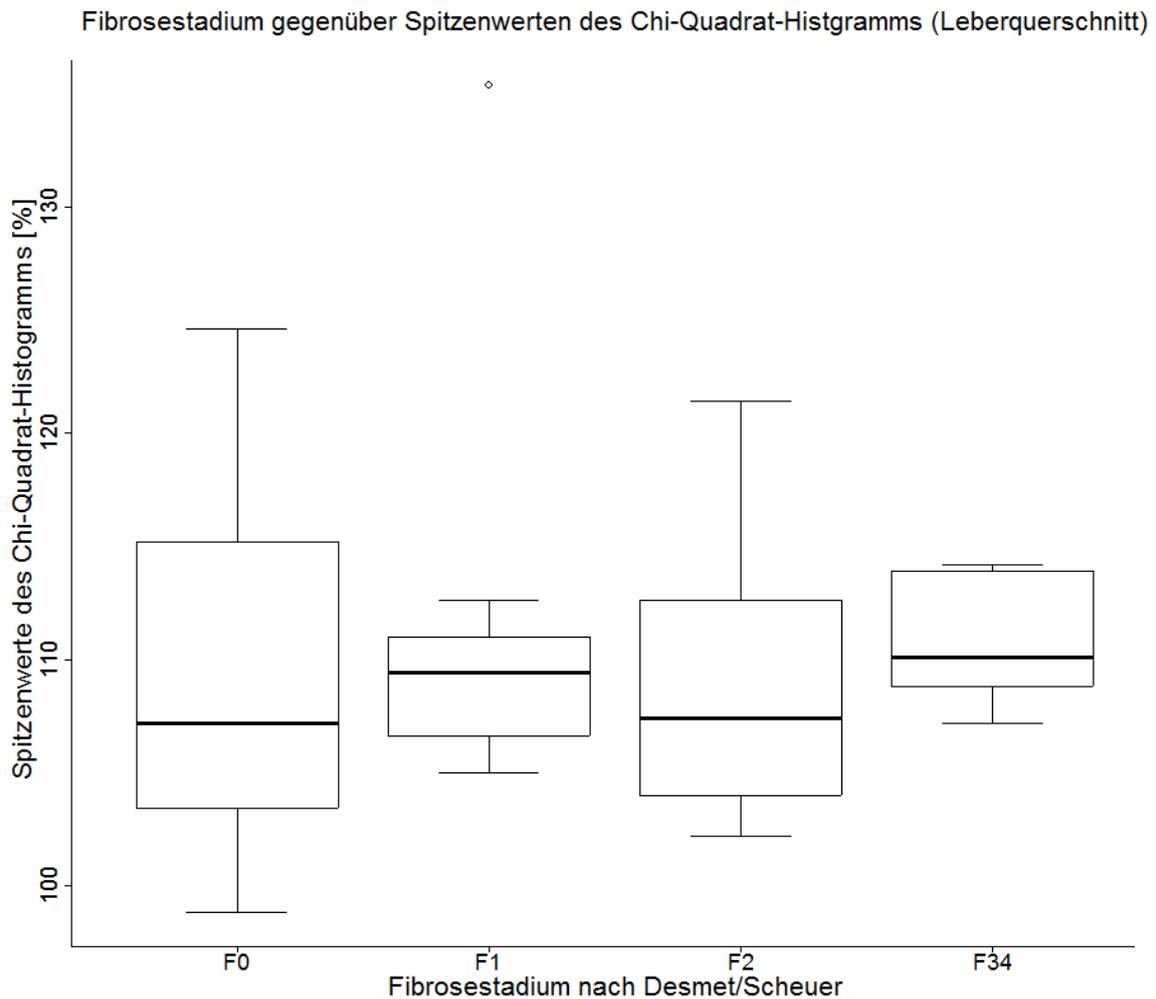


Abbildung 3: Auftragung der mittels Acoustic Structure Quantification gemessenen Spitzenwerte der Chi-Quadrat-Histogramme gegenüber den jeweiligen Fibrosestadien (F) nach Desmet und Scheuer. Die Auswertung erfolgte anhand eines Leberquerschnittes. Aus statistischen Gründen mussten Stadium F3 und F4 zusammengefasst (F34) werden. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

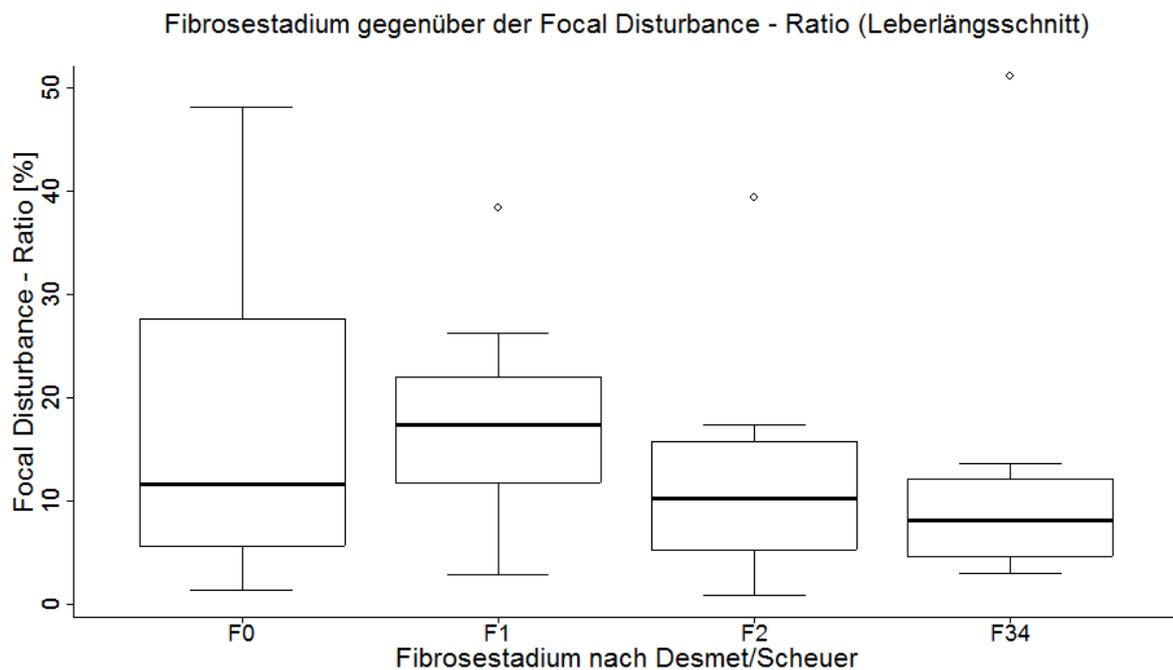


Abbildung 4: Auftragung der mittels Acoustic Structure Quantification gemessenen Focal Disturbance - Ratios gegenüber den jeweiligen Fibrosestadien (F) nach Desmet und Scheuer. Die Auswertung erfolgte anhand eines Leberlängsschnittes. Aus statistischen Gründen mussten Stadium F3 und F4 zusammengefasst (F34) werden. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

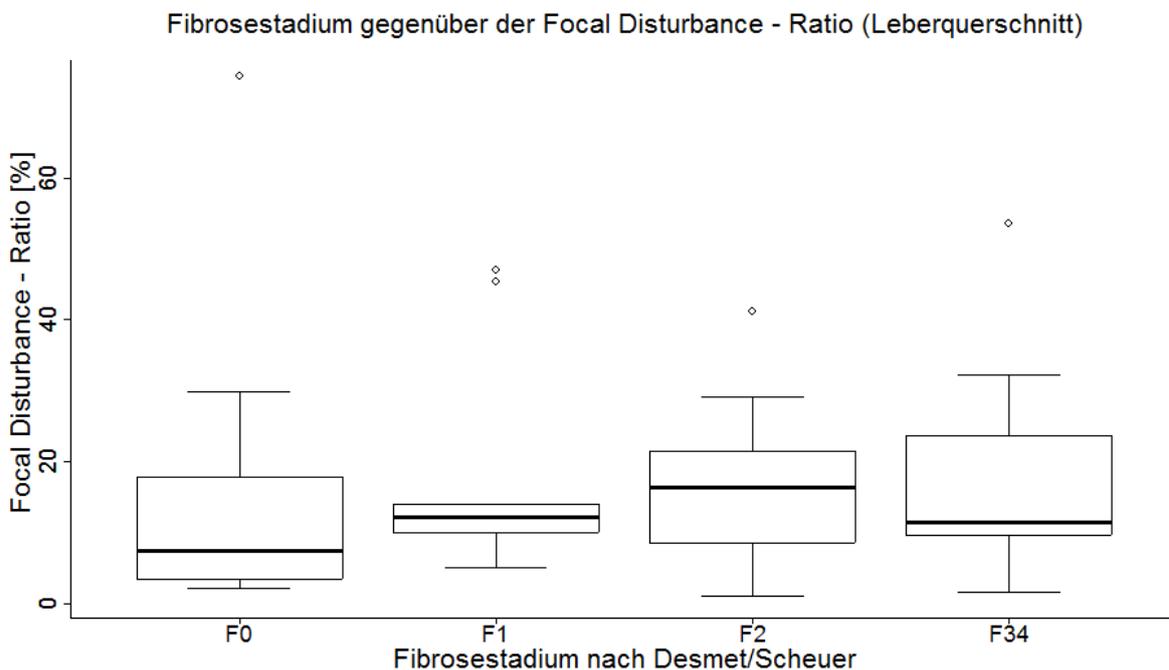


Abbildung 5: Auftragung der mittels Acoustic Structure Quantification gemessenen Focal Disturbance - Ratios gegenüber den jeweiligen Fibroreestadien (F) nach Desmet und Scheuer. Die Auswertung erfolgte anhand eines Leberquerschnittes. Aus statistischen Gründen mussten Stadium F3 und F4 zusammengefasst (F34) werden. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Auf Grund der bisher beschriebenen ambivalenten Datenlage wird auf die Ausführung weiterer statistischer Testergebnisse verzichtet. Es konnte für keinen der Messparameter ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit den Fibroreestadien nachgewiesen werden.

3.2.2. Vergleich mit den Steatosegraden

Zusätzlich zum Vergleich mit den Fibrosestadien wurde auch der Zusammenhang mit der Steatosis hepatis untersucht. Als Vergleichswert diente ein histologisch definierter Steatosegrad. Abbildung 6 zeigt die Verteilung der einzelnen Steatosegrade der Leber.

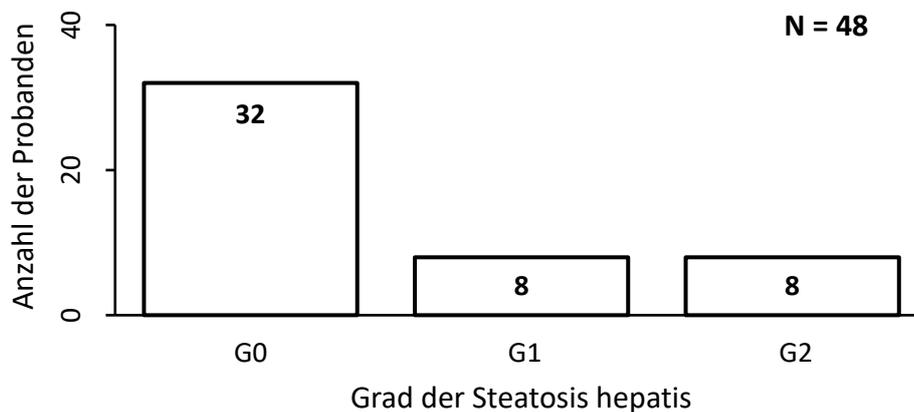


Abbildung 6: Absolute Häufigkeiten der histologisch diagnostizierten Grade (G) der Steatosis hepatis innerhalb des Patientenkollektivs bezogen auf die Acoustic Structure Quantification (ASQ)-Auswertung. Grad 0: <5% verfettete Hepatozyten, Grad 1: 5%-30%, Grad 2: >30%. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Die histologische Einteilung der Steatosis hepatis korrelierte mit der sonographischen Klassifikation mit einem Spearman Korrelationskoeffizienten von $r=0,65$ ($p<0,001$). Die Korrelation der Messparameter des ASQ mit den Steatosegraden ist in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Spearman Korrelationskoeffizienten für den Vergleich der histologischen Steatosegrade und den mittels Acoustic Structure Quantification erhobenen Messparametern. Jeweils für den Längs- und Querschnitt der Leber. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Messparameter des Chi-Quadrat-Histogramms		Spearman Korrelationskoeffizient
Spitzenwerte	Längsschnitt	$r = -0,44$ ($p = 0,002$)
	Querschnitt	$r = -0,50$ ($p < 0,001$)
Mittelwerte	Längsschnitt	$r = -0,52$ ($p < 0,001$)
	Querschnitt	$r = -0,53$ ($p < 0,001$)
Focal Disturbance - Ratio	Längsschnitt	$r = -0,62$ ($p < 0,001$)
	Querschnitt	$r = -0,60$ ($p < 0,001$)

Für die Spitzen- und Mittelwerte des Chi-Quadrathistogramms, sowie die FD-Ratios konnte ein statistisch signifikanter, negativer Zusammenhang mit dem Steatosegrad nachgewiesen werden. Bei steigendem Fettgehalt der Leber sinken diese Werte. Abbildung 7 zeigt diesen Zusammenhang exemplarisch für die FD-Ratio im Leberlängsschnitt anhand einer Boxplot-Grafik.

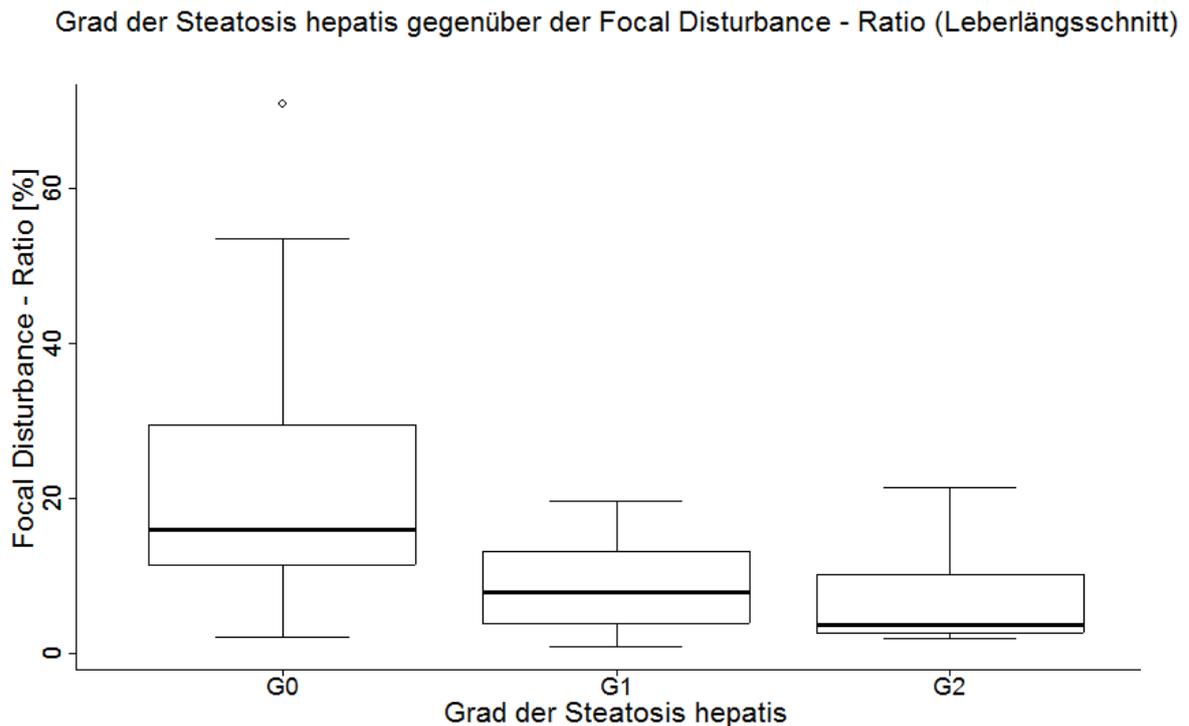


Abbildung 7: Darstellung der Focal Disturbance – Ratios gruppiert nach dem zugehörigen Grad (G) der Steatosis hepatis. Gemessen wurde mittels Acoustic Structure Quantification im Längsschnitt der Leber. Grad 0: <5% verfettete Hepatozyten, Grad 1: 5%-30%, Grad 2: >30%. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

3.3. Ergebnisse der Untersuchung mittels VTTQ

Von allen 51 Patienten konnten erfolgreiche Messungen durchgeführt werden. Der Quotient aus dem Interquartilenabstand und dem Median der Einzelmessungen betrug im Schnitt $20\% \pm 18\%$.

3.3.1. Vergleich mit den Fibrosestadien

Das Kollektiv für diesen Vergleich bestand aus $n=47$ Patienten. Die genaue Verteilung ist in Abbildung 8 gezeigt. Auch für diese Auswertung wurden die Patienten mit diagnostizierten Fibrosestadien F3 und F4 in einer Gruppe zusammengefasst.

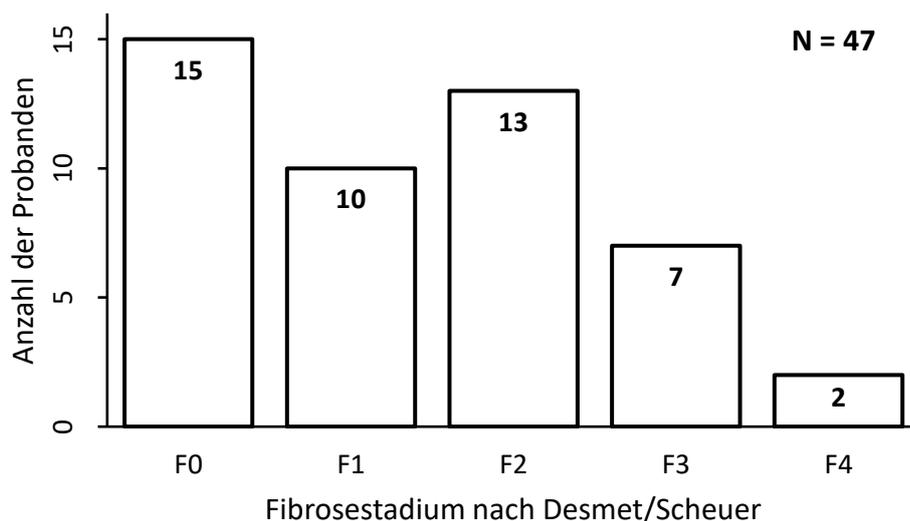


Abbildung 8: Absolute Häufigkeiten der diagnostizierten Fibrosestadien (F) nach Desmet/Scheuer innerhalb des Patientenkollektivs bezogen auf die Virtual Touch Tissue Quantification – Auswertung. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Der Spearman Korrelationskoeffizient für den Zusammenhang der Scherwellengeschwindigkeiten und den Fibrosestadien betrug $r=0,56$ ($p<0,001$). Abbildung 9 und 10 zeigen die Scherwellengeschwindigkeit der entsprechenden Fibrosestadien. Abbildung 9 zeigt dabei die Mittelwerte der Einzelmessungen, während Abbildung 10 die Mediane darstellt.

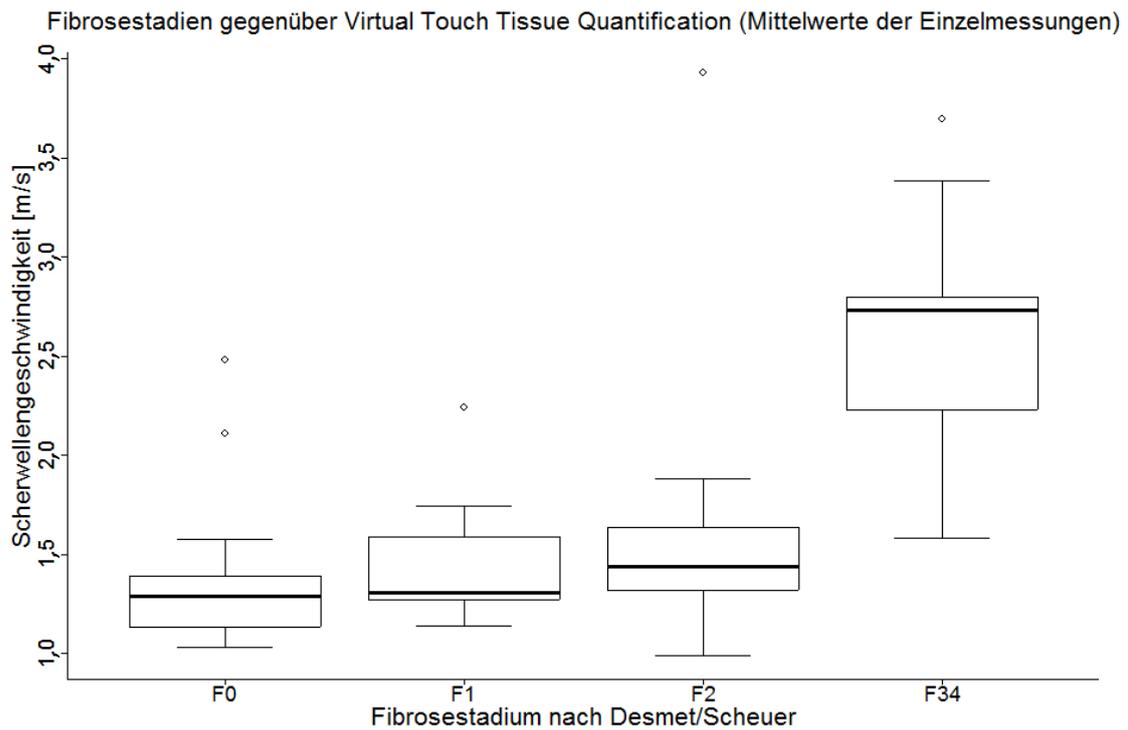


Abbildung 9: Mittels Virtual Touch Tissue Quantification gemessene Scherwellengeschwindigkeiten in m/s (Mittelwerte der einzelnen Probandenmessungen) gruppiert nach dem zugehörigen Fibrosestadium (F) nach Desmet/Scheuer. Gemessen wurde im rechten Leberlappen in 5cm Tiefe. Aus statistischen Gründen mussten Stadium F3 und F4 zusammengefasst (F34) werden. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Fibrosestadien gegenüber Virtual Touch Tissue Quantification (Mediane der Einzelmessungen)

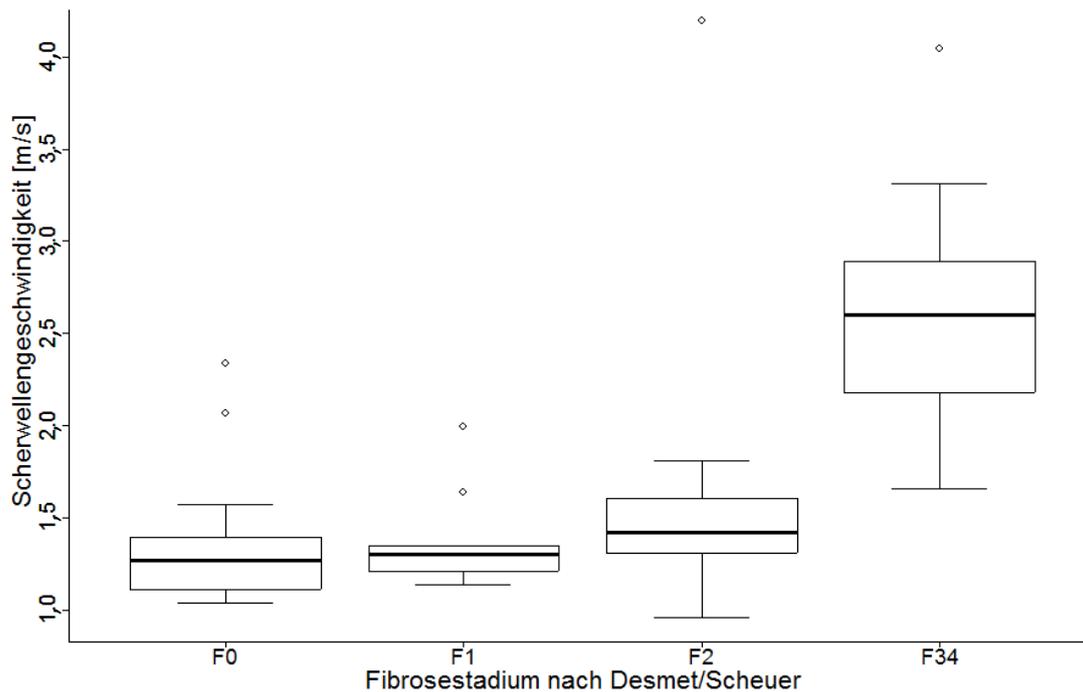


Abbildung 10: Mittels Virtual Touch Tissue Quantification gemessene Scherwellengeschwindigkeiten in m/s (Mediane der einzelnen Probandenmessungen) gruppiert nach dem zugehörigen Fibrosestadium (F) nach Desmet/Scheuer. Gemessen wurde im rechten Leberlappen in 5cm Tiefe. Aus statistischen Gründen mussten Stadium F3 und F4 zusammengefasst (F34) werden. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Tabelle 4 zeigt die dazugehörigen Mittelwerte und Standardabweichungen für die einzelnen Fibrorestadien nach Desmet und Scheuer jeweils für die Mittelwerte und Mediane der Patientenmessungen.

Tabelle 4: Mittelwerte und Standardabweichungen der Scherwellengeschwindigkeiten für die einzelnen Fibrorestadien (F) nach Desmet und Scheuer, jeweils für die Mittelwerte und Mediane der Einzelmessungen. Gemessen wurde mittels Virtual Touch Tissue Quantification im rechten Leberlappen in 5cm Tiefe. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Fibrorestadium nach Desmet/Scheuer	Mittelwerte \pm Standardabweichung der Scherwellengeschwindigkeiten	
	Mittelwerte	Mediane
Keine Fibrose F0	1,39 \pm 0,40 m/s	1,37 \pm 0,37 m/s
Stadium F1	1,45 \pm 0,33 m/s	1,37 \pm 0,26 m/s
Stadium F2	1,62 \pm 0,73 m/s	1,61 \pm 0,81 m/s
Stadium F3/4	2,64 \pm 0,64 m/s	2,61 \pm 0,73 m/s

Es wird ersichtlich, dass sich das Kollektiv aus dem Fibrorestadium F3 und F4 deutlich von den anderen Stadien abhebt. Zur Testung einer statistisch signifikanten Differenz der einzelnen Fibrorestadien bezogen auf die Scherwellengeschwindigkeiten, wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test verwendet. Dieser ergab bei einem Signifikanzniveau $\alpha=0,05$ keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fibrorestadien \leq F2, während das Kollektiv aus Fibrorestadium F3 und F4 hoch signifikant von jedem anderen Stadium abgrenzbar war. Tabelle 5 zeigt die genauen Werte der einzelnen Paarungen zusätzlich zu der Vortestung auf Varianzgleichheit mittels Levene-Test.

Tabelle 5: Ergebnisse der statistischen Auswertung mittels Levene- und Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (Wil.). Es wurde versucht, die Scherwellengeschwindigkeiten des jeweiligen Fibrosestadiums (F) nach Desmet/Scheuer untereinander abzugrenzen. Dabei wurden die Mittelwerte und die Mediane der Einzelmessungen überprüft. Gemessen wurde mittels Virtual Touch Tissue Quantification im rechten Leberlappen in 5 cm Tiefe. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Fibrosestadium nach Desmet/Scheuer		Stadium F1		Stadium F2		Stadium F3 und F4	
		Levene	Wil.	Levene	Wil.	Levene	Wil.
F0	Mittelwerte	p=0,794	p=0,318	p=0,439	p=0,147	p=0,153	p<0,001
	Mediane	p=0,416	p=0,698	p=0,344	p=0,153	p=0,066	p<0,001
F1	Mittelwerte			p=0,416	p=0,385	p=0,114	p=0,001
	Mediane			p=0,249	p=0,153	p=0,034	p<0,001
F2	Mittelwerte					p=0,765	p=0,002
	Mediane					p=0,693	p=0,002

Zur näheren Überprüfung der diagnostischen Wertigkeit wurden „receiver operating characteristic“ (ROC) – Kurven der einzelnen Paarungen ermittelt. Die genauen Werte sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Area under the curve (AUC) der receiver operating characteristic (ROC) - Kurven zur Abgrenzung der einzelnen Fibrosestadien (F) anhand der Scherwellengeschwindigkeiten. Die Mittelwerte und Mediane der Einzelmessungen wurden separat getestet. Bezogen auf die Messungen mittels Virtual Touch Tissue Quantification im rechten Leberlappen in 5cm Tiefe. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Fibrosestadium nach Desmet/Scheuer	Stadium F1	Stadium F2	Stadium F3 und F4
	Area Under the Curve - AUC (95%-iges Konfidenzintervall)		
Mittelwerte	0,62 (0,41-0,81)	0,64 (0,47-0,79)	0,93 (0,82-0,99)
Mediane	0,55 (0,34-0,75)	0,65 (0,47-0,79)	0,94 (0,84-0,99)
Unterschied	p=0,043	p=0,857	p=0,414

Die Stadien F3 und F4 ließen sich bei einer $AUC > 0,90$ mit hoher Genauigkeit von den übrigen Stadien abgrenzen. Abbildung 11 zeigt die ROC-Kurven zur Differenzierung der einzelnen Fibroestadien exemplarisch für die Mediane der Einzelmessungen.

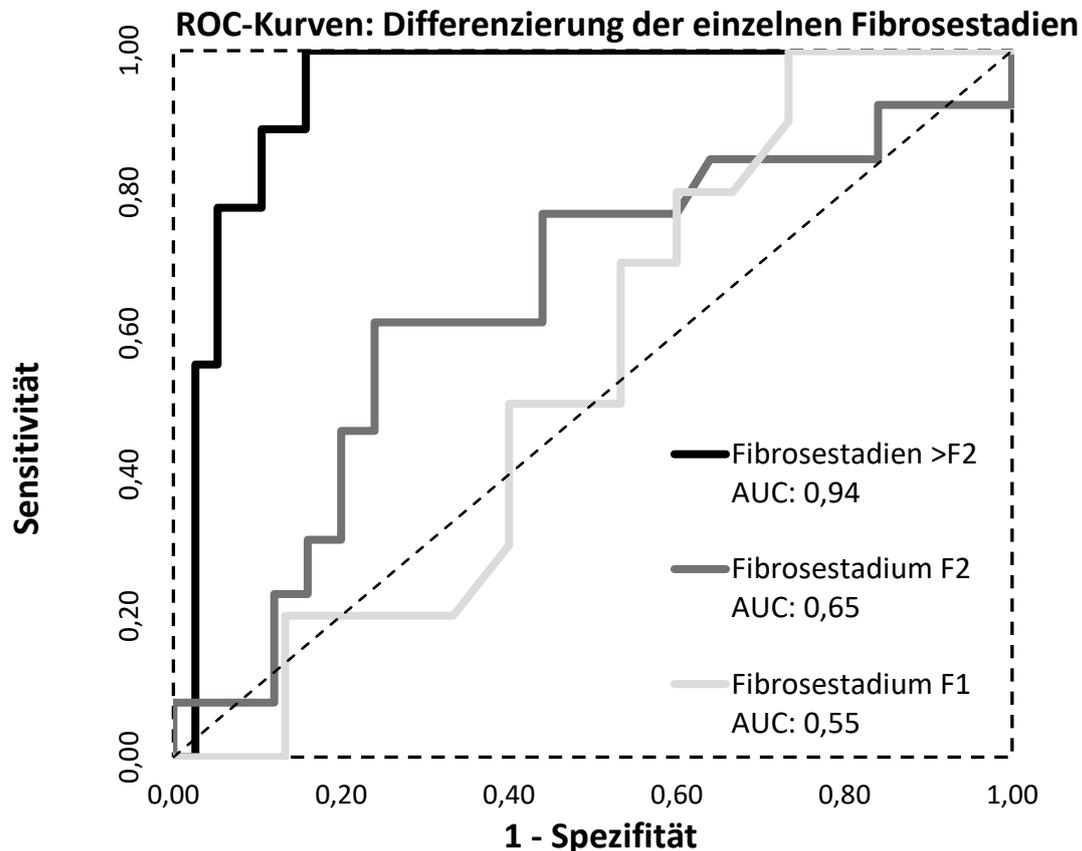


Abbildung 11: Receiver Operating Characteristics (ROC)-Kurven zur Unterscheidung der einzelnen Fibroestadien (F) nach Desmet/Scheuer anhand der entsprechenden Scherwellengeschwindigkeiten. Berücksichtigt wurden hierfür nur die Mediane der Einzelmessungen mittels Virtual Touch Tissue Quantification. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden. AUC: area under the curve. Adaptiert aus der OpenAccess Publikation von Keller J, Kaltenbach TE, Haenle MM, Oeztuerk S, Graeter T, Mason RA, Seufferlein T, Kratzer W: Comparison of Acoustic Structure Quantification (ASQ), shearwave elastography and histology in patients with diffuse hepatopathies. BMC Medical 15:58. DOI: 10.1186/s12880-015-0100-1 (2015), nach der Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>). Es erfolgte eine Anpassung des Layouts sowie eine Übersetzung ins Deutsche.

Die anhand der ROC-Kurven berechneten CutOff-Werte der einzelnen Stadien sind in Tabelle 7 dargestellt. Sie sind für die Fibrosestadien \leq F2 wegen fehlender statistischer Signifikanzen eher hypothetisch.

Tabelle 7: Auflistung der anhand einer Receiver Operating Characteristics (ROC)-Kurve errechneten CutOff-Werte zur Differenzierung der einzelnen Fibrosestadien (F) nach Desmet und Scheuer, basierend auf den gemessenen Scherwellengeschwindigkeiten. VTTQ: Virtual Touch Tissue Quantification. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Fibrosestadium nach Desmet/Scheuer		Stadium F1	Stadium F2	Stadium >F2
VTTQ	CutOff	1,26 m/s	1,32 m/s	1,59 m/s
Mittelwerte	(Sensitivität/Spezifität)	(90%/47%)	(77%/52%)	(100%/74%)
VTTQ	CutOff	1,21 m/s	1,36 m/s	1,66 m/s
Mediane	(Sensitivität/Spezifität)	(80%/40%)	(77%/56%)	(100%/84%)

3.3.2. Untersuchung anderer Einflussfaktoren

Zur Überprüfung anderer Einflussfaktoren auf die gemessene Scherwellengeschwindigkeit wurde eine Korrelationsanalyse mit mehreren Parametern durchgeführt. Für die Ductus hepaticus communis - Weite ($r=0,33$; $p=0,020$) konnte ein signifikanter Spearman Korrelationskoeffizient nachgewiesen werden. Berücksichtigt man nur die Probanden mit maximalem Fibrosestadium F1, beträgt der Spearman Korrelationskoeffizient für diesen Zusammenhang nur noch $r=-0,02$ und ist mit $p=0,909$ nicht mehr signifikant. Ähnliches konnte für den Entzündungsgrad nach Desmet und Scheuer gezeigt werden. Vernachlässigt man das Fibrosestadium, so korreliert dieser signifikant mit den Scherwellengeschwindigkeiten ($r=0,42$; $p=0,003$). Dieser Zusammenhang zeigt sich jedoch nicht mehr, wenn man sich auf die Probanden mit einem Fibrosestadium kleiner F2 beschränkt ($r=0,03$; $p=0,873$). Es ist davon auszugehen, dass diese Faktoren mit dem Fibrosestadium koinzidieren. Eine Korrelationsanalyse konnte dies bestätigen. Dabei korrelierten die Fibrosestadien mit der DHC-Weite ($r=0,33$; $p=0,024$) und mit den Entzündungsgraden ($r=0,78$; $p<0,001$). Für die Lebergröße, den Steatosegrad der Leber, den Body-Mass-Index,

den Pfortaderfluss und den Pfortaderdurchmesser konnte bei dieser Arbeit kein Einfluss auf die Scherwellengeschwindigkeiten nachgewiesen werden.

3.3.3. Untersuchung der Milz mittels VTTQ

Um einen möglichen Zusammenhang der Elastizitätsveränderung der Milz bei einer Leberfibrose aufzeigen zu können, wurden auch Messungen in der Milz durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Scherwellengeschwindigkeiten in einem gedachten kranialen ($2,06 \pm 0,56$ m/s), mittleren ($2,56 \pm 0,52$ m/s) und unteren ($2,96 \pm 0,59$ m/s) Segment jeweils signifikant ($p < 0,001$) unterscheiden. Abbildung 12 zeigt die Scherwellengeschwindigkeiten für das jeweilige Segment.

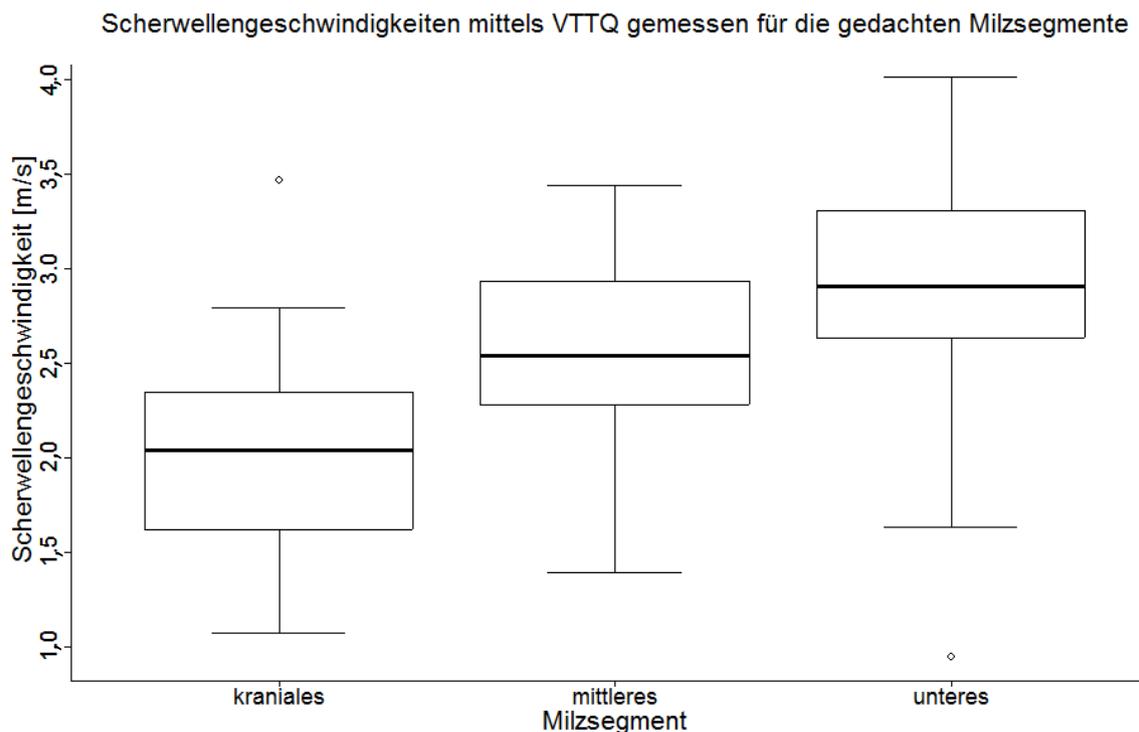


Abbildung 12: Darstellung der mittels Virtual Touch Tissue Quantification (VTTQ) gemessenen Scherwellengeschwindigkeiten für ein gedachtes kraniales, mittleres und unteres Milzsegment. Es wurden jeweils die Mediane der vier Einzelmessungen pro Segment verwendet. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Für keines der Segmente konnte eine Korrelation der Messergebnisse mit den Fibrosestadien, den Scherwellengeschwindigkeiten der Leber, der Milzgröße oder dem Pfortaderfluss nachgewiesen werden.

3.4. Ergebnisse der Untersuchung mittels VTIQ

Wegen schlechter Ultraschallbedingungen erbrachten zwei Messungen des linken Leberlappens 15mm unterhalb der Leberkapsel und zwei im rechten 20mm unterhalb der Kapsel keine gültigen Messergebnisse. Der Spearman Korrelationskoeffizient für den Zusammenhang mit den VTTQ-Messergebnissen betrug $r=0,28$ ($p=0,059$) für die VTIQ-Messungen im rechten Leberlappen 15mm unter der Leberkapsel und $r=0,34$ ($p=0,018$) für die Messungen 20mm unter der Leberkapsel. Die Messungen im rechten und linken Leberlappen jeweils 15mm unterhalb der Leberkapsel korrelierten mit $r=0,38$ ($p=0,009$). Der Quotient aus dem Interquartilenabstand und dem Median betrug $11\% \pm 8\%$, für die Messungen im rechten Leberlappen 15mm unterhalb der Kapsel und $13\% \pm 11\%$, für die Messungen in 20mm Tiefe. Für den linken Leberlappen wurde ein Quotient von $13\% \pm 9\%$ errechnet.

3.4.1. Vergleich mit den Fibrosestadien

Die Gesamtzahl von Patienten verringerte sich auf $N=45$ gegenüber dem Kollektiv der VTTQ-Auswertung, wobei jeweils ein Fibrosestadium F0 und F3/4 wegfiel. Tabelle 8 stellt die Mittelwerte und Standardabweichungen der Scherwellengeschwindigkeiten für die verschiedenen Messorte dar. Auch hier sind die Mediane und Mittelwerte der Einzelmessungen separat aufgeführt.

Tabelle 8: Dargestellt sind die gemittelten, mittels Virtual Touch Imaging & Quantification gemessenen Scherwellengeschwindigkeiten für das jeweilige Fibroestadium (F) nach Desmet/Scheuer und den Messort. Die Tiefenangaben beziehen sich auf die Entfernung zur Leberkapsel. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Fibroestadium nach Desmet/Scheuer		Mittlere Scherwellengeschwindigkeiten ± Standardabweichung		
		VTIQ	VTIQ	VTIQ
		Linker Lappen 15mm Tiefe	Rechter Lappen 15mm Tiefe	Rechter Lappen 20mm Tiefe
F0	Mittelwerte	2,00 ± 0,38 m/s	1,90 ± 0,42 m/s	1,65 ± 0,43 m/s
	Mediane	2,00 ± 0,38 m/s	1,91 ± 0,44 m/s	1,66 ± 0,42 m/s
F1	Mittelwerte	1,56 ± 0,31 m/s	1,64 ± 0,26 m/s	1,46 ± 0,21 m/s
	Mediane	1,65 ± 0,29 m/s	1,64 ± 0,27 m/s	1,47 ± 0,21 m/s
F2	Mittelwerte	1,81 ± 0,47 m/s	1,98 ± 0,40 m/s	1,48 ± 0,26 m/s
	Mediane	1,81 ± 0,46 m/s	1,97 ± 0,39 m/s	1,49 ± 0,23 m/s
F3/4	Mittelwerte	2,29 ± 0,45 m/s	2,40 ± 0,58 m/s	2,03 ± 0,43 m/s
	Mediane	2,30 ± 0,42 m/s	2,42 ± 0,58 m/s	2,07 ± 0,47 m/s

Dabei zeigte sich für alle Messorte eine große Schwankungsbreite für Probanden, bei denen histologisch keine Fibrose nachgewiesen werden konnte. Die Mittelwerte der Probanden ohne Fibrose übertrafen, unabhängig von der Messlokalisierung, die der Patienten mit diagnostiziertem Fibroestadium F1. Ein aufsteigender Trend ist lediglich für den rechten Leberlappen 15mm unterhalb der Kapsel erkennbar. Dies zeigte auch der Spearman Korrelationskoeffizient mit dem Fibroestadium für diese Messlokalisierung ($r=0,35$; $p=0,015$). Während sich rechts für eine Tiefe von 20mm nur $r=0,25$ ($p=0,109$) und links in 15mm Tiefe lediglich $r=0,16$ ($p=0,291$) ergaben, wobei in beiden Fällen keine Signifikanzen nachgewiesen werden konnten. Die weitere Ausführung der Ergebnisse beschränkt sich daher auf die Messlokalisierung im rechten Leberlappen 15mm unterhalb der Kapsel. In Abbildung 13 sind die Scherwellengeschwindigkeiten gegenüber dem entsprechenden Fibroestadium aufgetragen. Dabei sind nur die Mediane der Einzelmessungen gezeigt. Diese unterscheiden sich aber nicht signifikant von den Mittelwerten der Einzelmessungen.

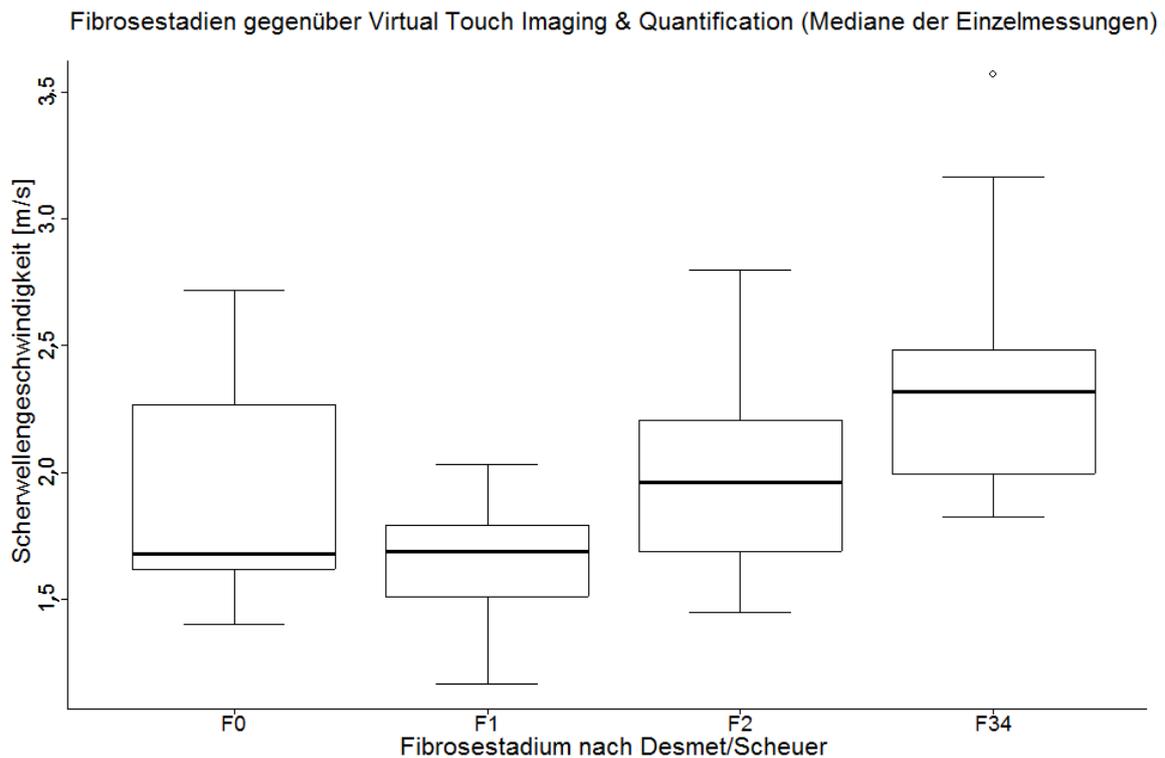


Abbildung 13: Mittels Virtual Touch Imaging & Quantification gemessene Scherwellengeschwindigkeiten in m/s (Mediane der einzelnen Probandenmessungen) gruppiert nach dem zugehörigen Fibrosestadium (F) nach Desmet/Scheuer. Gemessen wurde im rechten Leberlappen 15 mm unterhalb der Leberkapsel. Aus statistischen Gründen mussten Stadium F3 und F4 zusammengefasst (F34) werden. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Es ist ein ansteigender Trend der Fibrosestadien F1 bis F3/4 ersichtlich. Die Messwerte der Patienten ohne Fibrose zeigten jedoch deutliche Schwankungen und überlagerten die Fibrosestadien F1 und F2. Tabelle 9 zeigt die genauen Werte der Testung mittels des Wilcoxon-Mann-Whitney-Testes, jeweils für die Mittelwerte und Mediane der Einzelmessungen.

Tabelle 9: Ergebnisse der statistischen Auswertung mittels Levene- und Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (Wil.). Es wurde versucht, die Scherwellengeschwindigkeiten des jeweiligen Fibrosestadiums (F) nach Desmet/Scheuer untereinander abzugrenzen. Dafür wurden die Mittelwerte und die Mediane der Einzelmessungen überprüft. Gemessen wurde mittels Virtual Touch Imaging & Quantification im rechten Leberlappen 15mm unterhalb der Leberkapsel. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Fibrosestadium nach Desmet/Scheuer		Stadium F1		Stadium F2		Stadium F3 und F4	
Statistischer Test		Levene	Wil.	Levene	Wil.	Levene	Wil.
F0	Mittelwerte	p=0,032	p=0,279	p=0,690	p=0,475	p=0,632	p=0,022
	Mediane	p=0,028	p=0,375	p=0,440	p=0,549	p=0,594	p=0,030
F1	Mittelwerte			p=0,101	p=0,041	p=0,099	p=0,001
	Mediane			p=0,156	p=0,072	p=0,073	p=0,001
F2	Mittelwerte					p=0,494	p=0,062
	Mediane					p=0,326	p=0,053

Für das Kollektiv aus Fibrosestadium F3 und F4 gelang lediglich keine Abgrenzung gegen Stadium F2, wobei hier die Werte mit $p=0,062$ für die Mittelwerte und $p=0,053$ für die Mediane grenzwertig nicht signifikant waren. Zur Testung der diagnostischen Wertigkeit wurden ROC-Kurven erstellt und die dazugehörigen CutOff-Werte ermittelt. Die Ergebnisse für die Mediane der Einzelmessungen sind in Tabelle 10 gezeigt. Dabei sind die CutOff- und AUC-Werte für die Stadien kleiner F2 auf Grund der fehlenden statistischen Signifikanzen und der Überlagerung mit dem Stadium F0 eher hypothetisch.

Tabelle 10: Auflistung der anhand einer Receiver Operating Characteristics (ROC)-Kurve errechneten „area under the curve“(AUC)-Werte zur Differenzierung der einzelnen Fibrosestadien (F) nach Desmet und Scheuer, basierend auf den gemessenen Scherwellengeschwindigkeiten im rechten Leberlappen 15mm unterhalb der Kapsel. Berücksichtigt wurden nur die Mediane der Einzelmessungen mittels Virtual Touch Imaging & Quantification. Die Auswertungen beziehen sich auf ein Kollektiv von Patienten, die im Rahmen einer Studie vom März 2013 bis März 2014 in der Universitätsklinik Ulm kurz vor ihrer klinisch indizierten Leberbiopsie sonographisch untersucht wurden.

Fibrosestadium nach Desmet/Scheuer	Stadium F1	Stadium F2	Stadium >F2
VTIQ 15mm Tiefe Rechter Leberlappen	AUC (95%-Konfidenzintervall)	0,39 (0,20-0,59)	0,63 (0,46-0,78)
	CutOff-Wert (Sensitivität/Spezifität)	1,64 m/s (70%/33%)	1,82 m/s (77%/52%)
			0,84 (0,70-0,93)
			1,82 m/s (100%/58%)

Eine Abgrenzung der Fibrosestadien F3 und F4 war auch mit diesem Verfahren möglich. Die Genauigkeit und Spezifität zeigte sich hier aber auf einem niedrigeren Niveau als bei VTTQ.

4. Diskussion

Wegen den fehlenden positiven Ergebnissen bezüglich ASQ, war eine Kombination mit der Scherwellenelastographie nicht möglich. Ein Vergleich beider Methoden wurde nach meinem Wissensstand bisher noch nicht durchgeführt. Daher werden die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen in den folgenden Abschnitten separat diskutiert. Einige hier angeführten Aspekte wurde in ähnlicher Form auch im Fachartikel von Keller et al. [12] diskutiert.

4.1. Acoustic Structure Quantification

Da es sich bei dieser Technik um ein relativ neues Verfahren handelt, wurden bisher nur wenige Studien zu ASQ publiziert. Ricci et al. [23] und Toyoda et al. [28] konnten bei Hepatitis C Patienten statistisch signifikante Unterschiede für die Chi-Quadrat-Werte der einzelnen Fibrotestadien nachweisen. Da bei unserer Studie, bei der alle diffusen Hepatopathien eingeschlossen waren, keine Signifikanzen gefunden wurden, ist es durchaus möglich, dass abhängig von der zugrundeliegenden Pathologie Unterschiede bei der Detektion mittels ASQ bestehen.

Der von uns dargestellte Einfluss der Leberverfettung [12] auf die Messwerte, konnte bereits von Kuroda et al. [14] bei Leptin-defizienten Mäusen nachgewiesen werden. Kuroda et al. konnten dabei einen signifikanten Zusammenhang zwischen der FD-Ratio und dem Anteil, beziehungsweise der Größe der Fetttropfen innerhalb des Leberparenchyms aufzeigen. Man geht davon aus, dass es mit steigender Anzahl und Größe der Fetttropfen zu einer Überlagerung kleinerer Störstrukturen kommt, was eine Homogenisierung des sonographischen Bildes zur Folge hat. Dies ließe sich auch mit meinen Ergebnissen vereinbaren [12], allerdings beschränkte sich hier der Einfluss nicht nur auf die FD-Ratio. Auch für die Mode und Mittelwerte des Chi-Quadrat-Histogramms konnte ein negativer Zusammenhang mit steigendem Fettgehalt der Leber dargestellt werden. Da letztere für die Detektion einer Fibrose ausschlaggebend sind, ist es möglich, dass eine Steatosis hepatis eine zeitgleich vorliegende Fibrose für die Detektion mit ASQ maskiert und die Untersuchungsergebnisse verfälscht [12]. Ricci et al. [23] erwähnen zwar die Beeinflussung der Messergebnisse durch eine Steatose der Leber, führen aber nicht weiter aus, wie hoch die Prävalenz und Ausprägung der Steatosis hepatis innerhalb des Probandenkollektivs war

[12]. In der Arbeit von Toyoda et al. [28] kam keine ausgeprägte Steatose mit einem Anteil von Hepatozyten mit Lipideinlagerungen größer 30% vor. Werden bei hiesiger Studie nur die Patienten ohne Leberverfettung für die Auswertung berücksichtigt, ergeben sich ebenfalls keine Signifikanzen, jedoch ist die Reliabilität auf Grund der niedrigen Fallzahlen hierfür nicht mehr gegeben.

Eine erst kürzlich erschienene Publikation von Krämer et al. [13] versuchte ebenfalls, ASQ anhand eines Probandenkollektivs mit verschiedensten diffusen Hepatopathien zu evaluieren. Darüber hinaus wurde eine Kohorte mit Virushepatitiden gesondert untersucht. Aber ähnlich zu meinen Ergebnissen [12] konnte kein signifikanter Zusammenhang für die Messergebnisse mittels ASQ mit den Fibrosestadien aufgezeigt werden. Es fehlten ebenfalls nähere Angaben bezüglich einer vorhandenen Steatosis hepatis einzelner Probanden. Des Weiteren wurde, wie auch in den beiden bereits zuvor erwähnten Studien, eine unterschiedliche Version der Analysesoftware verwendet. Während Toyoda et al. [28] noch einen selbstentwickelten Prototyp zu Hilfe nahm, verwendeten Ricci et al. [23] und Krämer et. al [13] das bereits kommerziell erhältliche ASQ, jedoch in einer früheren Version als der unseren. Nach dem Abschluss der Datenerhebung dieser Arbeit, wurde die ASQ-Analyse-Software nochmals erneuert und in das konventionelle Ultraschallgerät integriert. Ob die verschiedenen Versionen Differenzen bei der Auswertung verursachen, ist retrospektiv nicht beurteilbar [12].

Ein weiteres Problem bei der Auswertung waren die Schwankungen der Messwerte je nach Lokalisation der ROI [12]. Obwohl die bei unserer Studie verwendete Version von ASQ bereits Algorithmen anbot, größere Störstrukturen innerhalb der ROI von der Auswertung auszuschließen, kann ein leichtes Versetzen der ROI bereits deutliche Abweichungen bei den Messparametern bewirken. Da sich ASQ noch in einem Entwicklungsprozess befindet, ist durchaus denkbar, dass durch eine Verfeinerung der Algorithmen diese Abweichungen ausgeglichen werden könnten. Auch Beurteilungsfehler bei der pathologischen Beurteilung sind nicht auszuschließen [12]. Mit nur 51 Patienten ist das Probandenkollektiv bei dieser Studie dazu verhältnismäßig klein und es existierten keine Vergleichswerte mit einem gesunden Probandenkollektiv. Um den Effekt der einzelnen Pathologien auf die Messergebnisse genauer evaluieren zu können, müsste ein anhand der Erkrankung selektiertes Patientenkollektiv ohne Steatosis hepatis als Grundgesamtheit dienen. Eine

zuverlässige quantitative Bewertung der Homogenität des Lebergewebes könnte dann auch bei diffusen Hepatopathien von Nutzen sein, bei denen primär keine fibrotischen Veränderungen präsent sind. Sobald zusätzlich eine Steatosis hepatis vorliegt, ist ASQ für die Fibrosedetektion nicht zuverlässig [12]. Erste Arbeiten, beispielsweise von Karlas et al. [11] untersuchten ASQ bezüglich der Möglichkeit einer Quantifizierung des Leberfettgehaltes. Die vorläufigen Ergebnisse zeigen bereits eine gute Korrelation der ASQ-Messungen mit denen des FibroScans oder des MRTs.

4.2. Virtual Touch Tissue Quantification

Auf Grund einer intensiven Forschung mit der Scherwellenelastographie, gibt es bereits zahlreiche publizierte Studien und einige größere gepoolte Meta-Analysen [4,19] zum Thema Fibroseerkennung mittels ARFI-Technologie. Eine dieser Meta-Analysen [19] von Nierhoff et al. mit 36 eingeschlossenen Studien und 3951 Patienten fasst die recht einheitlichen Studienergebnisse für die Scherwellenelastographie zusammen. Nierhoff et al. [19] konnten die Zuverlässigkeit (AUC=0,89) der Scherwellenelastographie für die Detektion der Fibrosegrade >F2 bestätigen. Der CutOff-Wert für die ausgeprägte Fibrose lag in der Analyse bei 1,61 m/s und unterscheidet sich nur geringfügig von den 1,66m/s, die bei dieser Arbeit als CutOff-Wert ermittelt wurden [12]. Eine akkurate Abgrenzung des Fibrorestadiums F1 gelang in keiner der inkludierten Studien.

Gründe für die Diskrepanzen zwischen den Studienergebnissen sind möglicherweise die für die Leberbiopsate definierten Qualitätsmerkmale. In der Meta-Analyse von Bota et al. [4] zeigte sich, dass während einzelne Studien keine Mindestlänge der Leberbiopsie oder Mindestanzahl an Portaltrakten definieren, für andere Arbeiten teils Mindestlängen von 2cm bei mindestens 10 beurteilbaren Portaltrakten galten. Letztere Qualitätsstandards konnten aber auch bei meiner Arbeit nicht eingehalten werden und mussten zu Gunsten einer größeren Fallzahl auf eine Mindestlänge von 1cm und Mindestanzahl von 4 Portaltrakten abgemindert werden [12]. Damit steigt jedoch das Risiko für Fehlbeurteilungen durch den Pathologen.

Zur Verringerung von Messfehlern wurde in vielen Arbeiten ein maximales Verhältnis von Interquartilenabstand zu Median von 30% definiert [7]. Das soll vermeiden, dass starke

Abweichungen durch Messfehler nicht gewertet werden. Da wir bei dieser Arbeit bewusst in unterschiedlichen Messlokalisationen in vergleichbarer Tiefe gemessen haben, wurde auf die 30%-Beschränkung verzichtet [12]. Die Möglichkeit der flächendeckenden Untersuchung der Leber stellt einen der größten Vorteile gegenüber der Punktion dar und kann durch mehrere Messungen in unterschiedlichen Segmenten und Arealen bei vergleichbarer Tiefe am besten ausgenutzt werden. Messungen in der näheren Umgebung von Gefäß- oder Bindegewebsstruktur müssen hierfür ausgeschlossen werden können. Innerhalb unseres Probandenkollektivs können wir von einem Fall berichten [12], der mit einem IQR/Median=104% die höchste Standardabweichung aufwies. Histopathologisch konnte nur eine minimale Fibrose nachgewiesen werden, im Untersuchungsbefund der Laparoskopie wurde hingegen von einzelnen weißen fibrotischen Narben, als Zeichen einer beginnenden Fibrose berichtet. Drei der insgesamt sechs Messungen dieses Patienten lagen unter 1,57m/s, die Restlichen über 2,42m/s. Auf Grund dieser großen Lücke ist denkbar, dass die hohen Werte von den fokalen Gewebsnarben verursacht sein könnten. Auch bei grobknotigen Veränderungen ist es möglich, dass durch einen zu streng gewählten IQR/Median, Messergebnisse fälschlicherweise abgelehnt werden [12].

In einem weiteren Fall [12] konnte gezeigt werden, dass bei grobknotigen Veränderungen zusätzlich Fehlberurteilungen durch die Pathologie entstehen können. Während der Pathologie bei diesem Patienten lediglich ein Fibrorestadium F2 diagnostizierte, zeigte sich bei der laparoskopischen Untersuchung das Bild einer makronodulären Leberzirrhose. Die hierfür gemessenen Scherwellengeschwindigkeiten betrug alle über 4 m/s und deuteten passend zum makroskopischen Befund auf eine signifikante Elastizitätsabnahme hin. Hier wird deutlich, wie durch die Berücksichtigung der elastographischen Befunde ein Zusatznutzen für die klinische Diagnostik entstehen kann, vor allem, wenn kein laparoskopischer Untersuchungsbefund vorliegt [12]. Dies konnte auch im folgenden Fall bestätigt werden. Obwohl bei einem Probanden histologisch ein Fibrorestadium F2 bestätigt wurde, ergaben sich bei der elastographischen Untersuchung physiologische Messwerte von etwa 1 m/s. Es handelte sich dabei um einen Patienten mit unklarer GGT-Erhöhung mit einer unklaren fokalen Läsion im linken Leberlappen. Die Leberfunktion war nicht eingeschränkt. Während der laparoskopischen Intervention konnten zwei Gewebsentnahmen durchgeführt werden. Eine davon im Bereich der fokalen Läsion und eine im umliegenden Parenchym. Histologisch war die Läsion nicht malignitätsverdächtig

und ähnelte makroskopisch einer fibrotischen Gewebnarbe unklarer Genese. Die Biopsate wurden jedoch nicht separat, sondern generalisierend beurteilt. Dies hatte zur Folge, dass eine generalisierte Leberfibrose im Stadium F2 diagnostiziert wurde. Auch laparoskopisch stellten sich bis auf die fokale Narbe, keine morphologischen Auffälligkeiten dar. In diesem Fall hätte die Berücksichtigung der normwertigen Scherwellengeschwindigkeiten den behandelnden Arzt auf eine mögliche Fehlbeurteilung, beziehungsweise Misskommunikation hinweisen können.

Um eine erweiterte Einsatzmöglichkeiten der ARFI-Technologie für die Leberdiagnostik zu prüfen, versuchten einige Studien [3,16,33] die Gewebsteifigkeit der Milz in die elastographische Befundung zu integrieren. Die Studienergebnisse weisen bezüglich der Milzsteifigkeiten teils Diskrepanzen auf. Während Ye et al. [33] signifikante Unterschiede für die Milzsteifigkeit bei den verschiedenen Graden von Ösophagusvarizen darstellen konnten, gelang dies Bota et al. [3] und Mori et al. [16] nicht. Mori et al. [16] konnten eine signifikante Korrelation zwischen den Steifigkeitsmessungen der Leber und Milz bei Hepatitis C Patienten nachweisen ($r_s=0,68$; $p<0,01$). Für unser Patientenkollektiv konnten wir keine signifikanten Zusammenhänge mit den Fibrosestadien, den Scherwellengeschwindigkeiten der Leber, dem Pfortaderdurchmesser und dem mittleren Pfortaderfluss nachweisen. Ein durch die virale Genese zusätzlich entstandener immunologischer Effekt auf die Milzsteifigkeit bei Hepatitis C Patienten kann nicht ausgeschlossen werden. Des Weiteren konnte in unserer Studie gezeigt werden, dass durch eine gedachte Unterteilung der Milz in ein kraniales, mittleres und unteres Segment statistisch signifikante Unterschiede bei den Scherwellengeschwindigkeiten nachweisbar waren. Da die Patienten in Rückenlage mit leicht erhöhtem Oberkörper untersucht wurden, wäre es möglich, dass durch die Schwerkraft eine Blutspiegelbildung im unteren Segment auftritt. Zusätzlich ist der kaudale Pol fester mit den umliegenden Organen verbunden, was die Messergebnisse ebenfalls beeinflussen könnte. Diese Beobachtung sollte für folgende Untersuchungen weiter untersucht und berücksichtigt werden. Insgesamt konnte die bereits in zahlreichen Arbeiten akkreditierte hohe Zuverlässigkeit der ARFI-Scherwellenelastographie auch für dieses Patientenkollektiv bestätigt werden. Eine Kombination mit ASQ war auf Grund dessen Ungenauigkeiten bei der Detektion der Fibrose nicht möglich.

4.3. Virtual Touch Imaging & Quantification

Die eigentlich für oberflächliche Strukturen entwickelte Technik ist bisher kaum für die Untersuchung der Leber evaluiert. Von Leschied et al. [15] stammt eine Studie, die dieses Verfahren zur Diagnose von Hepatopathien bei Säuglingen nutzte. Dabei konnten für die angeborene Gallengangsatresie erhöhte Scherwellengeschwindigkeiten gegenüber anderen Hepatopathien nachgewiesen werden. Da Kinder mit einer angeborenen Gallengangsatresie schon sehr früh eine Leberfibrose entwickeln, stellte sich VTIQ hierfür als hochsensitive Diagnosemöglichkeit dar. Auf Grund der drohenden Komplikationen ist ein frühzeitiges Erkennen und Eingreifen von größter Wichtigkeit. Die Limitationen, die bei unserer Studie auftraten, hingen vor allem mit der verringerten Eindringtiefe durch den hochfrequenten Linearschallkopf zusammen [12]. Bei Kleinkinder ist dieser Nachteil wegen der kleineren Proportionen nicht gegeben.

Eine nicht nachvollziehbare technische Limitation des VTIQ stellt die Akquirierung der Messdaten innerhalb der großen primären ROI dar. Obwohl für alle farblich kodierten Areale innerhalb der primären ROI Messwerte existieren, können diese nur mit kleineren sekundären ROIs einzeln abgefragt werden. Hohe Scherwellengeschwindigkeiten werden farblich rot dargestellt, während sich mittlere grün und niedrige blau darstellen. Um die Häufigkeiten der vorkommenden Scherwellengeschwindigkeit zu quantifizieren, führten Leschied et al. [15] erfolgreich eine Analyse der Rot-Grün-Blau (RGB)-Kanäle des farblich kodierten Messareals durch. Wegen des kleinen Bildausschnittes durch die geringe Eindringtiefe, war dies bei uns allerdings nicht möglich.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen zwar das VTIQ durchaus in der Lage ist höhere Fibrosestadien abzugrenzen, wegen der im Vergleich zu VTTQ etwas längeren Messdauer, ist diese Technik jedoch anfälliger für Mess- und Bewegungsartefakte [12]. Durch die Einschränkungen der Messtiefe kann je nach Habitus des Patienten nur im kapselnahen Bereich gemessen werden [12]. Für die Beurteilung der Steifigkeit oberflächlicher Strukturen stellt VTIQ eine vielversprechende Methode dar, die womöglich zusätzlich in der Pädiatrie von Nutzen werden könnte. Bezüglich der Diagnostik diffuser Hepatopathien scheint VTTQ die bessere Wahl zu sein [12].

5. Zusammenfassung

Für die Diagnostik diffuser Hepatopathien ist in vielen Fällen immer noch eine Leberbiopsie zur Fibrosedetektion von Nöten. Obwohl auf Grund ihrer invasiven Art ein gewisses Risiko für Komplikationen besteht und dazu Beurteilungsfehler nicht ausgeschlossen werden können, gilt sie bis heute als Goldstandard der Diagnostik diffuser Hepatopathien. Neuere nichtinvasive Ultraschallverfahren bieten die Möglichkeit einer Elastizitätsmessung, sowie einer Homogenitätsanalyse des Leberparenchyms. Letzteres wird durch „Acoustic Structure Quantification“ (ASQ) erstmal quantitativ ermöglicht, ist aber bisher noch wenig in der Klinik erforscht. Ziel dieser Arbeit war es deshalb ASQ, anhand zweier bereits etablierter Verfahren, der Scherwellenelastographie für die Elastizitätsmessung, sowie der Leberbiopsie für die histologische Beurteilung zu evaluieren.

Hierfür wurden 51 Patienten, die für eine diagnostisch indizierte Leberpunktion in das Universitätsklinikum Ulm einbestellt waren, in die Studie eingeschlossen. Alle Patienten wurden kurz vor ihrer laparoskopischen oder ultraschallgesteuerten Leberpunktion sonographisch untersucht. Für die elastographische Beurteilung kamen zwei Verfahren von Siemens zum Einsatz, dem Virtual Touch Tissue Quantification (VTTQ) und dem Virtual Touch Imaging & Quantification (VTIQ). Während VTTQ Einzelmessungen in bis zu 8 cm Tiefe zulässt, ist es mit VTIQ durch den Linearschallkopf möglich, größere Bereiche zu erfassen, wobei die Eindringtiefe wegen der höheren Frequenz geringer ist. Die Homogenitätsanalyse wurde mit dem bereits erwähnten ASQ der Firma Toshiba durchgeführt. Als Vergleichswert wurden die histologisch bestimmten Fibrosestadien nach Desmet und Scheuer herangezogen.

Bezüglich ASQ konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit den Fibrosestadien nachgewiesen werden. Es zeigte sich jedoch, dass für die Mittelwerte und Spitzenwerte der Homogenitätsanalyse ein signifikant negativer Zusammenhang mit dem Steatosegrad der Leber bestand. Dies konnte auch schon in einer anderen Arbeit in einem Tierexperiment gezeigt werden. Man geht davon aus, dass die Fetteinlagerungen kleinere Störstrukturen überlagern und somit das Ultraschallbild homogenisieren. In den bisher publizierten Studien mit positiven Ergebnissen, wurde eine eventuell vorliegende Leberverfettung vernachlässigt. Auf Grund dieser Tatsache, sowie den Ungenauigkeiten bei der Auswertung konnte für ASQ noch kein diagnostischer Vorteil für die Detektion einer Leberfibrose

aufgezeigt werden. Ob ASQ für die Quantifizierung des Fettgehaltes der Leber klinisch von Nutzen werden könnte, wird bereits in anderen Studien geprüft. Wegen der ambivalenten Datenlage bezüglich ASQ, war keine Kombination mit der Elastographie möglich.

Für die Scherwellenelastographie entsprachen die Ergebnisse denen der bereits publizierten Studien. Während die geringeren Fibrosestadien nur schwer zu differenzieren waren, gelang dies für die Fibrosestadien größer F2 statistisch hochsignifikant. Für VTTQ konnte eine hohe Sensitivität für die Detektion der Fibrosestadien größer F2 nachgewiesen werden. Weitere Einflüsse auf die Scherwellenelastographie konnten bei dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden. Auch mittels VTIQ gelang die Differenzierung der Fibrosestadien > F2. Da die Eindringtiefe bei VTIQ vor allem bei adipösem Habitus stark begrenzt war, ist dieses Verfahren für die Diagnostik diffuser Hepatopathien eher ungeeignet, könnte aber wegen den veränderten Schallbedingungen in der Pädiatrie von Nutzen werden. VTTQ hingegen könnte beispielsweise zur Verlaufskontrolle chronischer Hepatitiden eingesetzt werden. Des Weiteren ist es hilfreich bei der Verifizierung histologischer Erstbefunde im Hinblick auf die Möglichkeit einer ganzheitlichen Untersuchung der Leber.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, Kench J, Farrell G, McCaughan GW, Jeffrey GP: Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem* 51: 1867-1873 (2005)
- [2] Bedossa P, Dargère D, Paradis V: Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 38: 1449-1457 (2003)
- [3] Bota S, Sporea I, Sirli R, Popescu A, Dănilă M, Sendroiu M, Focșa M: Spleen assessment by Acoustic Radiation Force Impulse Elastography (ARFI) for prediction of liver cirrhosis and portal hypertension. *Med Ultrason* 12: 213-217 (2010)
- [4] Bota S, Herkner H, Sporea I, Salzl P, Sirli R, Neghina AM, Peck-Radosavljevic M: Meta-analysis: ARFI elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis. *Liver Int* 33: 1138-1147 (2013)
- [5] Delgado JS, Vodonos A, Malnick S, Kriger O, Wilkof-Segev R, Delgado B, Novack V, Rosenthal A, Menachem Y, Melzer E, Fich A: Autoimmune hepatitis in southern Israel: a 15-year multicenter study. *J Dig Dis* 14: 611-618 (2013)
- [6] Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ: Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 19: 1513-1520 (1994)
- [7] Frulio N, Trillaud H: Ultrasound elastography in liver. *Diagn Interv Imaging* 94: 515-534 (2013)
- [8] Gerstenmaier JF, Gibson RN: Ultrasound in chronic liver disease. *Insights Imaging* 5: 441-455 (2014)
- [9] Guo Y, Parthasarathy S, Goyal P, McCarthy RJ, Larson AC, Miller FH: Magnetic resonance elastography and acoustic radiation force impulse for staging hepatic fibrosis: a meta-analysis. *Abdom Imaging* DOI: 10.1007/s00261-014-0137-6 (2014)
- [10] Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poinard T, MULTIVIRC group: Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *The Lancet* 357: 1069-1075 (2001)

- [11] Karlas T, Berger J, Garnov N, Chakaroun R, Wiegand J, Keim V: Acoustic Structure Quantification (ASQ): eine Ultraschall-basierte Methode zur Quantifizierung des Leberfettgehalts. *Ultraschall in Med* DOI: 10.1055/s-0034-1389382 (2014)
- [12] Keller J, Kaltenbach TE, Haenle MM, Oeztuerk S, Graeter T, Mason RA, Seufferlein T, Kratzer W: Comparison of Acoustic Structure Quantification (ASQ), shearwave elastography and histology in patients with diffuse hepatopathies. *BMC Medical* 15:58. DOI: 10.1186/s12880-015-0100-1 (2015)
- [13] Krämer C, Jaspers N, Nierhoff D, Kuhr K, Bowe A, Goeser T, Michels G: Acoustic Structure Quantification Ultrasound Software Proves Imprecise in Assessing Liver Fibrosis or Cirrhosis in Parenchymal Liver Diseases. *Ultrasound Med Biol* DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2014.07.020 (2014)
- [14] Kuroda H, Kakisaka K, Kamiyama N, Oikawa T, Onodera M, Sawara K, Oikawa K, Endo R, Takikawa Y, Suzuki K: Non-invasive determination of hepatic steatosis by acoustic structure quantification from ultrasound echo amplitude. *World J Gastroenterol* 18: 3889-3895 (2012)
- [15] Leschied JR, Dillman JR, Bilhartz J, Heider A, Smith EA, Lopez MJ: Shear wave elastography helps differentiate biliary atresia from other neonatal/infantile liver diseases. *Pediatr Radiol* DOI: 10.1007/s00247-014-3149-z (2014)
- [16] Mori K, Arai H, Abe T, Takayama H, Toyoda M, Ueno T, Sato K: Spleen stiffness correlates with the presence of ascites but not esophageal varices in chronic hepatitis C patients. *Biomed Res Int* DOI: 10.1155/2013/857862 (2013)
- [17] Mueller M, Kratzer W, Oeztuerk S, Wilhelm M, Mason RA, Mao R, Haenle MM: Percutaneous ultrasonographically guided liver punctures: an analysis of 1961 patients over a period of ten years. *BMC Gastroenterol* 12: 173 (2012)
- [18] National Institutes of Health Consensus Statement on Management of Hepatitis C. *NIH Consens State Sci Statements* 19: 1-46 (2002)
- [19] Nierhoff J, Chávez Ortiz AA, Herrmann E, Zeuzem S, Friedrich-Rust M: The efficiency of acoustic radiation force impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Eur Radiol* 23: 3040-3053 (2013)

- [20] Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Imanaka K, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Nagase T, Inui Y, Hijioka T, Tamura S, Yoshihara H, Hayashi E, Imai Y, Kato M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Ishida H, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N: The efficacy of extended treatment with pegylated interferon plus ribavirin in patients with HCV genotype 1 and slow virologic response in Japan. *J Gastroenterol* 46: 944-952 (2011)
- [21] Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Capron F, Poynard T, LIDO Study Group: Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 128: 1898-1906 (2005)
- [22] Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER: Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 97: 2614-2618 (2002)
- [23] Ricci P, Marigliano C, Cantisani V, Porfiri A, Marcantonio A, Lodise P, D'Ambrosio U, Labbadia G, Maggini E, Mancuso E, Panzironi G, Di Segni M, Furlan C, Masciangelo R, Taliani G: Ultrasound evaluation of liver fibrosis: preliminary experience with acoustic structure quantification (ASQ) software. *Radiol Med* 118: 995-1010 (2013)
- [24] Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD: Liver biopsy. *Hepatology* 49: 1017–1044 (2009)
- [25] Seeff LB, Everson GT, Morgan TR, Curto TM, Lee WM, Ghany MG, Shiffman ML, Fontana RJ, Di Bisceglie AM, Bonkovsky HL, Dienstag JL, HALT–C Trial Group: Complication rate of percutaneous liver biopsies among persons with advanced chronic liver disease in the HALT-C trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 8: 877-883 (2010)
- [26] Schuppan D, Schattenberg JM: Non-alcoholic steatohepatitis: pathogenesis and novel therapeutic approaches. *J Gastroenterol Hepatol* 28: 68-76 (2013)
- [27] Takaki S, Kawakami Y, Miyaki D, Nakahara T, Naeshiro N, Murakami E, Tanaka M, Honda Y, Yokoyama S, Nagaoki Y, Kawaoka T, Hiramatsu A, Tsuge M, Hiraga N, Imamura M, Hyogo H, Aikata H, Takahashi S, Arihiro K, Chayama K: Non-invasive liver fibrosis score calculated by combination of virtual touch tissue quantification and serum liver functional tests in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res* 44: 280-287 (2014)

- [28] Toyoda H, Kumada T, Kamiyama N, Shiraki K, Takase K, Yamaguchi T, Hachiya H: B-mode ultrasound with algorithm based on statistical analysis of signals: evaluation of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *AJR Am J Roentgenol.* 193: 1037-1043 (2009)
- [29] Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS: A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 38: 518-526 (2003)
- [30] Yamada H, Ebara M, Yamaguchi T, Okabe S, Fukuda H, Yoshikawa M, Kishimoto T, Matsubara H, Hachiya H, Ishikura H, Saisho H: A pilot approach for quantitative assessment of liver fibrosis using ultrasound: preliminary results in 79 cases. *J Hepatol* 44: 68-75 (2006)
- [31] Yamaguchi T, Hachiya H, Kamiyama N, Ikeda K, Moriyasu F: Estimation of characteristics of echo envelope using RF echo signal from the liver. *Jpn J Appl Phys* 40: 3900-3904 (2001)
- [32] Yamaguchi T, Hachiya H, Kamiyama N, Moriyasu F: Examination of the spatial correlation of statistics information in the ultrasonic echo from diseased liver. *Jpn J Appl Phys* 41: 3585-3589 (2002)
- [33] Ye XP, Ran HT, Cheng J, Zhu YF, Zhang DZ, Zhang P, Zheng YY: Liver and spleen stiffness measured by acoustic radiation force impulse elastography for noninvasive assessment of liver fibrosis and esophageal varices in patients with chronic hepatitis B. *J Ultrasound Med* 31: 1245-1253 (2012)

Lebenslauf**Jan Keller****Angaben zur Person**

Name	Jan Keller
Geburtsdatum	23.05.1990
Geburtsort	Ulm

Schule

1996 – 2000	Bischof-Ulrich-Grundschule Illertissen
2000 – Juni 2009	Allgemeine Hochschulreife am Kolleg der Schulbrüder in Illertissen

Zivildienst

Juli 2009 – März 2010	Zivildienst in der Illertalklinik Illertissen
-----------------------	---

Praktika

März 2010	Einwöchiges Praktikum in der Anästhesie im OP-Bereich der Illertalklinik Illertissen
April – Juni 2010	Dreimonatiges Pflegepraktikum in der Donauklinik Neu-Ulm, davon einen Monat auf einer internistischen Station und zwei Monate auf der anästhesiologischen Intensivstation

Studium

Oktober 2010	Beginn des Medizinstudiums an der Universität Ulm
September 2012	Ersten Staatsexamens
Februar 2013	Einmonatige Famulatur im zentralen Ultraschall der Uniklinik Ulm
August 2013	Einmonatige Famulatur in der Kardiologie der Uniklinik Ulm
März 2014	Einmonatige Famulatur auf der anästhesiologischen Intensivstation im Klinikum Kempten
August 2014	Einmonatige Famulatur in einer Allgemeinarztpraxis in Buch
Oktober 2015	Zweiten Staatsexamens
November 2015	Beginn des praktischen Jahres im EK Ravensburg
November 2016	Approbation und Erlangen des Doktor-Grades

Doktorarbeit

Februar 2013	Beginn der Doktorarbeit bei Herrn Prof. Kratzer in der Uniklinik Ulm zum Thema „Vergleich von Acoustic Structure Quantification, Scherwellen-elastographie und Histologie bei Patienten mit diffusen Hepatopathien“
Januar 2016	Abschluss der Doktorarbeit

Publikationen

Oktober 2014	Kongressbeitrag beim Dreiländertreffen der DEGUM/ÖGUM/SGUM in Innsbruck
September 2015	Kongressbeitrag zur 70. Jahrestagung der DGVS in Leipzig
Dezember 2015	Veröffentlichung des Papers „Comparison of Acoustic Structure Quantification (ASQ), shearwave elastography and histology in patients with diffuse hepatopathies“ im BMC Medical Imaging