

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

I. Medizinische Klinik und Poliklinik für Gastroenterologie

mit den Sektionen Infektiologie und Tropenmedizin

Direktor: Prof. Dr. med. Ansgar W. Lohse

**Nicht invasive Diagnostik der Leberzirrhose mittels transienter
Elastographie (Fibroscan) bei Patienten mit chronischer
Lebererkrankung im Vergleich zur mini-laparoskopischen
Zirrrosediagnostik**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Christoph Imiela

aus Hamburg

Hamburg 2015

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 12.10.2015

Veröffentlicht mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. Ulrike Denzer

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Hans-Helmut König

~~Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in:~~

1. EINLEITUNG.....	7
1.1 Leberzirrhose	8
1.1.1 Definition	8
1.1.2 Äthiologie	8
1.1.3 Epidemiologie.....	9
1.1.4 Klinische Zeichen und Stadieneinteilung.....	9
1.1.5 Pathophysiologische Grundlagen.....	10
1.1.6 Histologische Einteilung	12
1.1.7 Prognose.....	15
1.1.8 Komplikationen.....	16
1.2 Bisherige Diagnostik	16
1.2.1 Leberbiopsie der ideale Goldstandart?.....	16
1.2.1.1 Histologie	17
1.2.1.2 Biopsie - Percutane Leberbiopsie vs. Minilaparoskopie	18
1.2.1.3 Indikation.....	18
1.2.1.4 Komplikationen	19
1.3 Direkte und Indirekte Fibrosetests	19
1.4 Konventionelle bildgebende Verfahren	20
1.5 Transiente Elastographie (FibroScan®).....	21
1.6 Zielsetzung und Fragestellung.....	24
 2. MATERIAL UND METHODEN	 25
2.1 Studienkollektiv	25
2.2 Indikation zur Leberbiopsie	25
2.3 Ein- und Ausschlusskriterien der klinischen Studie.....	25
2.4 Studiendesign	26

2.5 Definition des ML/Histo- Mischscores (Minilaparoskopie/ Histologie- Mischscore)	29
2.6 Statistik	30
3. ERGEBNISSE	31
3.1 Charakterisierung der Gruppen:	31
3.1.1 Verteilung der Diagnosen und Geschlechteraufteilung	31
3.1.2 Alter, Laborwerte und Leberelastizität	33
3.1.3 Anzahl der Portalfelder und Stanzzyylinderlänge	34
3.1.4 Verteilung der Fibrosegrade bezogen auf das Gesamtkollektiv und dessen Subgruppen	35
3.1.5 Verteilung der Entzündungsparameter auf das Gesamtkollektiv und dessen Subgruppen.	36
3.1.6 Verteilung der Fibroseklassifizierung des Gesamtkollektivs und dessen Subgruppen bezogen auf den Minilaparoskopie / Histologie Mischscore (ML/Histo Mischscore)	37
3.1.7 Zirrhosediagnostik im Vergleich: Minilaparoskopie versus Histologie	37
3.2 Korrelation der Leberelastizitätswerte in Abhängigkeit vom histologischen Staging in Hinblick auf das Gesamtkollektiv und dessen Subgruppen.	40
3.2.1 Gesamtkollektiv	40
3.2.2 Subgruppen	42
3.3 Varianzanalyse der Einzelfaktoren bezogen auf die Histologie und den ML/Mischscore.	46
3.3.1 Varianzanalyse der Diagnosegruppen und dem histologischen Staging.	46
3.3.2 Varianzanalyse der Diagnosegruppen und dem ML/Mischscore	50
3.4 ROC (Receiver- operating characteristics) Kurven	54
3.4.1 ROC- Kurve FS/Histo (Fibroscan/Histologie): Gesamtkollektiv	55
3.4.2 ROC-Kurve FS/Mischscore (Fibroscan/Minilaparoskopie-Histologie Mischscore)	57
3.5 Diagnostische Genauigkeit der transienten Elastographie im Vergleich	59

4. DISKUSSION	60
4.1 Qualität der Leberelastizitätsmessung	61
4.2 Qualität der Leberhistologie	63
4.3 Vergleich der Zirrhosedagnostik: Transiente Elastographie gegenüber dem histologischen Staging (FS/Histo)	63
4.4 Einfluss der Diagnose auf die Steifigkeitsmessung	65
4.5 Vergleich der diagnostischen Genauigkeit in der Zirrhosedagnostik zwischen transienter Elastographie und Histologie gegenüber transienter Elastographie und laparoskopisch/histologischer Beurteilung.....	66
4.6 Einfluss der Entzündungsaktivität auf die Leberelastizität	70
4.7 Transiente Elastographie als Screeningmethode	71
4.8 Check up.....	72
4.9 Monitoring des Krankheitsprogresses.....	72
4.10 Stellenwert der transienten Elastographie innerhalb der nicht-invasiven Fibrosediagnostik	73
4.11 Methodenkritik	74
5. ZUSAMMENFASSUNG	76
6. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	78
7. LITERATURVERZEICHNIS	82
8. DANKSAGUNG	92

9. LEBENSLAUF	94
----------------------------	-----------

10 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	95
--	-----------

1. Einleitung

Die Leberzirrhose ist eine der komplexesten Erkrankungen im Bereich der Inneren Medizin. Ein weites Spektrum unterschiedlicher chronischer Lebererkrankungen kann zur Leberzirrhose führen. Während einige Patienten symptomlos bleiben, versterben andere an den vielfältigsten Komplikationen, die fast jedes Organ betreffen können. Die Leberzirrhose ist das Endstadium einer Vielzahl unterschiedlicher chronischer Erkrankungen, deren Verlauf sich im kontinuierlichem Umbau des Leberparenchyms widerspiegelt. Da die Therapie jeweils in verschiedenen Stadien der Leberfibrose unterschiedlich ist, muss dementsprechend eine gründliche prätherapeutische Diagnostik durchgeführt werden, um den einzelnen Patienten die angemessene Therapie zukommen zu lassen [3]. Für die chronisch viralen Hepatitiden wurde die Bedeutung des histologischen Fibrosegrades als prognostischer Faktor für die Zirrhoseprogression [20,44] und für das Ansprechen der antiviralen Therapie nachgewiesen [45].

Entgegen früherer Ansichten ist die Leberfibrose nicht *a priori* irreversibel, sondern es besteht Evidenz, dass selbst fortgeschrittene Stadien bei Abwesenheit von Sekundärkomplikationen aufhaltbar bis umkehrbar sind [10]. Ein mittlerweile weit reichendes Verständnis der pathophysiologischen Abläufe der Leberfibrose hat zur Identifizierung von neuen therapeutischen Targets geführt, die eine frühe Diagnosestellung der Leberfibrose essentiell machen.

Der Goldstandard in der Fibrosedetektion und Graduierung stellt zurzeit die histologische Untersuchung mittels Leberbiopsie dar und wird in dieser Studie als Referenz für die Stadieneinteilung des Fibroscan verwendet. Die makroskopische Beurteilung der Leber im Rahmen der laparoskopisch gewonnenen Biopsie ergänzt die histologische Diagnose. Da die Biopsie aber auf Grund der Invasivität mit zahlreichen Komplikationen einhergeht und Untersuchungs- und geldaufwändig ist, stellt sich die Frage nach neuen nichtinvasiven Diagnostikmethoden als Ergänzung zur Biopsie. Zudem müssen um den unmittelbaren Erfolg der Therapiemaßnahmen messen zu können, engmaschige Kontrollen der Leberfibrose gewährleistet sein. Dies ist mit der Leberbiopsie nicht möglich. Der Fibroscan stellt daher, wegen seines unkomplizierten Einsatzes und der graduellen Darstellbarkeit der Lebersteifigkeit als Zeichen des Fibrosegrades, ein vielversprechendes Diagnostikum dar, welches sogar kleinste Veränderungen im Verlaufe der Therapie wiedergibt.

In den letzten Jahren wurden bereits diverse nicht invasive Verfahren untersucht und entwickelt. Die meisten Studiendaten liegen hierbei über die transiente Elastographie vor. Jedoch überwiegend auf der Basis viraler und toxischer Hepatitiden, Mischkollektive sind bislang kaum in größeren Studien untersucht worden.

Die Minilaparoskopie als ergänzendes Diagnostikum zur Histologie wurde in diesem Zusammenhang bislang noch nicht untersucht.

1.1 Leberzirrhose

1.1.1 Definition

Bei der Leberzirrhose handelt es sich um ein irreversibles Endstadium verschiedener schwerer, entzündlicher und nekrotisierender Lebererkrankungen und umfasst das ganze Organ. Es findet ein narbiger Umbau des Bindegewebes mit Einschränkung der normalen Leberfunktion statt. Hierbei beschreibt die WHO die Zirrhose als einen diffusen Prozess, der durch Fibrose und Umwandlung der normalen Läppchenarchitektur zu abnormen nodulären Regeneratknoten führt. Der Übergang der Fibrose zur Zirrhose ist fließend, der entscheidende Unterschied liegt darin begründet, dass in der zirrhotisch umgebauten Leber die Läppchen- und Gefäßstrukturen zerstört sind [46].

1.1.2 Äthiologie

Die Leberzirrhose ist äthiologisch uneinheitlich. Die zur Zirrhose führenden Prozesse sind aber meist ausgeprägtere und rezidivierende Leberzellnekrosen gemeinsam, die schließlich zu Zerstörung der Leberarchitektur führen.

In Mitteleuropa und Nordamerika ist der Alkoholabusus (mikronodulär) mit 50% die häufigste Ursache, gefolgt von der chronischen Virus Hepatitis(B,C,D; makronodulär gemischt) mit 20-25%. In Afrika und Asien steht mit bis zu 90% die chronische Virushepatitis an erster Stelle. Biliär(primär,sekundär) bedingte Zirrhosen(5-10%), Hämochromatose(5%), andere Stoffwechselerkrankungen(<1%) und kardiovaskuläre Erkrankungen wie Budd-Chiari-Syndrom und Rechtsherzinsuffizienz können weitere Ursachen darstellen. Idiopathische Ursachen stellen 10-20% der Ursachen dar.

Seltener kommen Ursachen wie Autoimmune chronische Hepatitis, medikamenteninduzierte und toxische Leberschädigungen vor [2].

1.1.3 Epidemiologie

Exakte Daten über die Häufigkeit der Leberzirrhose für die Bundesrepublik Deutschland liegen nicht vor. Man schätzt, die Zahl der Neuerkrankungen auf 250 Patienten pro 100.000 Einwohner pro Jahr. Für das Jahr 1997 lag die Zahl der Todesfälle an einer chronischen Lebererkrankung bei 19.000 (2,2 % aller Todesfälle). Die tatsächliche Prävalenz chronischer Lebererkrankungen ist vermutlich höher. Autopsie Studien zeigten in rund 4-10% aller Verstorbenen zirrhotische Leberveränderungen [3]. Zahlenmäßig spielen als Auslöser der Leberzirrhose weltweit die viralen Hepatitiden (Hepatitis-B/-C), sowie die alkohol-induzierte und die nicht-alkohol induzierte Steatohepatitis die führende Rolle. Man schätzt, dass für die BRD der Hauptteil der Zirrhosen auf chronischen Alkoholabusus zurückgeführt werden kann (ca. 40-60%). Ein etwas kleinerer Anteil auf die virus-induzierten Hepatitiden (ca. 25-30%) [3].

1.1.4 Klinische Zeichen und Stadieneinteilung

Die klinische Manifestation der Leberzirrhose variiert stark und hängt von der Art und dem Ausmaß der zugrunde liegenden Lebererkrankung ab. In einem Anfangsstadium ist ein großer Anteil der Patienten (bis zu 40%) zunächst subjektiv symptomlos [12]. Auch die Laborparameter sowie konventionelle bildgebende Verfahren können unauffällig bzw. nicht richtungweisend sein. Diese klinische Latenzphase der Leberzirrhose kann über eine Dekade dauern und führt zu einer häufigen Unterdiagnose und Unterbewertung des Problems eines zunehmenden fibrotischen Leberumbaus im Rahmen chronischer Lebererkrankungen. Stellen sich sekundäre Komplikationen eines erhöhten portal-venösen Strömungswiderstandes und einer verminderten Clearance ein, wie eine Aszitisbildung, Varizenblutung, Ikterus, Enzephalopathie, ist ein rascher klinischer Verfall die Regel. Für erwachsene Patienten haben in diesem Stadium unter konventioneller Therapie eine 5-

Jahresüberlebensrate von rund 50%, wobei die meisten Todesfälle direkt mit der Lebererkrankung in Zusammenhang stehen [2].

Die Stadieneinteilung der Leberzirrhose wird mittels der Child-Pugh-Klassifikation vorgenommen [13]. Es wird anhand von fünf Kriterien (drei Laborwerte und zwei klinische Befunde) eine Gesamtpunktzahl erstellt, wobei jeweils 1-3 Punkte vergeben werden, so dass ein Score von 5-15 Punkten erreicht werden kann.

Tab.1 Child-Pugh-Kriterien, Klassifikation zur Stadieneinteilung der Leberzirrhose

Kriterium	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte	Einheit
Serum-Bilirubin (gesamt)	<2,0	2,0 - 3,0	>3,0	mg/dl
Serum-Albumin	>3,5	2,8 - 3,5	<2,8	g/dl
INR	<1,7	1,7 - 2,2	>2,2	ohne Einheit
Aszites im Ultraschall	keiner	leicht	mittelgradig	ohne Einheit
hepatische Enzephalopathie	keine	Stadium I-II	Stadium III-IV	ohne Einheit

Die Stadieneinteilung erfolgt basierend auf dem errechneten Punktwert: 5-6 Punkte = Stadium A; 7-9 Punkte = Stadium B; 10-15 Punkte = Stadium C.

Gleichzeitig lässt sich anhand dieser Stadieneinteilung die Prognose für den Patienten abschätzen (1-Jahres-Überlebensrate: Stadium A = $\approx$ 100%; B = 85%; C = 30%).

1.1.5 Pathophysiologische Grundlagen

Meist geht die Zirrhose aus einer mit chronischem Verlauf gekennzeichneten Erkrankung hervor, bei der oft zuvor Stadien einer Leberfibrose zu erkennen waren. Charakteristisches histopathologisches Zeichen einer Leberzirrhose ist die Entstehung fibrotischer Gewebebrücken zwischen Portalfeldern und Zentralvenen, sog. portoportale und portozentrale Brückenbildung. Dabei kommt es zunächst zu einer Destruktion und später zu einer ungeordneten Regeneration von Leberparenchym mit Ausbildung von Bindegewebssepten als Folge entzündlicher und nekrotisierender Erkrankungen. Eine Zerstörung der lobulären und vaskulären Architektur ist die Folge.

Eng mit einem Funktionsverlust der Leber ist das zunehmende Depot von extrazellulärer Matrix im Perisinoidalraum assoziiert, die so genannte Kapillarisation der hepatischen Sinusoide. Durch eine verlängerte Diffusionstrecke zwischen Blut und Hepatozyten kommt es zu einer verminderten Clearance makromolekülgebundener Substanzen (z.B. Medikamenten) und zu einem erhöhten Strömungswiderstand im portalvenösen System, es kommt zur Portalen Hypertension. Daraufhin können sich Porto-Systemische Shunts entwickeln, die das Blut somit an der Leber vorbeiführen. Die Entgiftungsfunktion der Leber ist somit außer Kraft gesetzt und man erhält den Zustand der Leberinsuffizienz.

Die Zusammensetzung des Narbengewebes im Rahmen eines zirrhotischen Leberumbaus ist weitgehend unabhängig von der zugrundeliegenden Ätiologie der Erkrankung. Es kommt zu einer exzessiven Vermehrung der extrazellulären Matrix, von Kollagen Typ 1 und Typ 3, verschiedenen Proteoglykanen und Glykoproteinen [11, 12]. Im Gegensatz zur Zirrhose kommt es bei der Fibrose noch nicht zu einer Zunahme der Matrixkomponenten, wohl aber zu einer Verlagerung einzelner Komponenten, insbesondere der Kollagenfasern (Vermehrung von Kollagen Typ 1 auf Kosten des Typ 3). Die grobe Läppchenarchitektur ist aber nach wie vor gewahrt. Allerdings führt die verminderte Perfusion des Leberparenchyms insbesondere bei der perisinuidalen Fibrose und dem damit verbundenem Verlust der Endothelfenestration bereits in diesem Stadium zu einem erheblichen Funktionsverlust der Leber.

Im Verständnis der Grundlagen fibrotischer Leberumbauprozesse hat es in den letzten Jahren deutliche Fortschritte gegeben. Eine Schlüsselrolle spielen die hepatischen Sternzellen, die im Rahmen chronischer Lebererkrankungen aktiviert werden, stark proliferieren und sich zu kontraktilen Myofibroblasten transdifferenzieren. Sie sind der Hauptproduzent Extrazellulärmatrix bei der Leberzirrhose [12].

Die Aktivierung der Stellatzellen ist die Antwort auf eine Schädigung von Hepatozyten und Gallengangszellen. Der Aktivierungsprozess ist komplex und wird eng reguliert. Unterschieden wird ein so genanntes Initiationsstadium („initiation or pre-inflammatory stage“), in dem es zu einer ausgeprägten Genexpression und Veränderung im Phänotyp der Sternzellen kommt, die empfindlich gegenüber Zytokinen und parakrinen Stimuli, ausgehend von Zellen des Immunsystems und

hepatischen Zellen werden. Im anschließenden sogenannten Perpetuierungsstadium der Aktivierung („perpetuation stage“), kommt es durch protrahierte zelluläre Reaktion zu einer dynamischen Verstärkung und einer Heraufregulation der Aktivierung. Die Prozesse Proliferation, Fibrogenese, Kontraktilität, Cytokinstimulation, Chemotaxis, Verlust von Retinoid A und die Degradation von hepatischer Matrix gehören in dieses Stadium [13].

Die Aufhebung der Sternzellaktivierung ist letztendlich der entscheidende Schritt für die Reversibilität der Fibrose und steht im Zentrum neuer Therapieansätze. Die erste Rationale in der heutigen antifibrotischen Therapie ist eine effektive Elimination des auslösenden Agens durch Behandlung der Grunderkrankung. Der zweite Schritt kann eine anti-inflammatorische Behandlung sein, um Stimuli für eine Sternzellaktivierung zu verringern. Behandlungserfolge und eine Reversibilität der Fibrose wurden in größeren Studien durch Eradikation bzw. durch die Verminderung der Viruslast bei Hepatitis-B Patienten [14] und Hepatitis-C Patienten [15], durch eine Wiederherstellung biliärer Abflussstörungen [16] oder durch eine immunsuppressive Therapie bei autoimmuner Hepatitis [17] erreicht.

1.1.6 Histologische Einteilung

Zur histopathologischen Darstellung der Fibrose wird Hematoxylin/Eosin oder spezifischere Bindegewebsfärbungen verwendet, hierzu gehören Masson Trichrome, Versilberung (Retikulinfärbung), Van Gieson. Die Auswertung erfolgt in der Regel mit Hilfe des modifizierten Knodell-Ishak Score. Dieser wird als „histologischer Aktivitätsindex“ (HAI) bezeichnet. Dieser unterscheidet sich durch Trennung der Entzündungs- und Fibroseaktivität, das Grading (Entzündungsgrad) und das Staging (Fibrosegrad). Der Einfachheit halber wurde von Desmet und Scheuer für die klinische Routine aus dem mod. Hai-Score, der die Stufen 0-18 unterscheidet, ein 5 Stufen Schema jeweils für das Grading (siehe Tab. 2) und für das Staging (siehe Tab. 3) abgeleitet. Die Unterscheidung zwischen Grading und Staging ergibt den Vorteil, nicht nur eine Aussage über den Stand der Fibrosierung zu erhalten, sondern sie gibt auch Auskunft über die Aktivität des aktuellen Krankheitsschubes. Während das Staging relativ konstant bleibt und über den langfristigen Progress der Lebererkrankung Auskunft gibt, gibt es im Krankheitsverlauf beim Grading eine hohe

Fluktuationsrate, die am ehesten den Erfolg der aktuellen Therapie widerspiegelt[18]. Weiterhin muss man im Vergleich zum HAI-Score beim Scheuer-Score die portalen und die lobulären Aktivitätskomponenten als gleichwertig betrachten und die portalen und periportalen Läsionen zusammenfassen.

Im Gegensatz zu dem Desmet und Scheuer-Score, der ursprünglich für die chronischen Virus Hepatitiden beschrieben worden ist und später universal auf nicht virale Hepatitiden im Allgemeinen angewendet wurde, wird in dieser Arbeit noch der Score nach Kleiner et al. (2005) verwendet. Es ist ein weiterer Staging-Score zur semiquantitativen Beschreibung der Fibrose bei Steatohepatitis mit den Abstufungen von 0 bis 4 (siehe Tab. 4). Dieser Score musste bei der Steatohepatitis auf Grund des unterschiedlichen histo-morphologischen Bildes im Gegensatz zur Hepatitis als mikroskopische Befunddokumentation herangezogen werden. Der Score nach Kleiner unterscheidet sich zum Scheuer-Score in Bezug auf das Grading, der Ballonierung und der Angabe des Fettanteils, gemeinsam sind Angaben zum Entzündungsstatus. Bezogen auf das Staging basiert Kleiner die Fibrosierung auf die Zentralvenen, Scheuer hingegen auf die Portalfelder. Das Grading wird bei Kleiner nach dem Nichtalkoholischer Aktivitäts-Score durchgeführt (NAS, siehe Tab. 5) [47]. Beide Methoden sind semiquantitativ und durch eine vergleichbare Intra-/Inter-Observer-Variabilität gekennzeichnet. Studien zeigten eine gute Korrelation der Scores zur klinischen Stadieneinteilung, so dass sie eine weit verbreitete Anwendung in der Evaluation der Leberzirrhose finden. Obwohl beide Systeme die Fibrose in einem Vierersystem einstufen, die als gemeinsames Stadium 4 die Zirrhose haben und somit gute Vergleichbarkeit in den Fibrosierungsgraden aufweisen, muss in Einzelfällen geprüft werden, ob die einzelne Stadienzuordnung der Fibrosescanwerte vergleichbar ist. Die mangelnde Objektivität und Genauigkeit stellt einen weiteren Kritikpunkt an beiden Verfahren dar, die v.a. bei Vergleichsuntersuchungen ins Gewicht fällt. Diesem Problem wird teilweise durch die Zunahme von automatisierten Bildanalysesystemen zu begegnen versucht.

Tab.2 - Grading nach Desmet und Scheuer/ HAI (Histology Activity Index)

Grad	verbal	Analoger HAI-Score	histologische Merkmale
0	keine Aktivität		
A1	minimal	1-3	geringe portale Entzündungszellinfiltration, keine oder minimale azinäre Parenchymzelluntergänge oder Entzündungszellinfiltrate, keine Grenzzonenhepatitis
A2	mild/ geringgradig	4-8	geringe oder mäßige portale Entzündungszellinfiltration, geringe, fokale Grenzzonenhepatitis, einzelne parenchymatöse Einzelzellnekrosen, keine Gruppennekrosen
A3	mäßig/ mittelgradig	9-12	erhebliche (mäßige bis schwere) portale Entzündungszellinfiltration, erhebliche Grenzzonenhepatitis, zahlreiche azinäre Einzelzellnekrosen, evtl. einzelne Gruppennekrosen, keine Brücken- oder panlobulären Nekrosen
A4	schwer/ hochgradig	13 – 18	schwere portale Entzündungszellinfiltration und Grenzzonenhepatitis, schwere azinäre Entzündung mit Gruppennekrosen und evtl. Brücken- und panlobulären Nekrosen

Tab. 3 - Fibrorestaging nach Desmet und Scheuer

Score	Verbal	histologische Merkmale
0	keine Fibrose	keine Faservermehrung
1	milde/geringgradige Fibrose	portale Faservermehrung, keine Septen
2	mäßige/mittelgradige Fibrose	inkomplette oder komplette porto-portale Fasersepten, erhaltene Architektur
3	schwere/hochgradige Fibrose	septenbildende Faservermehrung mit Architekturstörung, kein Anhalt für kompletten zirrhotischen Umbau
4	Zirrhose	wahrscheinlicher oder definitiver zirrhotischer Umbau

Tab. 4 - Fibrorestaging der Steatohepatitis

Stadium	Fibrose
0	Keine
1A	Mild, Zone 3, perisinuidal
1B	Mäßig, Zone 3, perisinuidal
1C	Portal/periportal ohne perisinuidal Komponente
2	Perisinuidale und portale/periportale Fibrose
3	Septen-/brückenbildende Fibrose
4	Zirrhose

Tab. 5 - Nichtalkoholischer Aktivitäts-Score (NAS)

Kategorie	Kriterium	Score
Verfettung	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Azinäre Entzündung	Keine	0
	<2 Foci/mittlere Vergrößerung (MPF, Vergr. 200:1)	1
	2-4 Foci/MPF	2
	>4 Foci /MPF	3
Hepathozelluläre Ballonierung	Keine	0
	Wenige Hepatozyten	1
	Zahlreiche Hepatozyten/prominente Ballonierung	2
Summenscores (NAS):		
0-2	keine Steatohepatitis	
3/4	nichtbeweisend für eine Steatohepatitis (Borderline)	
≥5	manifeste Steatohepatitis	

1.1.7 Prognose

Bei der Leberfibrose handelt es sich in der Regel um einen relativ langsamen, über Jahre verlaufenden Prozess. Jedoch sind mittlerweile eine Reihe von Determinanten bekannt, die den Verlauf der Fibrose beeinflussen und variabel erscheinen lassen. Hierzu gehören krankheitsspezifische Faktoren, eine individuell-genetische Disposition, das Alter, eine immunsuppressive Therapie, Eisenbelastung, Perfusionsverhältnisse, Pfortaderhochdruck und Inflammation. Insgesamt gibt es über die natürliche Progression der Leberfibrose bei den meisten der angeborenen oder erworbenen chronischen Lebererkrankungen kaum validierte Daten, die es zuließen, den individuellen Verlauf einigermaßen zuverlässig abzuschätzen [12].

1.1.8 Komplikationen

Die Komplikationen bei der Leberzirrhose sind vielfältig und basieren, wie oben beschrieben, hauptsächlich auf den Veränderungen der hämodynamischen Druckverhältnissen des gesamten Körpers mit Ausbildung von Kollateralkreisläufen und Aszites und der fehlenden Entgiftungs- und Synthesefunktion der Leber. Als Haupttodesursache gilt das Hepatozelluläre Karzinom (HCC), welches sowohl auf dem Boden einer langjährigen kompensierten Zirrhose entsteht sowie auch ohne Zirrhose bei der NASH oder beim HBV. Weitere Komplikationen sind Aszites, Ikterus, Gastrointestinale Blutung, Varizenblutung, Ödem, Hypersplenismus, hämorrhagische Diathese bei verminderter Synthese von Gerinnungsfaktoren, Infektanfälligkeit mit insbesondere spontan auftretender bakterieller Peritonitis und die hepatische Enzephalopathie bei fehlender Entgiftung [48, 49].

1.2 Bisherige Diagnostik

1.2.1 Leberbiopsie der ideale Goldstandard?

Derzeit gilt die semiquantitative Bewertung der Fibrose in der Leberhistologie mit Hilfe von histologischen Scoring-Systemen als Goldstandard [18]. Allerdings ist die Leberbiopsie (Perkutane Leberpunktion und Diagnostische Laparoskopie) mit einer gewissen Morbidität (postinterventioneller Schmerz in 10–30 %) und einer nennenswerten Mortalität (ca. 0,1–0,01 %) verbunden [6]. Darüber hinaus ist die Aussagekraft durch einige Faktoren eingeschränkt.

Stichprobenfehler („sampling error“)

Der „sampling error“ beruht einerseits darauf, dass ein Leberbiopsat nur ungefähr einem 50.000-stel der Leber entspricht, andererseits auf der inhomogenen Verteilung vieler Leberkrankheiten im Frühstadium. Beim Vergleich von laparoskopisch entnommenen Biopsien aus dem linken und rechten Leberlappen variierte der Fibrosegrad bei 1/3 der Patienten um mindestens 1 Stadium [7]. Darüber hinaus zeigten Bedossa et al. in einer Simulationsstudie, dass die Genauigkeit des Stagings

mit der Länge von simulierten Biopsiezylindern korrelierte [8]. Für ein exaktes Staging bei chronischer Hepatitis C werden derzeit eine Länge des Biopsiezylinders von ≥ 20 mm und/ oder 11 komplette Portalfelder gefordert [9].

1.2.1.1 Histologie

Zur histopathologischen Darstellung der Fibrose werden Hematoxylin/Eosin oder spezifischere Bindegewebsfärbungen verwendet, hierzu gehören Masson Trichrome, Versilberung (Retikulinfärbung), Van Gieson. Die Auswertung erfolgt in der Regel mit Hilfe der französischen METAVIR-Einteilung oder des Knodell-Ishak Scores, welcher als „histologischer Aktivitätsindex“ (HAI) bezeichnet wird. Beide Methoden sind semiquantitativ und sind durch eine vergleichbare Intra-/Inter-Observer-Variabilität gekennzeichnet [50]. Studien zeigten eine gute Korrelation der Scores zur klinischen Stadieneinteilung, so dass sie eine weit verbreitete Anwendung in der Evaluation der Leberzirrhose finden. Die mangelnde Objektivität und Genauigkeit stellen jedoch einen Kritikpunkt an beiden Verfahren dar, die v.a. bei Vergleichsuntersuchungen ins Gewicht fällt. Diesem Problem wird teilweise durch die Zunahme von automatisierten Bildanalysesystemen zu begegnen versucht.

Zudem sind die verwendeten Scores heterogen, so werden je nach Grundkrankheit unterschiedliche Scoring-Systeme verwendet [6]. Bei der chronischen Virushepatitis wird das Fibrorestadium entweder auf einer 5-stufigen Skala (F0–F4; nach Knodell [51], Scheuer [52] bzw. METAVIR [50]) klassifiziert oder auf einer 7-stufigen Skala (F0–F6) nach Ishak [53]. Hierbei werden die Fibrorestadien F2–F4 als signifikante Fibrose und F3–F4 als schwere Fibrose bezeichnet, bei F4 liegt eine Zirrhose vor. Bei der Steatohepatitis wird meist das Staging-System von Brunt et al. [54] herangezogen, in dieser Arbeit wurde der Nash-Score verwendet und dessen Aktivität mittels NAS-Score eingestuft. Die übrigen Diagnosen wurden im Staging-Score nach Desmet /Scheuer und das Grading nach Desmet eingeteilt.

Es gibt auch exaktere und kontinuierlichere Quantifizierung der Fibrose, Sie werden jedoch kaum auf Grund der aufwendigen Morphometrie durchgeführt [6].

Zudem sind die meist verwendeten oben genannten Scores in einer Zeit entwickelt worden, in der die Idee einer Regression der Fibrose noch nicht etabliert war [10].

1.2.1.2 Biopsie - Percutane Leberbiopsie vs. Minilaparoskopie

Die Leberbiopsie gilt bis zum jetzigen Zeitpunkt als der Goldstandard in der Diagnose der Zirrhose. Die Größe der gewonnenen Biopsien liegt zwischen 1-3 cm Länge und 1,2-2 mm Durchmesser und entspricht etwa 1 / 50.000 der Gesamtmasse der Leber [18]. Obwohl eine Ultraschall-gestützte Leberpunktion die Wahrscheinlichkeit erhöht, einen repräsentativen Ausschnitt zu biopsieren, sind Fehlpunktionen aufgrund von Auswahlfehlern keine Seltenheit. Verschiedene Studien haben Auswahlfehler „sampling error“ (histologische Fehlbeurteilungen aufgrund nicht repräsentativer Leberbiopsien) in bis zu 25 % der Fälle gezeigt, die entweder einer Über- bzw. zu einer Unterschätzung der Fibrose geführt haben und somit wird die Genauigkeit der Methode zur Einschätzung der Leberfibrose in Frage gestellt [79-81].

In der prospektiven randomisierten Studie von Denzer et. al. 2007 [55] zeigten die Ergebnisse hinsichtlich der histologischen Beurteilung keinen signifikanten Unterschied zwischen der perkutan und der minilaparoskopisch gewonnenen Biopsie (perkutane Leberbiopsie: 22,3% Zirrhosen, Minilaparoskopie: 26,0% Zirrhosen; $p=0,270$). Wurde jedoch die makroskopische Bewertung zur Beurteilung hinzugezogen, ergab sich eine signifikant höhere Detektionsrate bezüglich einer Zirrhose gegenüber der alleinigen perkutanen Biopsie. Zudem sank die Komplikationsrate auf 0,2 % ($n=1$) gegenüber der perkutan durchgeführten Biopsie (1,0 % , $n=4$).

1.2.1.3 Indikation

Für die diagnostische Minilaparoskopie mit Punktion sind folgende Indikationen evaluiert [23]:

- Staging chronischer Lebererkrankungen
- Diagnostik unklarer Lebererkrankungen
- Leberpunktion bei erhöhtem Blutungsrisiko (Gerinnungseinschränkung, portale Hypertension)
- Tumorstaging mit der Frage nach peritonealen oder oberflächlichen hepatischen Filiae
- Fieber oder Ascites unklarer Ätiologie
- Minilaparoskopisch gesteuerte Milzpunktion

1.2.1.4 Komplikationen

Komplikationen nach Leberbiopsien sind zwar insgesamt selten, diese können jedoch ernst bis lebensbedrohlich sein. Die Mortalität nach perkutaner Leberbiopsie wird mit 1:10.000 bis 1:12.000 Patienten angegeben und ist insbesondere bei Patienten mit malignen Läsionen und bei Zirrhose erhöht [72, 73, 74]. Die Rate von Patienten, die nach einer Leberbiopsie hospitalisiert werden müssen, liegt bei 1-3%, wobei der häufigste Grund für einen Verbleib im Krankenhaus eine Hypotension und Schmerzen sind, die rund ein Viertel der Patienten berichten [75]. Die wesentlichsten Komplikationen stellen akute Blutungen dar, die intraperitoneal, seltener hepato-biliär auftreten können. Kleinere Parenchymblutungen sind häufiger und können auch bei asymptomatischen Patienten gefunden werden [76]. Weiterhin wurden eine transiente Bakteriämie in 5 bis 13,5 % der Fälle beschrieben, die häufig asymptomatisch bleibt, aber in besonderen Fällen als Auslöser von Septikämien identifiziert wurde [25].

Die Probengewinnung erfolgt entweder durch Suktionsnadeln (z.B. Menghini-Nadel), oder durch Schneidenadeln („Cutting-Needles“, z.B. Tru-Cut-Needle), die auch mit Hilfe eines Feder-getriggerten Mechanismus appliziert werden können. Im Falle einer erwarteten Zirrhose werden in der Regel Schneidenadeln bevorzugt, da das fibrotische Gewebe bei der Verwendung von Suktionsnadeln eher zerfallen kann [77]. Die Anwendung von Schneidennadeln, wenn nicht Feder-getriggert appliziert, ist mit einem etwas höheren Blutungsrisiko verbunden [78].

1.3 Direkte und Indirekte Fibrosetests

Neben der Histopathologischen Beurteilung des Fibrosegrades der Leber, gibt es auch direkte und indirekte Fibrosetests. Diese basieren auf einer Blutentnahme und der anschließenden Auswertung verschiedener Parameter.

Bei den indirekten Fibrosetests werden diverse Routinelaborwerte miteinander kombiniert und somit Aspekte aus verschiedenen Bereichen der Leberfunktion wiedergespiegelt. Dabei können singuläre sowie eine Vielzahl an verschiedenen Parametern miteinander kombiniert und ausgerechnet werden. Bekannte Beispiele dafür sind der AST/ALT-Ratio, bei der Werte über 1 auf eine Zirrhose hinweisen. Die Thrombozytenzahl, bei der es auf Grund von Thrombozytenpooling oder verminderter

Thrombopoitinsynthese bei der Zirrhose zu einer Thrombopenie kommt, den AST-to-Platelet-Ratio Index (APRI), der den AST-Wert und die Thrombozytenzahl beinhaltet, den Forns-Index, den Fibrotest/Fibrosure und den NAFLD fibrosis score.

Bei den direkten Fibrosetests werden direkte Fibrosemarker (Biomarker) im Serumspiegel von extrazellulären Matrixproteinen bezeichnet, welche bei fibrotischen Prozessen vermehrt abgelagert werden. Ein möglicher Nachteil ist die Beeinflussung durch extrahepatische Faktoren wie systemische Inflammation oder Niereninsuffizienz. Beispiele für solche Biomarker sind die Hyaluronsäure, TIMP-1, alpha2-Makroglobulin und PIIINP(the N-terminal pro-peptide of collagen type III).

Insgesamt kann mittels dieser Methoden eine gute Aussage über das Vorhandensein einer Fibrose oder einer Zirrhose getroffen werden. Mit dem Forns-Index kann man sogar die Fibrose/Zirrhose der Stadien F2-F4 nach Scheuer mit guter Signifikanz (AUROC 0,86) klassifizieren. Bei der NASH gilt der NAFLD Fibrosis-Score sogar als ein sehr aussagekräftiger Prädiktor mit AUROC-Werten von 0,88 für die Stadien F3/F4 [6].

1.4 Konventionelle bildgebende Verfahren

Die konventionellen bildgebenden Verfahren werden durch die Sonographie, die Computertomographie und die Magnetresonanztomographie dargestellt. Deren Aussagekraft beschränkt sich meist auf eine fortgeschrittene Zirrhose mit morphologischen Aussagen über Zeichen der portalen Hypertonie, der Regeneratknoten und von Formunregelmäßigkeiten der Leberlappen sowie der Größenverhältnisse der Leberlappen im Vergleich zum Lobus Caudatus. Frühe Stadien der Fibrose sind nicht zu erkennen. Eine neuere Entwicklung stellt z.B. ADC-Messung („Apparent Diffusion Coefficient“) mittels MRT dar, die auf einer Diffusionswichtung basiert. Da die Diffusion im zirrhotischem Gewebe gestört ist, ergeben sich für die Diffusionsmessungen, wie in der Kooperation mit dieser Studie gezeigt, erniedrigte ADC-Werte. Eine umfassende Evaluation der ADC-Messung zur Früherkennung und Graduierung der Leberzirrhose in Korrelation mit Histologie und Flussmessung des Pfortadersystems ist bisher nicht bekannt. Diese Methode ist derzeit noch in der Erprobungsphase und hat daher noch keinen Einzug in die klinische Diagnostik erhalten. Der Fibroscan ist mittlerweile in der klinischen Routine

etabliert. Die Sonographie und die Computertomographie haben bislang keine ausreichende Sensitivität oder Spezifität in der Früherkennung oder in der Verlaufskontrolle gezeigt [71].

1.5 Transiente Elastographie (FibroScan®)

Die Methode der transienten Elastographie (FibroScan®, Echosens, Paris, France) basiert auf Messung der Lebersteifigkeit bzw. Elastizität [59]. Das Verfahren beruht auf dem physikalischen Prinzip der unterschiedlich schnellen Fortleitung von Transversalwellen („shear waves“) in direkter Abhängigkeit von der Elastizität eines Gewebes.

Der Messkopf von FibroScan® besteht aus einem 3,5 MHz Schallkopf, der auf den Rücken eines mechanischen Vibrators, vergleichbar mit einem Lautsprecher, montiert ist. Der Ultraschallkopf ist in Kontakt mit der Haut des Patienten, während der Vibrator eine Schwingung generiert (Frequenz 50 Hz, Amplitude 2 ms). Durch die Vibration wird eine niederfrequente Transversalwelle erzeugt, die über die Haut des Patienten und das subkutane Fettgewebe in die Leber fortgeleitet wird. Mit Hilfe ausgesendeter und empfangener Ultraschallsignale lässt sich die genaue Fortleitung der Transversalwelle im Gewebe markieren und die Fortleitungsgeschwindigkeit messen. Aus den Größen kann die Elastizität errechnet werden.

Die FibroScan® Methode ist *nicht-invasiv, nicht-schmerzhaft* und weist damit zwei wesentliche Vorteile gegenüber dem bisherigen Standard zur Fibrose Beurteilung auf. Zudem erlaubt sie die Untersuchung größerer Anteile der Leber und erfüllt die Maßgabe einer hohen Repräsentativität.

Eine Reihe kürzlich veröffentlichter Studien haben eine hohe Sensitivität und Spezifität von FibroScan® im Vergleich zur Histopathologie und serologischen Parametern gezeigt und eine sinnvolle Reduktion von diagnostischen Biopsien erreichen können [5, 60-70]. Hervorragende Ergebnisse zeigte die Studie von Fraquelli et al. (2007)[57], welche eine gute Reproduzierbarkeit und niedrigen Interobservervariabilität zeigte.

Durchführung einer Fibroscan Untersuchung:

Messungen werden beim liegendem Patienten mit maximal abduziertem Arm durch die Interkostalräume im rechten Leberlappen angefertigt. Der Schallkopf wird mit coupling Gel versehen und auf die Haut zwischen den Rippen auf Höhe der rechten Leber aufgesetzt. Der Untersucher muss eine mindestens 6cm dicke Gewebeprobe erfassen, die frei von großen Gefäßstrukturen sind. Dabei bedient sich der Untersucher der mit im Gerät integrierten Ultraschallsonde und sucht sich ein passendes Bild im A-Modus aus. Bei Erfassen der zu untersuchenden Gewebeprobe, drückt der Untersucher auf den Aquisitionsknopf. Die Tiefe der Untersuchungen variieren zwischen 2,5 und 6,5 mm. 10 valide Messungen wurden pro Patient durchgeführt. Die Erfolgsquote („success rate“) wurde als Verhältnis zwischen der Anzahl der erfolgreichen Untersuchungen zu der Gesamtzahl der durchgeführten Untersuchungen. Als repräsentativer Wert für die Leberelastizität wurde der Median der 10 validen Messungen gewählt. Die Untersuchungen dauerten weniger als 5 Minuten. Es wurden nur Ergebnisse als reliable angesehen, bei denen mind. 10 erfolgreiche Messungen durchgeführt wurden und die eine success rate von mind. 60% hatten.

Das Gerät:

Der Kopf enthält einen 50 Hertz-Vibrator, der eine niederfrequente Welle mit der Ausbreitungsgeschwindigkeit von 1m/s aussendet. Außerdem ist eine 5-Mhz-Ultraschallsonde integriert. Je fester die Leber, desto schneller laufen die Wellen hindurch und sie verformen das Gewebe. Das wird gleichzeitig mit der Ultraschallsonde beobachtet und gemessen. Die Verformung wird als quantitativer Wert in der Einheit Kilo-Pascal (kPa) angegeben. Je stärker die Leber fibrosiert ist, desto geringer wird sie verformt, und desto höher sind die Werte. Bei Fett und Flüssigkeit wird die Impedanzwelle verlangsamt und ergibt falsch niedrige Werte. Dies ist z.B der Fall bei Aszites und Adipositas, daher stellt Ascites und Adipositas eine Kontraindikation dar [4, 56]. Die Cholestase hingegen führt zu falsch hohen Werten bei der Steifigkeitsmessung. Dies ist insbesondere bei erhöhten Billirubinwerten beschrieben [86], hierbei wurde nachgewiesen das nach Regress des Cholestase-Parameters und dem hiermit verbundenem Rückgang der

intertitiellen Flüssigkeit, die Steifigkeitswerte rückläufig waren. Auch bei extrahepatischer mechanischer Cholestase wurde nach Therapie ein Rückgang der Steifigkeitswerte beobachtet [1]. Es wurde somit von den Autoren gefolgert, dass die Cholestase die Lebersteifigkeit unabhängig von der Zirrhose beeinflusst.

Fehlmessungen:

In einer großen prospektiven Studie in Frankreich mit über 2114 untersuchten Patienten mit chronischen Lebererkrankungen, wurde die Prävalenz der mit Fehlmessungen assoziierten Risikofaktoren untersucht. In 96 Fällen (4,5%) wurden Fehlmessungen ermittelt. Dabei waren diese nicht mit dem Untersucher, dem Geschlecht oder mit dem Transaminasenspiegel in Zusammenhang zu bringen. Der einzige Risikofaktor, der nach multivariierter Analyse übrig blieb, war ein Body-Mass-Index von über 28 (odds ratio, 10.0°; 95% confidence interval, 5,7-17,9, p=0,001) [4].

Insgesamt ist der Fibroscan jedoch rasch durchführbar (ca. 5 min.), relativ einfach zu erlernen und meist gut reproduzierbar [57, 58]. Häufig ist die Messung jedoch bei Adipositas oder enger Interkostalräume unmöglich [6].

In dieser Arbeit kam es bei 18 Patienten zu nicht validen Messungen, davon 6 Patienten aufgrund eines BMI von über 28. 4 Patienten wurden von vornherein bei Adipositas und somit schwierigen Untersuchungsbedingungen ausgeschlossen. Weitere Gründe waren geblähte Darmschlingen (Meteorismus) und Ascites.

1.6 Zielsetzung und Fragestellung

Das Ziel dieser klinischen Studie ist die Ermittlung der diagnostischen Genauigkeit der transienten Elastographie in der Diagnostik der Fibrose / Zirrhose bei den häufigsten Lebererkrankungen. Verglichen wird die transiente Elastographie gegen folgenden Goldstandard:

a) Histologisches Fibrorestaging (F0 bis F4) nach Desmet und Scheuer

b) Kombiniertes laparoskopisches und histologisches Staging.

Inwiefern kann die Elastographie den Goldstandard ersetzen?

Kann der kombinierte Minilaparoskopische / Fibrosescore die diagnostische Genauigkeit der Diagnose einer Zirrhose verbessern?

2. Material und Methoden

2.1 Studienkollektiv

Die Patientenauswahl erfolgte prospektiv. Einschlusszeitraum war vom 23.10.2007 bis zum 26.11.2009, also einem Zeitraum über 2 Jahre von 2007 bis 2009. Es wurden Patienten mit einer Indikation zur diagnostische Leberbiopsie herangezogen, die sich im o.g. Zeitraum in der Poliklinik (diagnostische Laparoskopie und die Abteilung der Sonographie an der I. Medizinischen Klinik Uniklinik Eppendorf) vorstellten. Diagnostisches Ziel war Aktivitätsbeurteilung oder das Staging einer chronischen Hepatopathie. Dabei sind stationäre und ambulante Patienten eingeschlossen worden.

2.2 Indikation zur Leberbiopsie

Die Indikation zur Durchführung der Minilaparoskopie war abhängig von der jeweiligen Verdachtsdiagnose. Bei den chronischen Autoimmunerkrankungen, der Virushepatitis und der Fettleberhepatitis war das Staging des Fibrosegrades und die Aktivitätsbestimmung der Entzündung die primäre Fragestellung. Abschätzungen von Komorbiditäten und primäre äthiologische Abklärung bei unklarer Hepatopathie, welche dann in Zusammenschau mit Klinik und serologischen Parametern die endgültige Diagnose brachten, waren im Rahmen der routinemäßigen Kontrolluntersuchung weitere Indikation zur Leberbiopsie. Darüber hinaus ist die Leberbiopsie wertvoll für die Differenzierung der Diagnosen innerhalb einzelner Diagnosegruppen, so kann z.B. bei der Fettleber zwischen ASH und NASH (23) differenziert werden und bei cholestatischen Erkrankungen Veränderungen der kleinen Gallenwege festgestellt werden und somit die „small duct PSC“ gegenüber der klassischen PSC abgegrenzt werden (22).

2.3 Ein- und Ausschlusskriterien der klinischen Studie

Einschlusskriterien waren eine vorliegende Indikation zur Leberbiopsie zur Diagnostik, Aktivitätsbeurteilung oder Staging einer chronischen Hepatopathie, ein Alter über 18 Jahren und eine schriftliche Einverständniserklärung des Patienten mit der Studie und den Untersuchungstechniken. Neben der Minilaparoskopie mussten

die Patienten eine valide Untersuchung im Fibroscan erhalten. Eine valide Messung ist bei einer Erfolgsquote von mind. 60 % gegeben. (siehe Abschnitt 1.5. Fibroscan). Innerhalb eines Monats vor oder nach der Durchführung der Mini-Laparoskopie erfolgt verblindet die Leberelastizitätsmessung durch Fibroscan. Als ergänzende Untersuchung sind die entsprechenden Laborwerte vor der der Minilaparoskopie eingegangen. Als Daten mussten demnach eine Fibroscan-Messung, eine makroskopische Beurteilung der Leberoberfläche, eine histologische Untersuchung der Stanzbiopsie und nach Möglichkeit der aktuelle MELD-Score zur Verfügung stehen.

2.4 Studiendesign

Patienten mit chronischer Lebererkrankung und Indikation zur Leberhistologiegewinnung wurden zunächst einer Leberelastizitätsmessung mittels Fibroscan und anschließend einer mini-laparoskopisch gesteuerten Leberbiopsie mit kombinierter makroskopischer und histologischer Beurteilung unterzogen. Die Studie erfolgte prospektiv und wurde verblindet durchgeführt.

Nach der Patientenaufklärung und dem Erhalt des Einverständnisses zur Teilnahme an der klinischen Studie wurden folgende klinische und laborchemische Parameter aufgenommen:

Tag 0:

- Alter
- Geschlecht
- Diagnose
- Labor: Thrombozyten, Quick, INR, Albumin, Bilirubin, Kreatinin, MELD, GOT, GPT, GGT, AP, G-Globuline, IgG, IgM
- Autoimmunserologie: ANA, AMA, LKM, SMA, SLA
- Hepatitisserologie: HBsAg, Anti HBs, Anti HBc, Anti HCV, Anti HAV

Vor der transienten Elastographie bzw. Minilaparoskopie erfolgte eine sonographische Untersuchung zur Darstellung von Organgrößen und

Umgehungskreisläufen bei portaler Hypertension sowie zum Ausschluss einer intrahepatischen Cholestase.

Tag 1:

Transiente Elastographie: Leberelastizität (kPa)

Die Fibroscan-Untersuchung wurde verblindet vor der Minilaparoskopie folgendermaßen durchgeführt:

Die Untersuchungssonde wurde bei dem in Rückenlage befindlichen Patienten rechts interkostal im 7.-9. Intercostalraum zwischen vorderer und hinterer Axillarlinie positioniert. Es wurde ein Tropfen Gel auf den Messpunkt auf der Haut aufgetragen. Die Sonde stand während der gesamten Messung senkrecht zur Hautoberfläche des Patienten. Insgesamt wurden 10 gültige Messungen durchgeführt, wobei der Mittelwert in kPa als Endwert festgehalten wurde.

Erfasst wurden folgende Messparameter:

- Leberelastizität (Steifheit des Lebergewebes angegeben in kPa)
- IQR (Interquartilrange: Spanne, in der 50% der insgesamt gemessenen Werte der Fibroscanuntersuchungen liegen, angegeben in kPa)
- Erfolgsquote (Successrate in %): Anteil der erfolgreichen Messungen bezogen auf die Gesamtanzahl aller durchgeführten Messungen, Ausschluss bei Successrate < 60%

Minilaparoskopisch gesteuerte Leberpunktion

Alle Patienten der Studie wurden entweder noch am selben Untersuchungstag nach der transienten Elastographie oder innerhalb eines Zeitraumes von maximal 3 Monaten einer minilaparoskopisch gesteuerten Leberbiopsie unterzogen.

Die Minilaparoskopie wurde von einem Untersucher und einem Assistenten unter sterilen Kautelen durchgeführt. Intravenös erhielten die Patienten nach Lagerung auf dem kippbaren Tisch vor Beginn der Untersuchung eine Prämedikation mittels Pethidin 50 mg und Midazolam 1 mg. Während der Minilaparoskopie wurde die

weitere Sedierung mit Propofol i.v. nach Bedarf weitergeführt. Während der Untersuchung wurden die Patienten durch ein kontinuierliches Monitoring von Blutdruck, Puls und Sauerstoffsättigung überwacht. Es erfolgte eine kontinuierliche Oxygenierung mit 2 l O₂ über Nasensonde.

Nach Hautdesinfektion und steriler Abdeckung des Operationsgebietes erfolgte die Lokalanästhesie (5-10 ml Mepivacain 1%) der Punktionsstelle. Danach wurde die Veres Nadel mit dem 2,75 mm Trokar durch Haut, Faszie und Peritoneum 2-3 Querfinger kranial und links lateral des Nabels (Kalk'scher Punkt) eingebracht, während der Patient ein Valsalva-Manöver durchführte. Nach Lagekontrolle der Veres Nadel mittels Injektion von 10-20 ml NaCl 0,9% erfolgte die Anlage des Pneumoperitoneums durch Insufflation von circa 1,5 l N₂O.

Mittels der Mini-Optik erfolgten die Inspektion des Oberbauchs und die Beurteilung der Lebermorphologie. Anschließend wurde die Punktion des rechten und linken Leberlappens mit der Tru-cut Nadel 16 GAUGE entweder direkt oder über einen zusätzlichen Mini-Trokar durchgeführt. Die Punktionsstellen wurden jeweils für 5 Minuten beobachtet. Im Falle einer anhaltenden oder starken Blutung erfolgte eine Koagulation mit Argon-Plasma Gas.

Nach Abschluss der Untersuchung erfolgte die Desufflation. Die Nachsorge umfasste Bettruhe, Nahrungskarenz und Kreislaufkontrollen über einen Zeitraum von vier Stunden sowie eine stationäre Überwachung bis zum Folgetag (Denzer 2006).

Definition der Laparoskopisch-Makroskopischen Beurteilung der Leberoberfläche (je rechter und linker Leberlappen):

- Normalbefund: Abwesenheit der Kriterien für Fibrose und Zirrhose, kein Nachweis von tumorösen Veränderungen, kein Nachweis von Metastasen, normale Form und Größe
- Fibrose: Vorliegen von fibrösen Septen und gebrochenen Lichtreflexen
- Zirrhose: Knotig umgebaute Leber, deren Knoten durch Bindegewebssepten voneinander getrennt sind:
 - Feinknotig: bis zu 3 mm Größe

- Mittelknotig: von 3 bis 7 mm Größe
- Grobknotig: mehr als 7 mm Größe (Helmreich-Becker et al. 2003, Vido und Wildhirt 1969)

Histologische Beurteilung des Leberstanzzyinders

Die Beurteilung der Gewebeproben erfolgte durch einen erfahrenen Pathologen in Unkenntnis der laparoskopisch-makroskopischen Diagnose.

Die histologische Begutachtung der gewonnenen Biopsien erfolgte anhand der HE- (Hämoxylins-Eosin) und EvG- (van Gieson-Elastin) gefärbten Gewebeschnitte. Diese Beurteilung beinhaltete die Längenmessung der Stanzzyylinder, das Auszählen der vorhandenen Portalfelder pro Stanze, die Bestimmung der entzündlichen Aktivität (Grading) sowie die Bestimmung des Fibrosegrades (Staging).

Erfasst wurden:

- Länge der Stanzzyylinder in cm
- Anzahl der Portalfelder je Stanze
- Aktivität der Entzündung (Grading nach Desmet u. Scheuer/ analoger HAI-SCORE bzw. nach Kleiner, siehe Tab.2 und Tab. 5)
- Fibrorestaging nach Desmet u. Scheuer bzw. nach Kleiner (siehe Tab.3 und Tab.4)

2.5 Definition des ML/Histo- Mischscores (Minilaparoskopie/ Histologie-Mischscore)

Der ML/Histo-Mischscore ist das Ergebnis der kombiniert makroskopischen und histologischen Beurteilung der Leber. Dabei unterscheidet die Fibroseklassifizierung des Mischscores Normalbefund (1), Fibrose (2) und Zirrhose (3). Hierbei ist die schwerwiegendere Diagnose (Histologie oder Laparoskopie) ausschlaggebend über die Zugehörigkeit in die jeweilige Diagnosegruppe (Tab. 6).

Tab.6 Äquivalente Fibrosebestimmung

Fibrosestaging	ML	Fibroseklassifizierung Mischscore (ML/Histo)
F0	Normal (1)	Normal (1)
F1	Fibrose (2)	Fibrose (2)
F2		
F3		
F4	Zirrhose (3)	Zirrhose (3)

Alle Daten wurden pseudonymisiert in eine Datenbank eingegeben.

2.6 Statistik

Für die deskriptive Auswertung wurde abhängig von der Zielvariablen entweder Mediane und Quantile (metrischen Daten, z.B. Lebersteifigkeit in Kilopascal) oder Häufigkeiten und Prozente (z.B. Geschlecht) angegeben. Zur graphischen Illustration wurden Boxplots angefertigt. Diese zeigen den Median (horizontale Linie) und das 25% bzw. 75 % Quantil (Box). Ausreißer werden mit Sternchen oder Kreisen angedeutet.

Um Unterschiede zwischen den Fibrosestadien zeigen zu können, wurden statistische Testverfahren angewendet. Für metrische Daten wurde bei einem Zweistichprobenproblem der T-Test und bei mehreren Gruppen eine ANOVA durchgeführt. Anschließende Paarvergleiche wurden mittels Bonferroni- Methode adjustiert. Für alle statistischen Tests wurde ein Signifikanzniveau von 5% festgelegt. Somit deutet ein p-Wert kleiner 0.05 auf eine statistische Signifikanz hin.

Um einen Cut-off Punkt für die kPA Messungen zu finden, wurde eine ROC Analyse durchgeführt. Dabei ist der histologische Befund als Goldstandard zu sehen.

Software: STATISTICA (StatSoft); Zur Verfügung gestellt durch das Institut für Medizinische Statistik Göttingen.

3. Ergebnisse

Von den zunächst 134 gewonnenen Patienten konnten nur 123 Patienten mit einem vollständigem Datensatz eingeschlossen werden, hierbei hatten 11 Patienten keinen Fibroscan-Datensatz. Bei 4 von 11 Patienten konnten keine validen Messungen bei deutlicher Adipositas erfolgen. Bei 1 Patienten war bei extremer Luftüberlagerung keine Messung möglich. 6 Patienten sind nicht zur Untersuchung erschienen. 1 Patient hatte keinen Eintrag bei der Minilaparoskopie. Zudem mussten 18 Patienten aufgrund einer zu geringen Erfolgsquote (Anteil der erfolgreichen Messungen bezogen auf die Gesamtanzahl aller Messungen kleiner als 60%, hiervon 6 mit einem BMI über 28) bei der Durchführung der transienten Elastographie, ausgeschlossen werden. Somit reduzierte sich das zu untersuchende Gesamtkollektiv auf n=104 Patienten.

3.1 Charakterisierung der Gruppen:

3.1.1 Verteilung der Diagnosen und Geschlechteraufteilung

Die eingeschlossenen Patienten die zur Minilaparoskopie erschienen, wiesen die in der Tab.7 aufgeführten Diagnosen auf. Den größten Anteil nahmen dabei die Patienten mit der Diagnose Hepatitis-C-Virus (24%), die Autoimmun-Hepatitis (14%) und die Nichtalkoholische Fettleberhepatitis (14%) ein. Einen etwas kleineren Anteil bildeten die Diagnosen Hepatitis B-Virus(8%), Primäre biliäre Zirrhose(7%) und die Primär sklerosierende Cholangitis(6%).

Tab.7 Verteilung des Patientenkollektivs auf die Diagnosen

Diagnose	Diagnose der chronischen Lebererkrankung mit Abzug der ausgeschlossenen Patienten; n=104;		Diagnose der chronischen Lebererkrankung ohne Abzug der ausgeschlossenen Patienten; n=134;	
	Anzahl	Relativ in % ¹	Anzahl	Relativ in % ²
HCV	27	25	34	24
HBV	10	9	11	8
AIH	13	12	19	14
PSC	6	6	9	6
PBC	9	8	10	7
NASH	16	15	20	14
Alkohol-toxisch	2	2	3	2
unklare Diagnose	18	17	28	20
Hämochromatose	2	2	2	1
Medikamenten toxisch	4	4	4	3

¹ Anmerkung: 3 von den o.g. Patienten haben jeweils ein Overlap-Syndrome, sie haben daher zwei Diagnosen erhalten. Für die Relativen Berechnungen wurden n=104+3 gewählt.

² Anmerkung: 6 von den o.g. Patienten haben ein Overlap-Syndrom, sie haben daher zwei Diagnosen erhalten. Für die Relativen Berechnungen wurden n=134+6 gewählt.

Tab. 8 Geschlechterverteilung

Diagnose	weiblich n=64	männlich n=40
HCV	15 (55%)	12(44%)
HBV	5(50%)	5(50%)
AIH	11(84%)	2(15)
PSC	4(66%)	2(33%)
PBC	9(100%)	0(0%)
NASH	9(56%)	7(43%)
Alkohol-toxisch	0(0%)	2 (100%)
Unklare Diagnose	9(50%)	9(50%)
Hämochromatose	1(50%)	1(50%)
Medamenten toxisch	2(50%)	2(50%)
	weiblich	männlich
Anteil am Gesamtkollektiv in %	62%	38%
Median der Elastizitätswerte (kPa)	5,7	8,65

Die Verteilung der Geschlechter (Tab. 8) bezogen auf die Diagnosen war wie folgt: Bei den Patienten mit HCV, HBV und NASH war die Verteilung in etwa gleich (HCV 55% weiblich und 44% männlich, HBV 50% weiblich und 50% männlich, NASH 56% weiblich und 43% männlich). Deutliche Diskrepanz der Geschlechterverteilung

ergaben sich bei der AIH, PBC und etwas geringer bei der PSC (AIH 84% w und 15% m, PBC 100% w und 0% m, PSC 66% w und 33% m). Die übrigen Diagnosen sind bei nur geringer Fallzahl nicht different verteilt.

Insgesamt überwiegt das weibliche Kollektiv mit n=64(62%) gegenüber dem männlichem Kollektiv mit n=40(38%), wobei allein die 3 oben genannten Diagnosen (AIH, PSC und PBC) für ein Überschuss von 20 Patientinnen verantwortlich sind.

3.1.2 Alter, Laborwerte und Leberelastizität

Tab.9 Alter, Laborwerte und Leberelastizität

	HCV (n=27)		HBV (n=10)		AIH (n=13)		PSC (n=6)		PBC (n=9)		NASH (n=16)	
	Media n	Spann -weite	Media n	Spann -weite	Media n	Spann -weite	Media n	Spann -weite	Media n	Spann -weite	Media n	Spann -weite
Alter(J)	55	32-73	58	24-74	55	24-76	41,5	32-67	63	46-74	51,5	27-72
Thrombozyten (Mrd/l)	181	53-317	192	132-334	262	153-416	274,5	194-310	272	164-454	242	106-360
Quick (%)	94	60-123	101,75	49,3-128,5	103,1	117,6-0,5	102,35	67,2-129	109,2	88-128,5	100,5	74,6-117,4
Albumin (g/l)	44	36-50	43,5	34-50	43	36-49	44,5	41-48	46	39-48	48	41-62,1
Bilirubin (mg/dl)	0,7	0,2-1,5	0,6	0,3-6,4	0,5	0,4-2	1,05	0,6-2	0,6	0,3-2	0,55	0,3-2,5
MELD*	7,5	6,4-13,4	6,7	6,4-17,6	6,4	6,4-13,1	6,55	6,4-11,5	6,4	6,4-6,8	6,4	6,4-11
GOT(U/l)	76	17-321	52	29-104	40	20-118	47	29-156	32	19-84	65,5	24-418
GPT(U/l)	91	10-378	50	20-199	43	21-122	71	36-213	43	17-79	85,5	22-228
GGT(U/l)	91	12-320	45	12-203	119	10-968	118,5	46-368	118	24-968	91	24-1235
AP(U/l)	82	44-154	62,5	55-137	115	40-669	160,5	61-221	146	84-669	81	52-160
Elastizität (kPa)	8,1		6		6,8		7,15		3,9		8,85	

*MELD Score nicht von allen Patienten vorhanden

Beim Gesamtkollektiv (die in Tab.9 angeführten sowie die sonstigen Diagnosen inklusive unklarer Diagnosen) lag das Alter im Median 54 bei einer Spannweite von 24 bis 75 Jahren. Deutlich jünger erschienen die Patienten der Gruppe mit der Diagnose PSC mit einem Altersmedian von 41,5 J., etwas älter hingegen die Gruppe mit der PBC (63J.). Die übrigen Altersmediane entsprachen in etwa dem Gesamtkollektiv.

Die Laborwerte bezogen auf die jeweiligen Diagnosen sind der Tabelle 3 zu entnehmen. Der Median der Laborwerte für Thrombozyten, Quick, Albumin, Bilirubin, MELD Score (Model for End Stage Liver Disease) und alkalische Phosphatase lagen jeweils im Normbereich und unterschieden sich nicht wesentlich. Die Transaminasen GOT, GPT und GGT lagen bei allen Patienten deutlich über dem normalen Referenzbereich.

Der Median der Leberelastizität gemessen in Kilopascal betrug für das eingeschlossene Gesamtkollektiv (n=104) 6,8 kPa und war somit etwas höher als bei dem von Roulot et al. 2008 [21] ermitteltem Normalkollektiv von 5,49 kPa. Insgesamt etwas höher die bei den HCV(8,1 kPa) und NASH(8,85kPa) Patienten und deutlich niedriger bei den PBC (3,9kPa) Patienten. Bei den übrigen Patienten mit unklaren Diagnosen (n=18) entsprach der Median in etwa dem Gesamtkollektiv. Im Mittel betrug die Erfolgsquote bei den eingeschlossenen Patienten 91% (Mittelwert der erfolgreichen Fibroscanmessungen gemessen an der Gesamtzahl der Messungen).

3.1.3 Anzahl der Portalfelder und Stanzzyylinderlänge

Die Stanzzyylinderlängen unterschieden sich für beide Leberlappen nicht wesentlich. Für rechts war der Median 1,2 cm und links 1,35 cm. Bei den Medianen der Portalfelder waren entsprechend der etwas längeren Probe links etwas mehr Portalfelder zu zählen (rechts: 8,5; links:10).

Bei der Gesamtzyylinderlänge (Summe der Stanzzyylinderlänge links und rechts) betrug der Median 2,4. Obwohl 20 Patienten nur eine Stanze entnommen bekommen haben und dementsprechend eine nur relativ geringe Stanzzyylinderlänge aufwiesen,

ist dieser Median in etwa der Summe der einzelnen Mediane entsprechend. Die Gesamtportalfelder (Summe rechts und links) entsprachen im Median 16.

3.1.4 Verteilung der Fibrosegrade bezogen auf das Gesamtkollektiv und dessen Subgruppen

Die Fibrosegrade wurden anhand der histologischen Auswertung in Fibrosegrade F0 bis F4 unterteilt, das Staging erfolgte hauptsächlich nach dem Scoring-System von Desmet und Scheuer, bei den Patienten mit einer Steatosis hepatis (NASH und ASH Patienten) wurde der nichtalkoholische Aktivitäts-Score (NAS) verwendet (siehe Kap. 1.2.1.1. Histologie).

Die Fibrose-Scores verteilten sich bezogen auf das untersuchte Kollektiv (n=104) wie folgt: 23 Patienten wurden keiner Fibrose (F0), 25 Patienten einer milden Fibrose (F1), 23 Patienten einer mäßigen Fibrose (F2), 12 Patienten einer schweren Fibrose und 21 Patienten einer Zirrhose zugeordnet. Die Verteilung der Fibrosegrade auf die Subgruppen ist der Tabelle 10 zu entnehmen.

Dabei fiel auf, dass bei den HCV-Patienten eine überdurchschnittliche Häufung mit schwerwiegenden Fibrotestadien zu finden war (44% im Zirrhosestadium). Insgesamt waren die Fibrotestadien aber relativ gleichmäßig auf alle Stadien verteilt. Bei den HBV-Patienten war die Stadienverteilung sehr ausgeglichen. Bei der Diagnose AIH und insbesondere bei der PSC, PBC und der NASH sind überwiegend mäßige bis milde Fibrose-Stadien diagnostiziert worden. Zusammen mit den übrigen Diagnosen sind knapp die Hälfte aller Untersuchungen einer milden bis gar keiner Fibrose zuzuschreiben. Keine Zirrhose (F=4) sind bei der PSC und PBC gefunden worden.

Tab. 10 Verteilung der Fibrosegrade (F0-F4), der Entzündungsaktivität (A0-A3) und des ML/Histo Mischscores bezogen auf das Gesamtkollektiv und die Subgruppen.

	GESAMT n=104 (100%)	HCV* 27(26%)	HBV 9(9%)	AIH* 12(12%)	PSC 6(6%)	PBC* 9(9%)	NASH 16(15%)	ÜBRIGE 25(24%)
Staging nach Desmet und Scheuer und NAS- Score (n(%))								
F0-F1	48(46%)	8(30%)	2(22%)	3(25%)	4(67%)	6(67%)	9(56%)	16(64%)
F2	23(22%)	6(22%)	3(33%)	5(42%)	1(17%)	1(11%)	4(25%)	3(12%)
F3	12(12%)	1(4%)	2(22%)	2(17%)	1(17%)	2(22%)	2(13%)	2(8%)
F4	21(20%)	12(44%)	2(22%)	2(17%)	0(0%)	0(0%)	1(6%)	4(20%)
Grading nach Desmet und Scheuer und NAS- Score (n(%))								
A0	2(2%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	2(22%)	0(0%)	0(0%)
A1	35(34%)	6(22%)	1(11%)	2(17%)	3(50%)	3(33%)	5(31%)	15(60%)
A2	45(43%)	13(48%)	5(56%)	4(33%)	3(50%)	3(33%)	9(56%)	8(32%)
A3	18(17%)	8(29%)	2(22%)	4(33%)	0(0%)	0(0%)	2(13%)	2(8%)
A4	4(4%)	0(0%)	1(11%)	2(17%)	0(0%)	1(11%)	0(0%)	0(0%)
ML/Histo Mischscore (n(%))								
1 = Normalbefund	9(9%)	2(7%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	1(11%)	2(13%)	4(16%)
2 = Fibrose	66(63%)	12(44%)	6(67%)	7(58%)	6(100%)	6(67%)	13(81%)	16(64%)
3 = Zirrhose	29(28%)	13(48%)	3(33%)	5(42%)	0(0%)	2(22%)	1(6%)	5(20%)

* bei den Patienten mit 2 Diagnosen (overlap) wurde die klinisch führende Diagnose gewählt.

3.1.5 Verteilung der Entzündungsparameter auf das Gesamtkollektiv und dessen Subgruppen.

Insgesamt zeigt sich eine Häufung der Gradeinteilungen bei den mittleren bis unteren Stufen (A1-A2), punctum maximum A2(43%). Die Diagnosen mit sehr hoher (A4) oder gar keiner Aktivität (A0) sind sehr selten gestellt worden, A4 bei HCV, PSC und NASH gar nicht, A0 nur 2 mal bei der PBC. Es fiel auf, daß analog zu den mit eher schwerwiegenden Fibrosenstadien behafteten Diagnosen HCV, HBV und AIH, ebenfalls Entzündungsaktivitäten in den höheren Stadien zu finden waren. Hingegen wiesen die Diagnosen mit gehäuft niedrigen Fibrorestadien auch hauptsächlich mittlere bis niedrige Entzündungsaktivitäten auf. Die Verteilung ist detailliert der Tabelle 10 zu entnehmen.

3.1.6 Verteilung der Fibroseklassifizierung des Gesamtkollektivs und dessen Subgruppen bezogen auf den Minilaparoscopie / Histologie Mischscore (ML/Histo Mischscore).

Gemäß dem ML/Histo Mischscore bei dem eine makroskopisch/histologisch kombinierte Beurteilung des Lebergewebes erfolgte, wie im Methodenteil beschrieben (Kap. 2.5.), hatten 9 Patienten ein Normalbefund, 66 Patienten eine Fibrose und 29 Patienten eine Zirrhose. Die Verteilung auf die jeweiligen Diagnosen ist der Tabelle 10 zu entnehmen. Im Vergleich zu dem rein histologischem Scoring, fiel auf, daß der Anteil mit einer Fibrose bei allen Diagnosen deutlich zunahm. Dies lässt sich auf Grund der Tatsache erklären, dass die histologisch beurteilten Fibrosen (F1-F3) zu einer gemeinsamen Gruppe (F=2) zusammengefasst wurden. Auffällig waren die Diagnosen AIH und PBC bei der ein deutlicher Zuwachs an prozentualem Zirrhoseanteil (AIH von 17% auf 48% und PBC von 0% auf 22%) hinzukam. Hingegen hatten die Diagnosen HBV, AIH und PSC keine Normalbefunde und die übrigen Diagnosen eine deutlich reduzierte Anzahl an Normalbefunden aufzuweisen.

3.1.7 Zirrhosediagnostik im Vergleich: Minilaparoscopie versus Histologie

Bezogen auf die Zirrhosediagnostik sind in Tabelle 10 gemäß dem Histologischem Staging n=21 Zirrhosen diagnostiziert worden, hingegen sind bei der kombinierten makroskopischen/histologischen Betrachtung n=29 Zirrhosen detektiert worden. Des Weiteren hat sich ein großer Teil der Normalbefunde von n=48 bei der histologischen Einteilung auf lediglich n=9 bei der kombinierten Einteilung zugunsten einer Fibrose minimiert. Die Folgende Tabelle 11 zeigt die Diskrepanz in der Bewertung der Zirrhose und der Normalbefunde.

Tab. 11 Zirrhosediagnostik Minilaparoscopie/ Histologie

	Histologie		Total
	Zirrhose/nein	Zirrhose/ja	
ML Zirrhose/ nein	75	2	77
ML Zirrhose/ ja	8	19	27
Total	83	21	104

Die 4-Felder Tafel zeigt, dass übereinstimmend bei 19 Patienten sowohl histologisch als auch minilaparoskopisch eine Zirrhose diagnostiziert wurde. Zu den bereits histologisch gesicherten Zirrhosen (n=21), kamen n=8 (gestrichelt markiert) allein durch die minilaparoskopisch detektierten Zirrhosen hinzu (1x HCV, 1x HBV, 3x AIH, 2xPBC, 1x Übrige Diagnosen). 2 Zirrhosen (gepunktet markiert) sind ausschließlich anhand der Histologie erkannt worden, in beiden Fällen war die Diagnose zum Abschluss der Datenerfassung noch nicht festgelegt.

In der folgenden Tabelle 12 sind nochmal detailliert die 8 Zirrhose Patienten mit Diskrepanzen Minilaparoskopie / Histologie Befunden mit den jeweils wichtigsten Parametern aufgelistet. Dabei fiel auf, dass die 2 Patienten mit normwertigen Leberelastizitätswerten (Spanne von 2,5-5,6 kPa) jeweils passend dazu auch im histologischem Staging jeweils normwertige (F=0) Beurteilungen aufwiesen. Die Diagnose Zirrhose wurde in diesen Fällen nur anhand der makroskopischen Begutachtung gestellt.

Die 5 Patienten mit deutlich erhöhten Leberelastizitätswerten (>10 kPa) wiesen alle passend zur Makroskopie an beiden Leberlappen das Bild einer Zirrhose auf (ML Grad 3 links und rechts). 4 Patienten hiervon hatten auch eine hochgradige Fibrose (F3). Der Grad der Entzündungsaktivität und der Diagnose scheint hierbei nur von sekundärer Bedeutung zu sein.

Im zweiten Teil der Tabelle werden diejenigen Patienten dargestellt, die histologisch einen Normalbefund aufwiesen (Fibrosegrad F=0) aber makroskopisch eine Fibrose (n=12) oder sogar eine Zirrhose(n=2) diagnostiziert bekamen. 11 dieser insgesamt 14 Patienten hatten normwertige Leberelastizitätswerte (Spanne von 2,5-5,6kPa), einer war mit 5,8 kPa grenzwertig und insgesamt 2 Patienten hatten etwas erhöhte Elastizitätswerte (7,3-9kPa). Die beiden Patienten mit der Zirrhose im Mischscore hatten jeweils eine gemischte makroskopische Beurteilung der jeweiligen Leberlappen, der rechte Leberlappen wurde jeweils nur mit einer Fibrose bewertet.

Tab.12 Diskrepanz Minilaparoskopie (ML) zur Histologie

Diagnose	Elastizität	Grading	Staging	ML	ML/HISTO Mischscore
	(kPa)	A0-A4	F0-F4	1 Normal 2 Fibrose 3 Zirrhose	1 Normal 2 Fibrose 3 Zirrhose

n=8 Patienten mit pos. Zirrhose in ML aber neg. Zirrhose in Histologie					
HCV	8,2	3	2	re. 2; li. 3	3
HBV	13,8	re. 1; li. 3	re. 0; li. 3	3	3
AIH	4,9	3	0	re. 2; li. 3	3
AIH	10,8	4	2	3	3
AIH	40,3	2	3	3	3
PBC	5,6	2	0	re. 2; li. 3	3
PBC	21,3	2	3	3	3
ASH	75	3	3	3	3

n=14 Patienten mit histologischem Normalbefund und makroskopische Fibrose/Zirrhose					
HCV	7,3	1	0	2	2
HBV	5,6	2	0	2	2
HBV	3,7	1	0	re. 1; li. 2	2
AIH	4,9	3	0	re. 2; li. 3	3
PSC	9	2	0	2	2
PBC	3,8	0	0	2	2
PBC	5,3	1	0	2	2
PBC	3,5	1	0	2	2
PBC	5,6	2	0	re. 2; li. 3	3
NASH	4,3	2	0	2	2
NASH	5,8	2	0	2	2
NASH	4,8	1	0	2	2
NASH	5,1	1	0	2	2
Hämochromatose	4,2	1	0	2	2

In den folgenden Kapiteln 3.2 und 3.3 werden die Leberelastizitätswerte zum einen zum histologischen Staging (3.2) und zum anderen zum ML/Mischscore (3.3) korreliert. Dabei werden die Abhängigkeiten graphisch in Form von Box plots dargestellt.

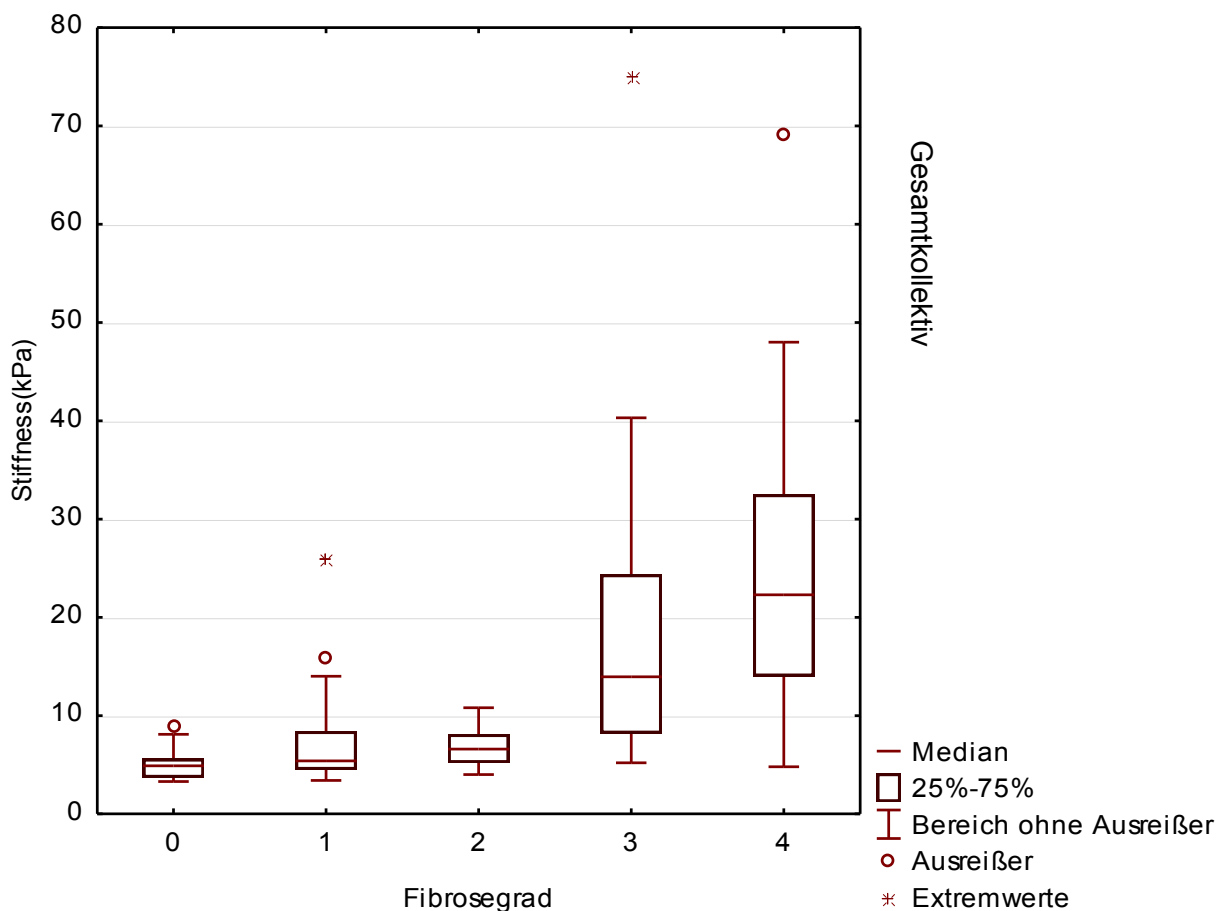
Für die Box plots gelten in gleicher Weise:

- Die Länge der Box repräsentiert 50% der erhobenen Daten und stellt die Interquartilrange dar.
- Das untere Ende der Box entspricht dem 25%-Quartil (Q1), das obere Ende der Box dem 75%-Quartil (Q3).
- Die Linie innerhalb der Box ist der Median.

3.2 Korrelation der Leberelastizitätswerte in Abhängigkeit vom histologischem Staging in Hinblick auf das Gesamtkollektiv und dessen Subgruppen.

3.2.1 Gesamtkollektiv

Abb.1 Box plots der Leberelastizitätswerte (kPa) in Bezug auf das histologische Staging (Fibrosegrade F0-F4) des Gesamtkollektivs



In der Abb. 1 wurden die im Rahmen der transienten Elastographie gemessenen Werte (kPa) des Gesamtkollektivs in Abhängigkeit zu dem jeweiligen histologischen Fibrotestadium in Form von Box plots dargestellt. Hierbei ergaben sich für die verschiedenen Fibrosegrade folgende Mediane und Quartile:

Tab. 13 Mediane und Quartile der Elastizitätsmessung bezogen auf das Fibrorestaging

Fibrosegrad	Median	Q1	Q3
F0	4,9	3,7	5,6
F1	5,4	4,5	8,4
F2	6,6	5,2	8,1
F3	14	8,2	24,4
F4	22,3	14	32,5

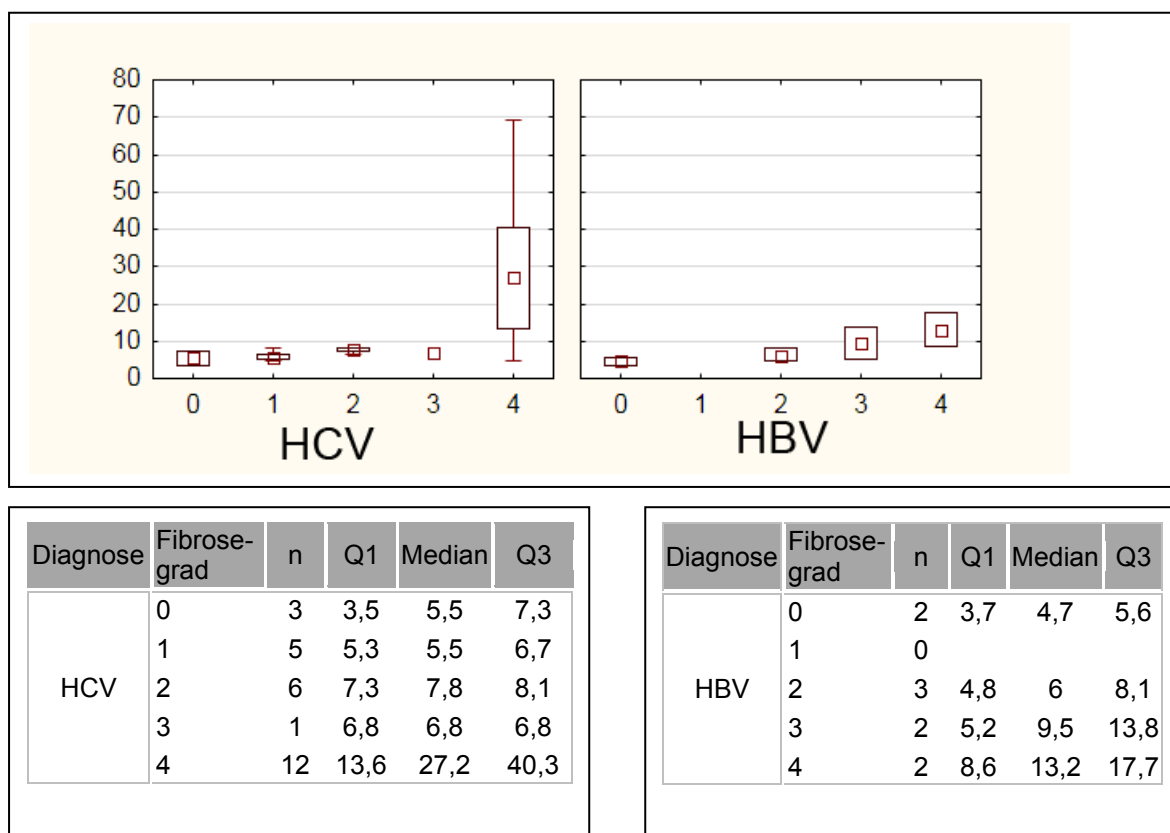
Die Leberelastizitätswerte im Gesamtkollektiv unterschieden sich signifikant in Abhängigkeit von den jeweiligen histologischen Fibrosegraden F0 bis F4 (p -Wert <0.001) und korrelierten positiv mit den Fibrosegraden beim histologischem Staging (Korrelationstest nach Spearman $\rho = 0,68$). Ebenso korrelierten die Leberelastizitätswerte in Bezug auf den ML/Histo Mischscore, jedoch in einem geringerem Ausmaß (Korrelationstest nach Spearman $\rho = 0,61$).

Bei der Betrachtung der Mediane der Elastizitätswerte (kPa) und der Box plots sind die Fibrorestadien F0-F2 in ihren Werten kaum zu unterscheiden, hingegen steigen die Elastizitätswerte deutlich bei der schweren Fibrose (Median 14 kPa) und der Zirrhose (Median 22,3 kPa). Bei den zuletzt genannten Stadien gibt es jedoch deutliche Überlappungen der Interquartilenrange (Q3=24,4 kPa bei F=3 bei bereits Q1=14 kPa bei F=4). Hingegen liegt das obere Quartilende bei mäßiger Fibrose (Q3=8,1 kPa) unterhalb dem unterem Quartilende (Q1=8,2 kPa) bei der schweren Fibrose (F3).

3.2.2 Subgruppen

Im folgendem werden die Box plots der Leberelastizität bezogen auf die jeweiligen Fibrosegrade in Abhängigkeit von den Diagnosen dargestellt. Die sich dabei ergebenden Werte sind jeweils in den nachfolgenden Tabellen dargestellt (Median, Quartile und Anzahl der Patienten=n).

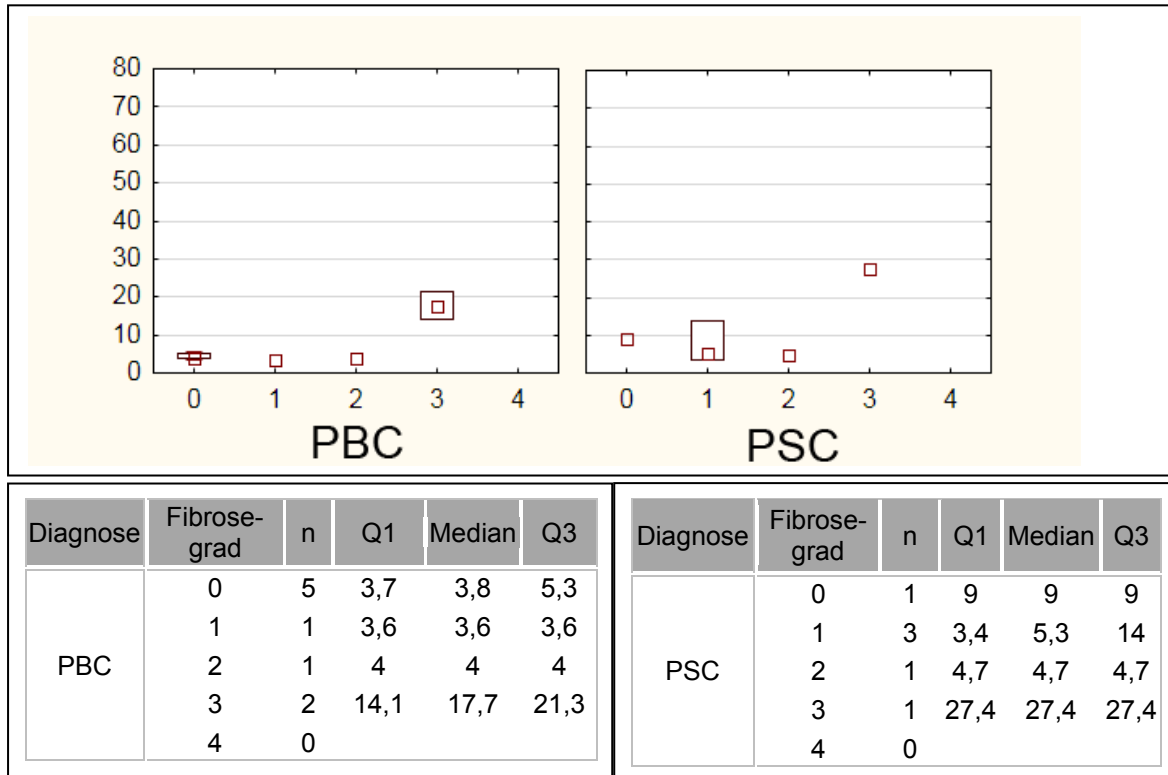
Abb.2 Box plots der Leberelastizitätswerte (kPa) von den Subgruppen HCV und HBV in Bezug auf das histologische Staging (Fibrosegrade F0-F4).



Bei der Ermittlung der Mediane bei der Diagnose HCV haben die Patienten mit dem histologischen Staging in allen Stadien der Fibrose (F0-F3) nahezu gleiche Elastizitätswerte (5,5 - 7,8 kPa). Im Endstadium der Zirrhose hingegen, bei dem gegenüber den übrigen Diagnosen, falls überhaupt vertreten (HBV n=2; AIH n=2), deutlich mehr Patienten betroffen sind (HCV n=12), ist der Median deutlich höher (27,2 kPa). Bei der Diagnose HBV sind in den Anfangsstadien F0-F2 nur geringfügige Unterschiede in den Elastizitätsmessungen aufzuweisen, hingegen

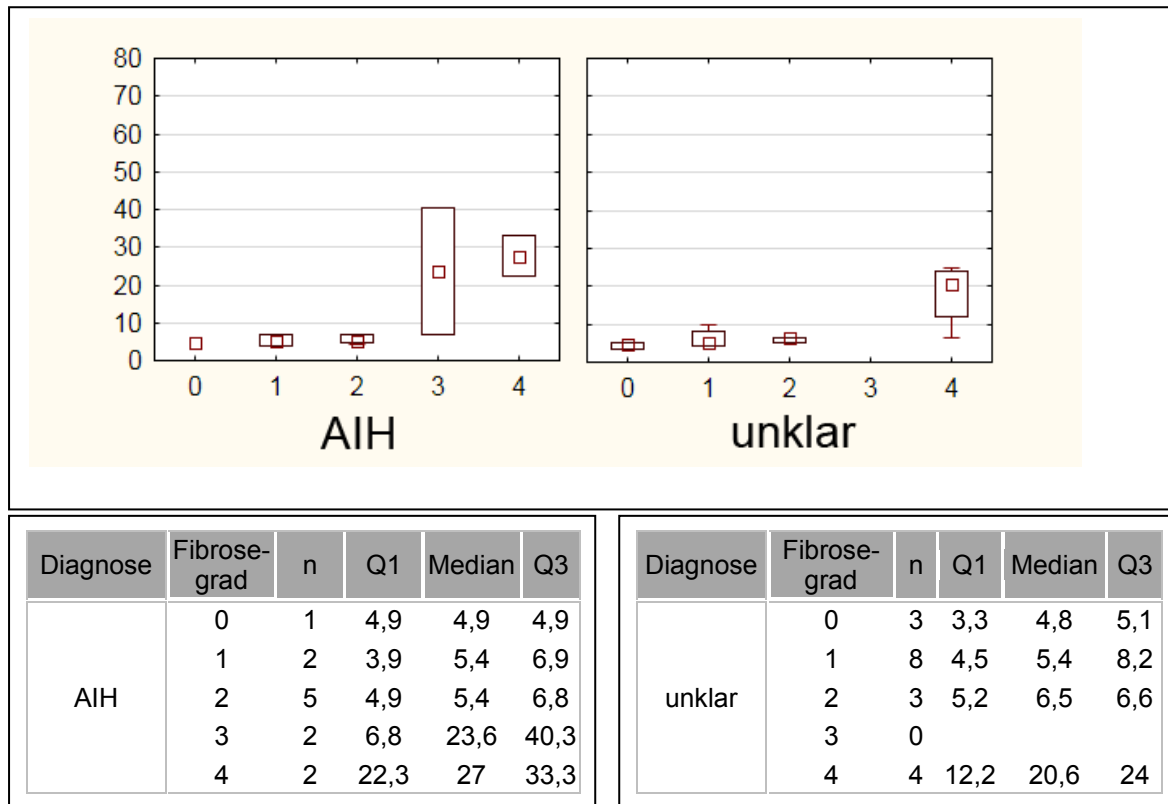
stiegen sie dann kontinuierlich von 6 kPa bei F=2 bis auf einen Wert von 13,2 kPa bei F=4 an.

Abb.3 Box plots der Leberelastizitätswerte (kPa) von den Subgruppen PBC und PSC in Bezug auf das histologische Staging (Fibrosegrade F0-F4).



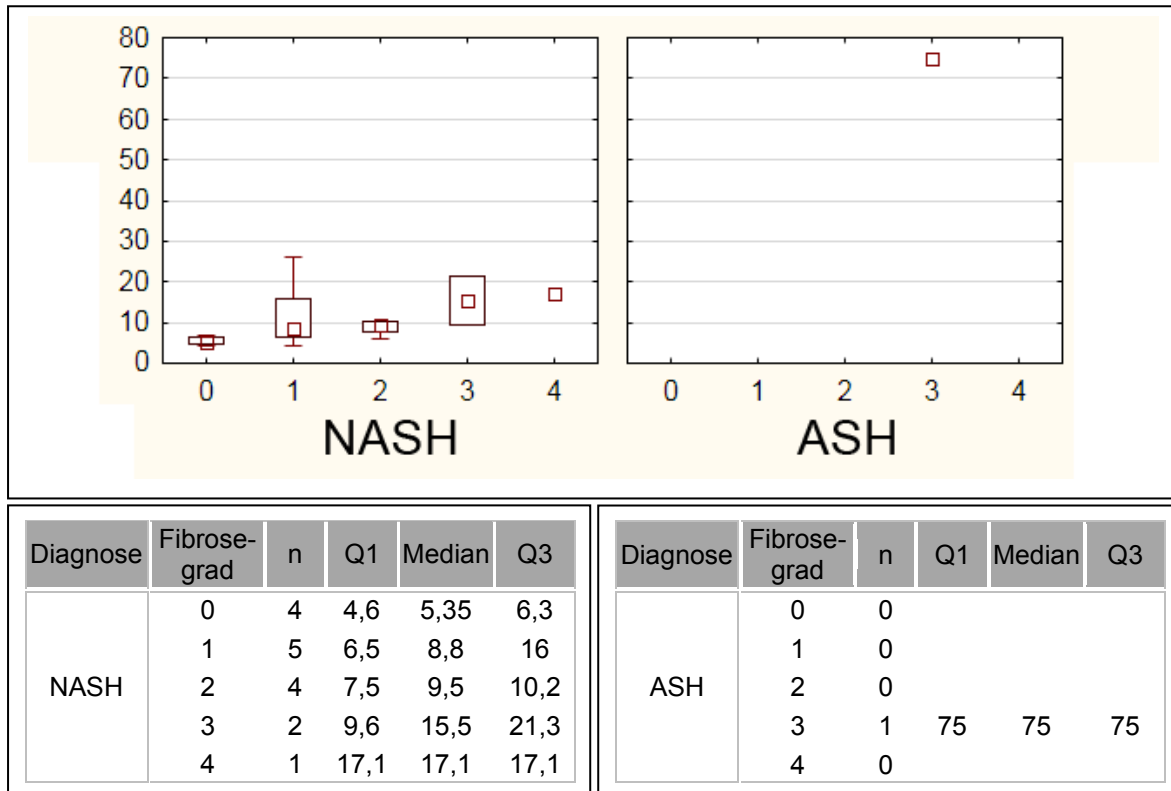
Bei der PBC und PSC ist primär auffällig, dass gar keine Patienten im Stadium der Zirrhose zu finden waren. Die zusammengerechnet 3 Patienten im Stadium der hochgradigen Fibrose (F=3) haben einen deutlich erhöhten Elastizitätswert (17,7 kPa und 27,4 kPa) im Gegensatz zu den vergleichsweise niedrigeren Werten in den Stadien F0-F2.

Abb.4 Box plots der Leberelastizitätswerte (kPa) von den Subgruppen AIH und den unklaren Diagnosen in Bezug auf das histologische Staging (Fibrosegrade F0-F4).



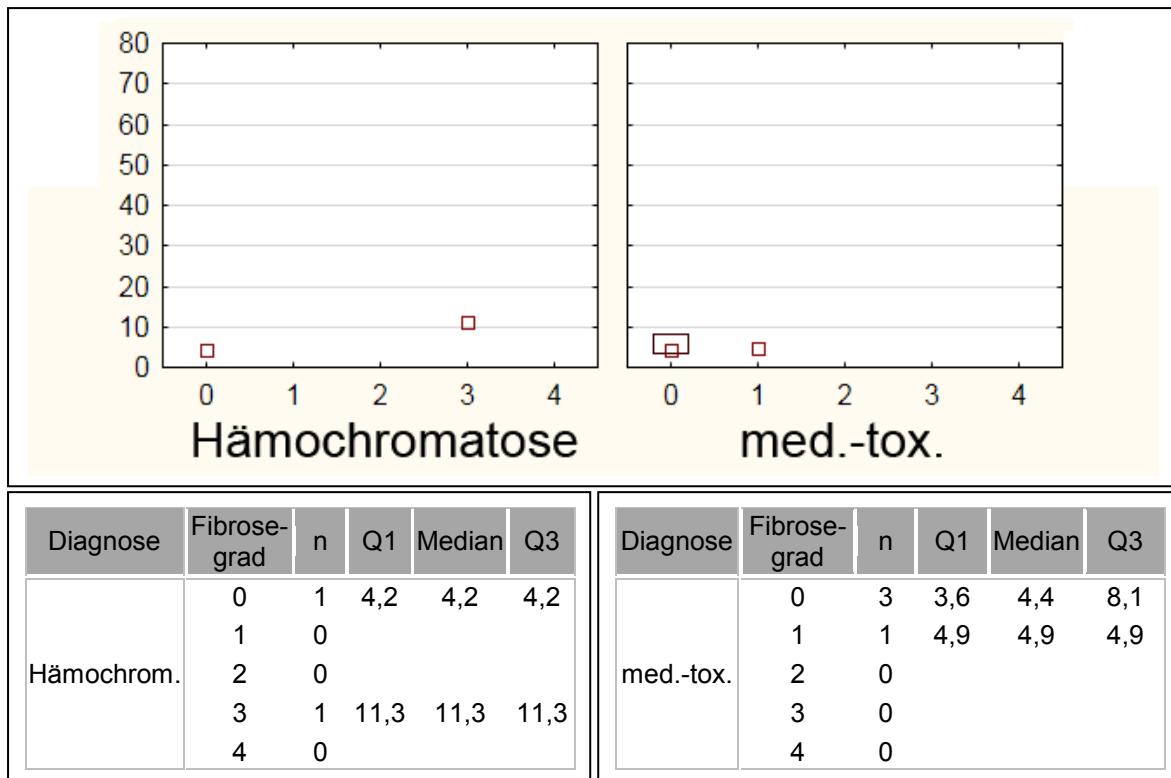
Bei der AIH und dem Kollektiv bei dem bis zur Fertigstellung der Datenaquise die Diagnosen noch nicht geklärt werden konnten, sind wie bei den bisher genannten Diagnosen, relativ ähnliche und niedrige Elastizitätswerte in den Stadien bis zur mäßigen Fibrose ($F \leq 2$) dargestellt. Dann weisen sie einen starken Anstieg bei der schweren Fibrose und der Zirrhose auf, jedoch mit einem großem Intervall im Stadium $F=3$ bei der AIH.

Abb.5 Box plots der Leberelastizitätswerte (kPa) von den Subgruppen NASH und ASH in Bezug auf das histologische Staging (Fibrosegrade F0-F4).



Bei der Betrachtung der Werte bei der Diagnose der NASH scheint es einen nahezu linearen Zusammenhang zwischen den Leberelastizitätswerten und dem Histologischen Staging zu geben. Die Werte für die höheren Stadien entsprechen gut den bisherigen ermittelten Werten. Bei dem einzigen Patienten mit der Diagnose ASH ist der Elastizitätswert 75 kPa bei einer schweren Fibrose sicherlich als Ausreißer zu sehen, es bestehen zudem Zweifel an der histologischen Beurteilung, bei der nicht eindeutig ein Fibrosescore angegeben wurde. Möglicherweise wird die Messung durch die bestehende mittelgradige Entzündungsaktivität (Grad 3 nach Desmet et. al) bzw. durch eine bestehende Cholestase beeinflusst, der Billirubin-Wert ist mit 6,4 deutlich erhöht und die Transaminasen sind mit GOT 67 U/l und GPT 34 U/l erhöht. Minilaparoskopisch wurde hier eine beidseitige Zirrhose diagnostiziert.

Abb.6 Box plots der Leberelastizitätswerte (kPa) von den Subgruppen Hämochromatose und medikamentös-toxisch in Bezug auf das histologische Staging (Fibrosegrade F0-F4).



Bei den wenigen Patienten mit einer Hämochromatose bzw. einer Medikamenten-toxisch bedingten Lebererkrankung, sind erwartungsgemäß niedrige Werte im Bereich bis F=2 dargestellt und es wurde ein eher niedriger Wert für das Stadium F=3 erzielt.

3.3 Varianzanalyse der Einzelfaktoren bezogen auf die Histologie und den ML/Mischscore.

3.3.1 Varianzanalyse der Diagnosegruppen und dem histologischen Staging

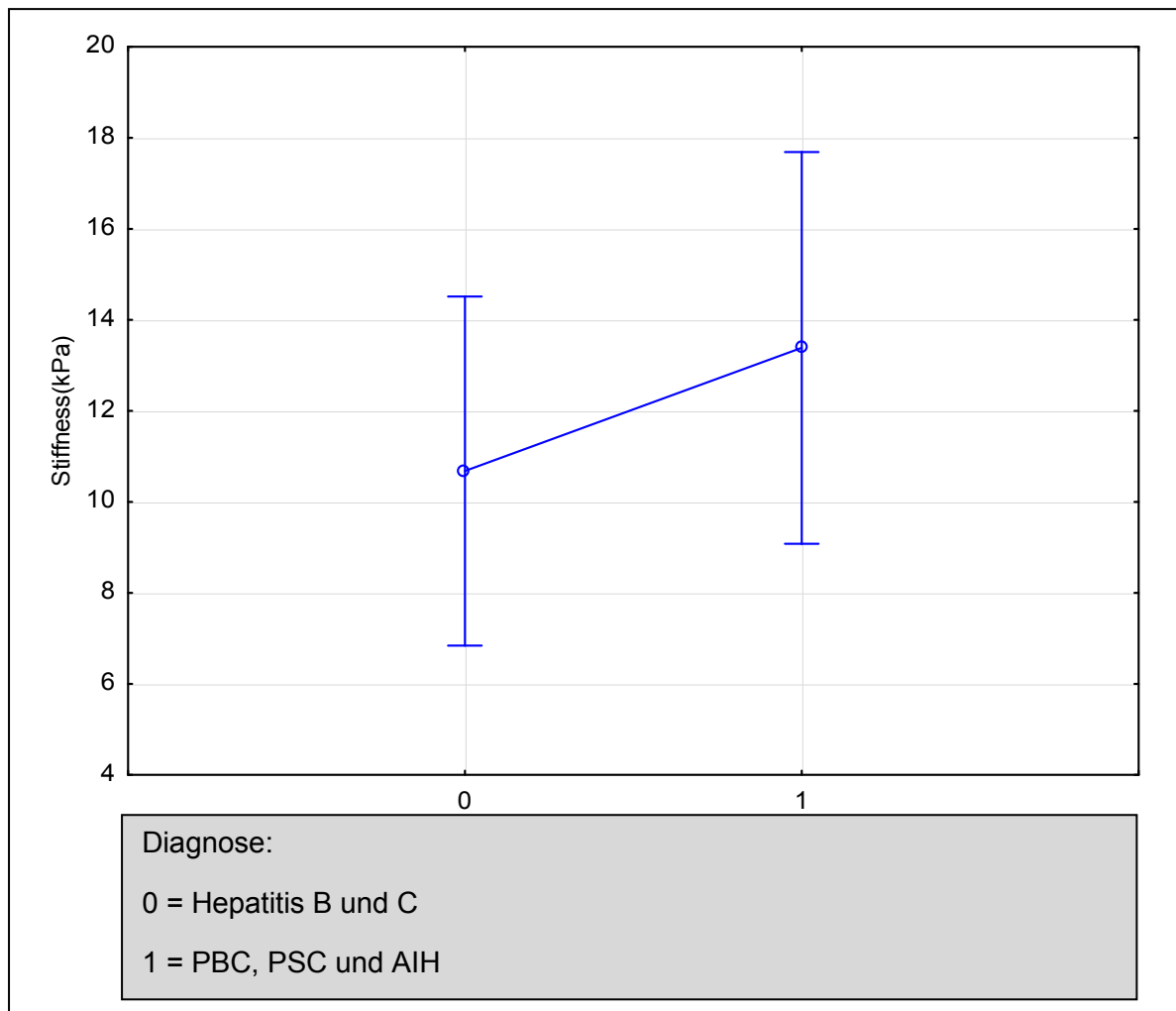
Um herauszufinden, ob es zwischen den einzelnen Diagnosen unterschiedliche Gesetzmäßigkeiten bezüglich der Verteilung der Fibrosewerte auf das jeweilige histologische Staging gibt, wurde im folgendem eine Varianzanalyse durchgeführt. Um eine ausreichende statistische Power der zu vergleichenden Gruppen zu

erlangen, wurden dabei zwei Gruppen mit jeweils ähnlicher Ätiologie miteinander verglichen. In der ersten Gruppe sind die viral bedingten Hepatitiden zusammengefasst (HBV und HCV; n=36) und in zweiten Gruppe die Patienten mit den Diagnosen aus dem Formenkreis der autoimmunen Lebererkrankungen (AIH, PBC, PSC; n=27).

Tab. 14 Varianzanalyse der Diagnosegruppe bezogen auf die Histologie

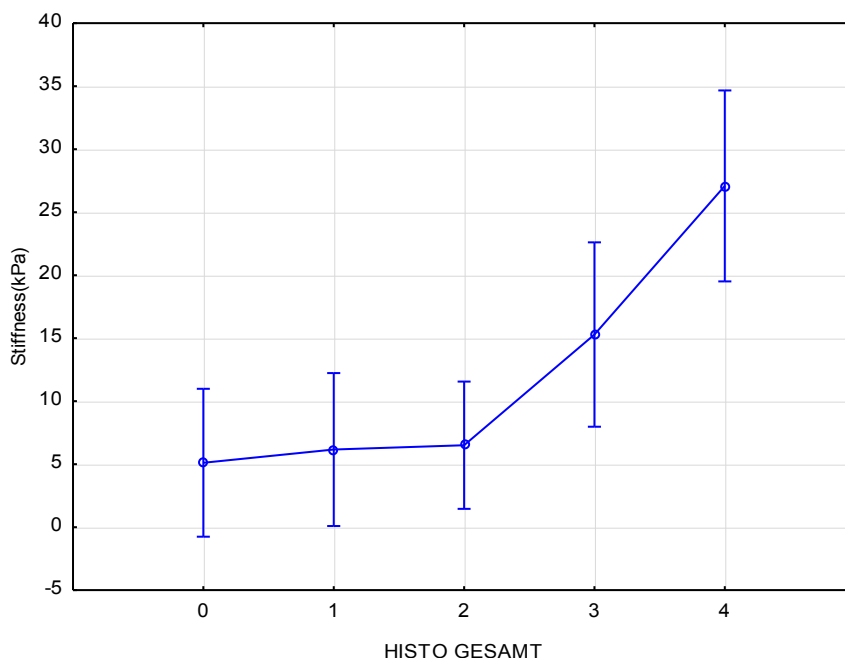
Faktor	p-Wert	Interpretation
Diagnosegruppe (HCV,HBV)vs. (AIH, PBC, PSC)	0.35	nicht signifikant
Histologisches Staging (F0-F4)	<0.001	signifikant
Wechselwirkung Diagnose/Staging	0.55	nicht signifikant

Abb. 7 Haupteffekt Diagnose (virale Hepatitiden vs. Autoimmune Erkrankungen)



Die Abb. 7 zeigt den Haupteffekt der Diagnose, bei dem über alle Stufen der Stiffness (kPa) gemittelt wurde, da diese hier nicht von Interesse sind. Die Unterteilung in die zwei oben genannten Subgruppen ergab keinen signifikanten Unterschied (p -Wert = 0.35) im Verhalten der Diagnoseentitäten gegenüber der Lebersteifigkeitsmessungen. Die Diagnosen beeinflussen also nicht die Abhängigkeit des histologischen Staging gegenüber der Lebersteifigkeit (kPa).

Abb.8 Haupteffekt Fibrorestaging (F0-F4)

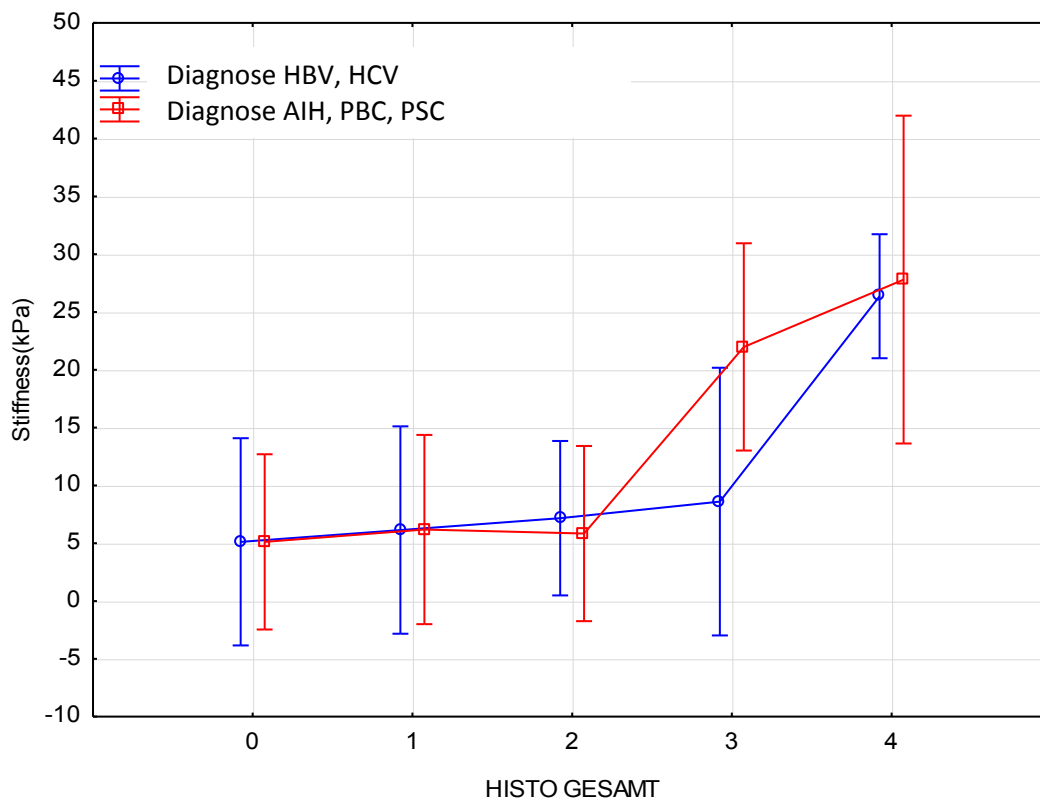


Wie bereits oben genannt unterschieden sich, wie in Abb. 8 zu sehen, die Leberelastizitätswerte im Gesamtkollektiv signifikant in Abhängigkeit von den jeweiligen Fibrosegraden F0 bis F4 (p -Wert<0.001).

In Abb. 9 ist die Wechselwirkung der beiden Diagnoseentitäten dargestellt. Es scheint, als ob beim F3-Staging die Autoimmunen Hepatitiden bereits höhere Kilopascal-Werte annehmen würden. Einen statistisch signifikanten Unterschied gab es hierbei jedoch nicht (p = 0,55). Ansonsten sind die Steifigkeitswerte bezogen auf die Übrigen histologisch gesicherten Fibrostufen bei beiden Dignoseentitäten nahezu identisch.

Es ergibt sich somit kein Hinweis darauf, dass in Abhängigkeit der hier untersuchten Diagnoseentitäten, bei gleichem Fibrosestadium gemessen an dem jeweiligen Histostaging, gewisse Diagnosen früher höhere Steifigkeitswerte aufweisen als andere.

Abb. 9 Wechselwirkung Diagnose und Fibrose



Tab. 15 T-Test zu den einzelnen Histologiestufen

Paarvergleich	Gruppe	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert (adjustiert)	Interpretation
1	0	5.1	1.5	0,15	nicht signifikant
	1	7.4	5.0		
2	1	7.4	5.0	1	nicht signifikant
	2	6.9	1.9		
3	2	6.9	1.9	<0.01	signifikant
	3	21	19.8		
4	3	21	19.8	1	nicht signifikant
	4	24.5	15.7		

Bei dem T-Test in Tab. 15 sind die jeweiligen Mittelwerte der Stiffness im T-Test miteinander verglichen. Dabei stellt sich heraus, dass lediglich bei der Stufe zwischen den Fibrosestufen F=2 und F=3 ein signifikanter Unterschied besteht. Hierbei wurde das Signifikanzniveau bei einer Anzahl von 4 Paarvergleichen von $\alpha=5\%$ auf $\alpha=1,25\%$ gesenkt (p-Wert adjustiert).

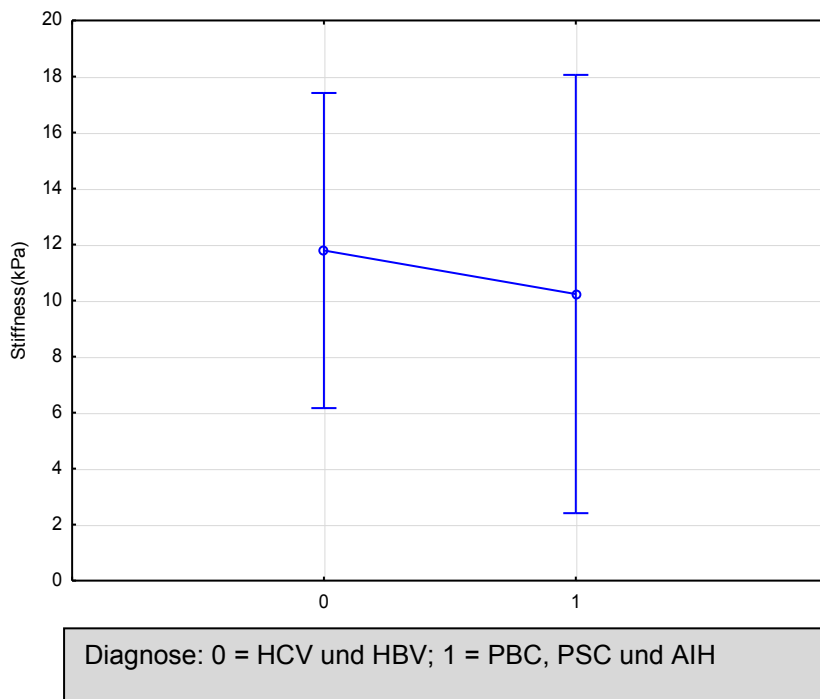
3.3.2 Varianzanalyse der Diagnosegruppen und dem ML/Mischscore

Wie in Kapitel 3.3.1 ist im Folgendem eine Varianzanalyse zur Bestimmung der Gesetzmäßigkeiten bezüglich der Verteilung der Fibrosewerte auf das jeweilige histologische Staging durchgeführt worden. Diesesmal wurde jedoch die Verteilung der Lebersteifigkeitswerte gegenüber dem ML/Mischscore aufgeführt. Es wurden wiederum die Gruppen der viral bedingten Hepatitiden (HBV,HCV; n=36) und die autoimmunen Lebererkrankungen (AIH, PBC, PSC; n=27) zusammengefasst und mit dem ML/Mischscore korreliert.

Tab. 16 Varianzanalyse der Diagnosegruppe bezogen auf den Mischscore

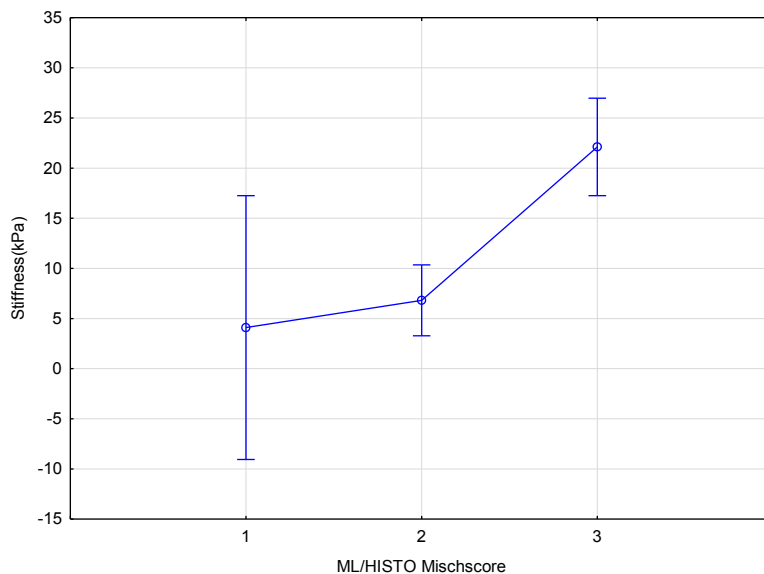
Faktor	p-Wert	Interpretation
Diagnosegruppe (HCV,HBV) vs. (AIH, PBC, PSC)	0.74	nicht signifikant
ML/Mischscore (1-3)	<0.001	signifikant
Wechselwirkung Diagnose/Staging	0.66	nicht signifikant

Abb.10 Haupteffekt Diagnose



Die Abb. 10 zeigt den Haupteffekt der Diagnose bei dem über alle Stufen der Stiffness (kPa) gemittelt wurde, da diese hier nicht von Interesse sind. Die Unterteilung in die zwei oben genannten Subgruppen ergab auch bei der Korrelation mit dem gemischten ML/Mischscore keinen signifikanten Unterschied (p-Wert = 0.74). Die Diagnosen beim ML/Mischscore beeinflussen also ebenfalls nicht die Abhängigkeit des histologischen Staging gegenüber der Lebersteifigkeit (kPa).

Abb.11 Haupteffekt Fibrose

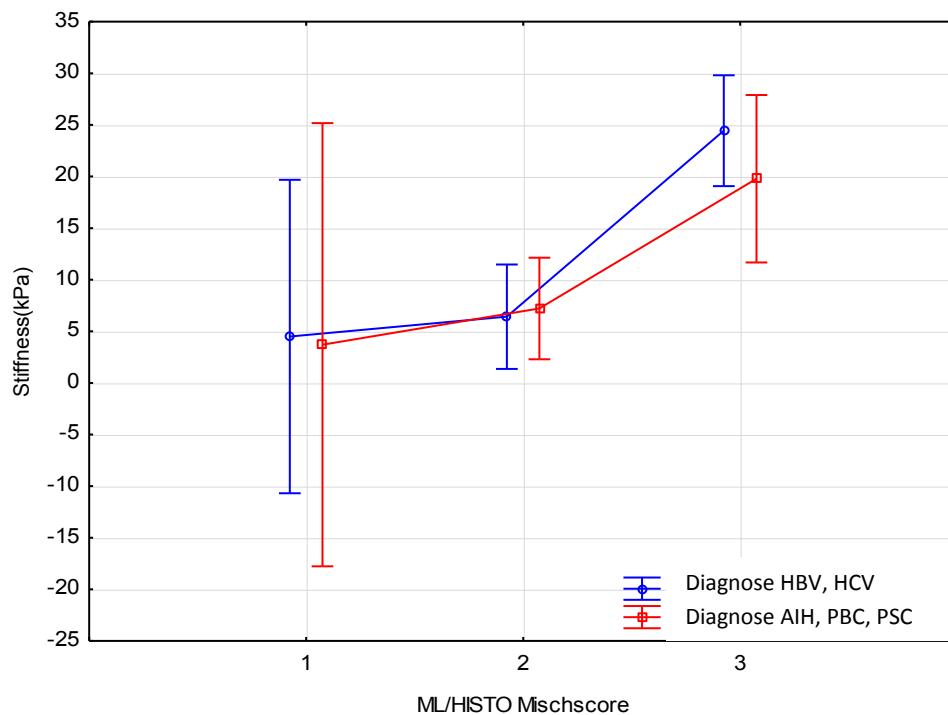


Auch in Bezug auf den Mischscore unterschieden sich, wie in Abb. 11 zu sehen, die Leberelastizitätswerte im Gesamtkollektiv signifikant in Abhängigkeit von den jeweiligen Fibrosegraden F0 bis F4 (p -Wert <0.001).

In Abb. 12 ist die Wechselwirkung der beiden Diagnoseentitäten in Bezug auf den Mischscore dargestellt. Hierbei unterscheiden sich die Mittelwerte in kPa der beiden Diagnoseentitäten, im Gegensatz zum Histostaging, bei den Fibrosegraden kaum. Es ist also auch bereits visuell keine Wechselwirkung darstellbar. Bestätigt wird diese Einschätzung durch den nicht signifikanten p -Wert ($p=0,55$).

Es gibt also insbesondere in Bezug auf den Mischscore keinen Hinweis darauf, dass unterschiedliche Diagnosen, gemessen an dem jeweiligen Histostaging bei gleichem Fibrorestadium, früher zu höheren Steifigkeitswerten führen als andere.

Abb. 12 Wechselwirkung Diagnose und Fibrose



Tab. 17 T-Test zu den einzelnen Histologiestufen (F0-F3)

Paar- vergleich	Gruppe (Fibrosestadium)	Mittelwert	Standard- abweichung	p-Wert (adjustiert)	Interpretation
1	0	5.1	1.5	0,15	Nicht signifikant
	1	7.4	5.0		
2	1	7.4	5.0	1	Nicht signifikant
	2	6.9	1.9		
3	2	6.9	1.9	<0.01	signifikant
	3	21	19.8		

Bei dem T-Test in Tabelle 17 sind die jeweiligen Mittelwerte der Stiffness (kPa) im T-Test miteinander verglichen, dabei stellt sich heraus, dass lediglich bei der Stufe zwischen den Fibrorestufen F=2 und F=3 ein signifikanter Unterschied besteht. Hierbei wurde das Signifikanzniveau bei einer Anzahl von 3 Paarvergleichen von $\alpha=5\%$ auf $\alpha=1,7\%$ gesenkt (p-Wert adjustiert).

3.4 ROC (Receiver- operating characteristics) Kurven

Mittels ROC-Kurven wurde die diagnostische Genauigkeit der Leberelastizitätsmessungen bezogen auf das Gesamtkollektiv ermittelt. Die ROC-Kurven zeichnet die Sensitivität versus 1-Spezifität für alle möglichen Schwellenwerte (Cut-off Werte) eines Verfahrens auf. Die diagnostische Genauigkeit wird dabei als Fläche unter der ROC-Kurve (AUROC (Area under the receiver operating characteristics curve)) mit 95% Konfidenzintervall angegeben, wobei Werte gegen 1,0 eine hohe diagnostische Genauigkeit aufweisen.

Die ROC-Kurven wurden zum einen bezogen auf das histologische Fibrorestaging und zum anderen auf die kombiniert makroskopisch/histologische Beurteilung (ML/Mischscore).

Beim histologischem Fibrorestaging wurden ROC-Kurven für $F \geq 2$ (*signifikante* Fibrose), $F \geq 3$ (*schwere* Fibrose) und $F = 4$ (*Zirrhose*) erstellt. Auf eine Auswertung für $F \geq 0$ (keine Fibrose) und $F \geq 1$ (geringgradige Fibrose) wurde verzichtet, da diese Stadien nicht von klinischer Relevanz sind.

In gleicher Weise wurden die ROC-Kurven bezogen auf die Fibroseklassifizierung (Normal (1), Fibrose (2), Zirrhose (3)) für $F > 1$ (Fibrose) und $F > 2$ (Zirrhose) auf dem Boden der kombiniert makroskopisch/histologischen Beurteilung (Mischscore) erstellt.

Die optimalen Cut-off Werte wurden definiert als der maximale Summenwert aus Sensitivität und Spezifität. Für diese ermittelten Cut-off Werte wurden die entsprechenden Werte für die Sensitivität, die Spezifität sowie für den positiv und negativ prädiktiven Wert bestimmt.

3.4.1 ROC- Kurve FS/Histo (Fibroscan/Histologie): Gesamtkollektiv

Abb.13 Gesamtkollektiv F $\geq$ 2 Histostaging

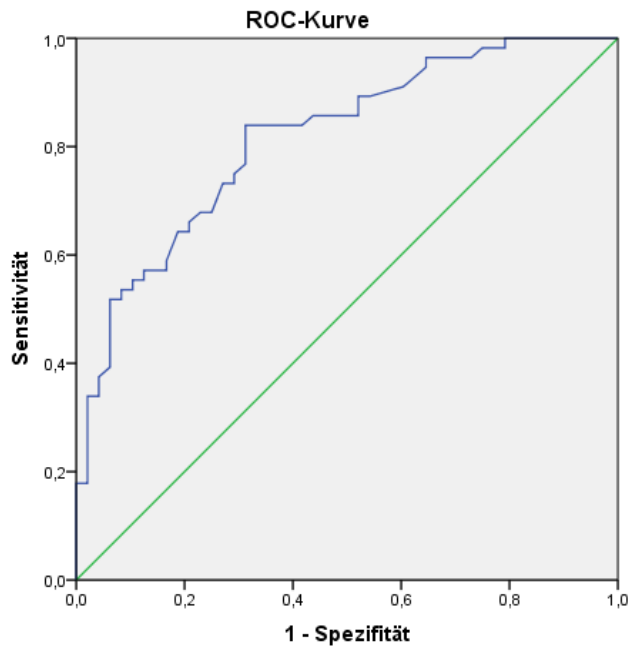


Abb.14 Gesamtkollektiv F $\geq$ 3 Histostaging

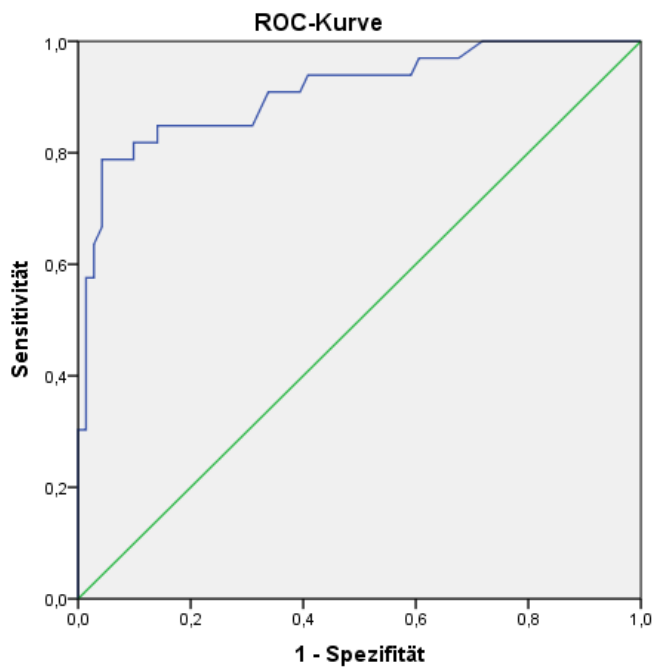
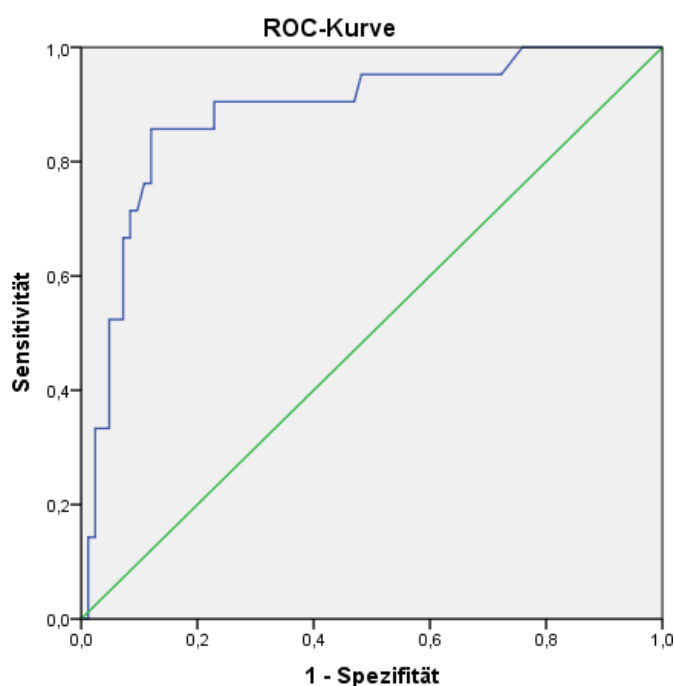


Abb.15 Gesamtkollektiv F=4 Histostaging



Tab.18 Diagnostische Genauigkeit Fibroscan/Histologie

Gesamtkollektiv	FS/Histo		
	F$\geq$2	F$\geq$3	F=4
AUROC	0,82	0,91	0,89
Optimaler cutoff (kPa)	5,9	11,1	11,8
Sensitivität	0,84	0,79	0,86
Spezifität	0,69	0,96	0,88

In den Abbildungen 13 bis 15 wurden die ROC-Kurven bezogen auf das histologische Fibroestaging für das Gesamtkollektiv dargestellt. Die AUROC-Werte (95% Konfidenzintervall (KI) waren 0,82 (0,74-0,9) für F $\geq$ 2, 0,91 (0,85-0,98) für F $\geq$ 3 und 0,98 (0,8-0,97) für F=4. Die optimalen Cut-off Werte betrugen 5,9 kPa für F $\geq$ 2, 11,1 kPa für F $\geq$ 3 und 11,8 kPa für F=4. Die entsprechenden Werte für Sensitivität und Spezifität sind der Tabelle 18 zu entnehmen.

3.4.2 ROC-KurveFS/Mischscore (Fibroscan/Minilaparoskopie-Histologie Mischscore)

Abb.16: ROC-Kurve ROCM1 (F>1 im ML/HistoMischscore)

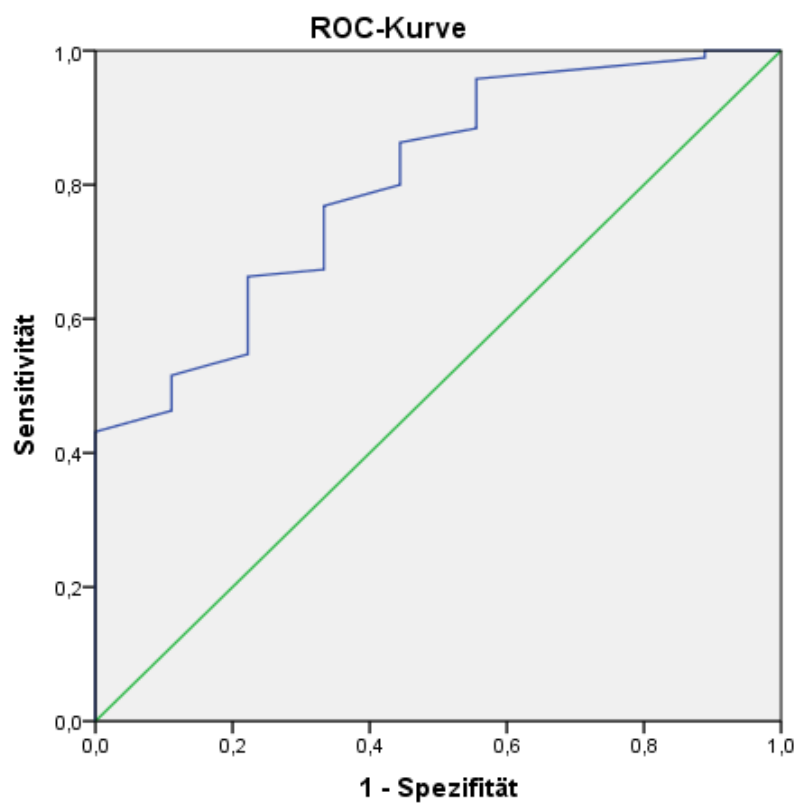
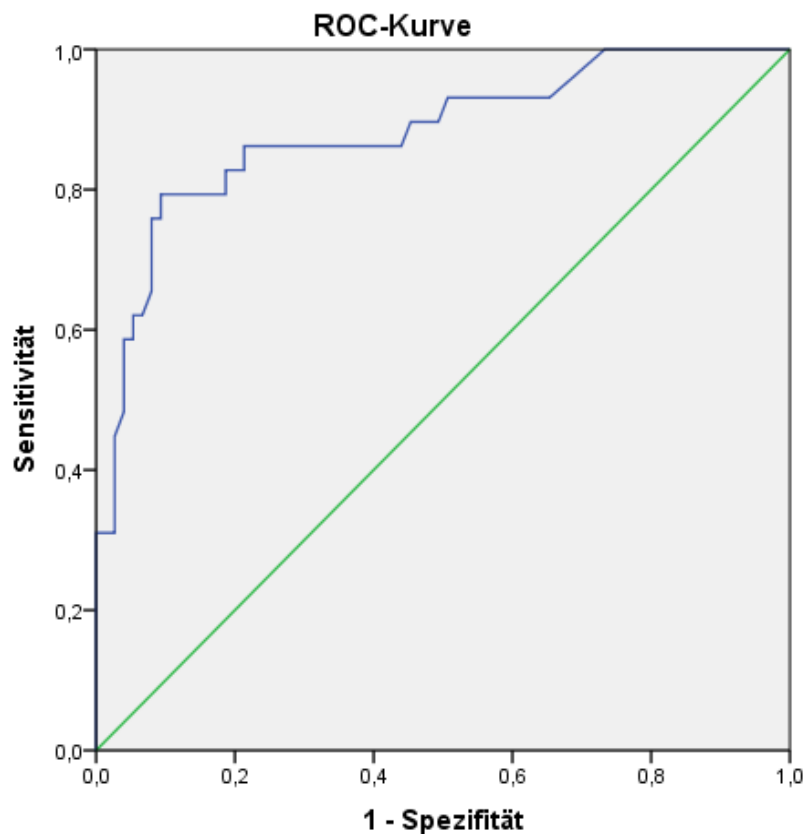


Abb. 17: ROC-Kurve (F>2 im ML/HistoMischscore)



Tab. 19: Diagnostische Genauigkeit FS/Mischscore

Gesamtkollektiv	ML/HistoMischscore	
	F>1	F>2
AUROC	0,8	0,88
Optimaler cutoff (kPa)	5,55	10,55
Sensitivität	0,66	0,79
Spezifität	0,78	0,9

In den Abbildungen 16 und 17 wurden die ROC-Kurven bezogen auf den Mischscore für das Gesamtkollektiv dargestellt. Die AUROC-Werte (95% Konfidenzintervall (KI)) waren 0,8 (0,67-0,94) für F>1 und 0,88 (0,8-0,96) für F>2. Die optimalen Cut-off Werte betrugen 5,55 kPa für F>1 und 10,55 kPa für F>2. Die entsprechenden Werte für Sensitivität und Spezifität sind der Tabelle 19 zu entnehmen.

3.5 Diagnostische Genauigkeit der transienten Elastographie im Vergleich

Die diagnostische Genauigkeit angegeben als AUROC-Wert (Area under the receiver operating characteristics curve) bezogen auf die Detektion der Zirrhose war bei der Bezugnahme auf das histologische Staging nur minimal größer als bei dem Vergleich mit dem FS/Mischscore. Die AUROC-Werte für die Diagnose einer Zirrhose waren bei dem Histostaging mit 0,89 (Stadium $F=4$) versus 0,88 beim FS/Mischscore ($F>2$) in etwa gleich. Wenn man die Diagnostische Genauigkeit zur Detektion einer Fibrose oder Zirrhose betrachtet also die Diskriminierung zwischen Normalbefund und krank, muss man bei beiden Fibrosescores die Schwelle $F>1$ betrachten (die Werte für das Stadium $F\geq 1$ wurden bei dem Histostaging nicht mit dargestellt, da diese Stadien keine klinische Relevanz haben). Die AUROC-Werte für $F\geq 2$ beim Histostaging waren 0,82 und für $F>1$ beim Mischscore etwas niedriger mit 0,8, somit sind beide Scores in Zusammenhang mit der Detektion einer Fibrose vergleichbar, beide jedoch deutlich unterhalb der Diskriminierungsschwelle zur Detektion einer Zirrhose.

Der beim Histostaging zusätzlich ermittelte AUROC-Wert für die Diagnosestellung einer schweren Fibrose oder Zirrhose (AUROC-Wert 0,91 bei $F\geq 3$) ist etwas höher als die alleinige diagnostische Aussagekraft des Histostaging zur Ermittlung einer Zirrhose (AUROC-Wert 0,89 bei $F=4$). Diese Beobachtung deckt sich mit der in Tab.2 ersichtlichen Tatsache, dass ein relativer Sprung der kPa-Werte ab dem Fibrorestadium $F>2$ hin zu deutlich höheren Werten abgrenzbar ist. Dieser Sprung spiegelt sich in der diagnostischen Genauigkeit wieder. Es scheint aber, dass dieser Effekt keinen Einfluss darauf hat, wie gut die Diskriminierungsgenauigkeit zwischen $F3$ und $F4$ ist, denn der ML Mischscore als auch der Histoscore nimmt hohe Werte bei der Schwelle zur Diagnose der Zirrhose ein.

4. Diskussion

Das Ziel dieser prospektiven Studie war es, die diagnostische Genauigkeit und Wertigkeit der Transienten Elastographie hinsichtlich der Zirrhosediagnostik der Leber verglichen mit dem Goldstandard der Leberhistologie und der kombinierten laparoskopisch-histologischen Diagnostik zu ermitteln. Untersucht wurde ein breites Patientenkollektiv. Hierbei wurden sowohl stationäre als auch ambulante Patienten mit v.a. Fibrose oder Zirrhose und einer Indikation zur minilaparoskopisch durchgeführten Leberbiopsie über einen Zeitraum von 2 Jahren (2007-2009) eingeschlossen. Da hierbei keine Beschränkung auf eine bestimmte Diagnosegruppe vorgenommen wurde, bezieht sich die ermittelte diagnostische Wertigkeit des Fibroscans im Bezug auf die Leberzirrhose/Zirrhose ohne Spezifizierung auf eine zugrundeliegende Grunderkrankung. Hierdurch kann die Allgemeingültigkeit der Methode, ohne Kenntnis der zugrundeliegenden Erkrankung, untersucht werden. Der Anteil der Virushepatitis in dieser Studie entspricht mit 34% als größte Subgruppe in etwa der Prävalenz der zur Leberzirrhose führenden Ursachen der Allgemeinbevölkerung in Europa und Nordamerika. Die alkoholtoxische Ursache als häufigste Ursache ist in dieser Studie unterrepräsentiert. Hingegen sind mit 26% die Autoimmunerkrankungen etwas vermehrt vertreten. Dies mag an dem klinischen Schwerpunkt der Klinik liegen. Die NASH mit 16% ist ebenfalls repräsentativ für den Anteil der zur Leberzirrhose führenden Ursachen.

Die meisten Arbeiten zum Thema Elastographie sind bisher anhand bestimmter Diagnosegruppen erstellt worden. Die meisten Studiendaten zur diagnostischen Genauigkeit der transienten Elastographie liegen bislang für virale und toxische Hepatiden vor. Die vorliegende Studie umfasst bei Abschluss der Datensammlung das bislang größte von der Ätiologie her unselektierte Patientenkollektiv, das unter Studienbedingungen einer Elastographie und Minilaparoskopie unterzogen wurde.

Statistisch bestand eine positive Korrelation zwischen den Leberelastizitätswerten und dem Fibrorestaging, sowohl beim histologischem Staging (Korrelationstest nach Spearman $p=0,68$) als auch beim ML/Histo Mischscore (Korrelationstest nach Spearman $p=0,61$).

Der AUROC-Wert für die Diagnose einer Zirrhose im Vergleich zum histologischem Staging (F4) betrug beim Gesamtkollektiv 0,89 mit einem Cut-off Wert von 11,8 kPa

(Sensitivität 0,86, Spezifität 0,88; siehe Tab. 18). Eine bessere Spezifität (0,96) zu Lasten der Sensitivität (0,79) wurde bei der Diskriminierung zwischen den gering bis mittelgradigen Fibrosen und den hochgradigen bis zirrhotischen Stadien ($F > 3$) erreicht.

Der AUROC-Wert für die Diagnose einer Zirrhose im Vergleich zur kombiniert laparoskopisch-histologischen Diagnostik lag mit 0,88 beim Gesamtkollektiv fast gleich dem des histologischen Stagings mit 0,89, der Cut-off Wert dabei war 10,55 kPa. Die Sensitivität hingegen war mit 0,79 etwas geringer und die Spezifität mit 0,9 etwas höher (Tab. 19). Hierbei ist zu diskutieren, dass die relativ hohen kPa-Werte mit dem histologischen Fibroestadium ($F=3$) zusammen mit den relativ niedrigen kPa-Werten aus den histologischen Stadien ($F1$ und $F2$) zum ML/Mischscore Stadium $F=2$ zusammengesetzt wurden (Mittelwert 6,9 kPa; Tab. 17). Es ist somit die gut diskriminierende diagnostische Schwelle zwischen den histologischen Stadien $F=2$ und $F=3$ in der diagnostischen Auswertung beim ML/Mischscore nicht berücksichtigt worden. In etwa ausgleichend auf die diagnostische Genauigkeit des Mischscores müsste sich die Tatsache ausgewirkt haben, dass die 8 zusätzlichen Patienten, die alleine durch die makroskopische Beurteilung zur Gruppe der Zirrhose gezählt wurden, in etwa gleich auf Steifigkeitswerte ober- und unterhalb des o.g. Cut-off Wertes verteilt waren (5 Patienten $> 10,55$ kPa und 3 Patienten $< 10,55$ kPa; siehe Tab. 12).

4.1 Qualität der Leberelastizitätsmessung

Da eine Successrate von mindestens 60% (Anteil der erfolgreichen Messungen an der Gesamtanzahl aller Messungen) Voraussetzung zum Einschluss in unserer Studie war, konnten Fehlmessungen der Leberelastizität nicht als Störfaktor in die Studie mit einfließen. Einer der Hauptstörfaktoren für die Fibroscan-Messung ist eine Adipositas permagna oder ein BMI größer als 30 kg/m^2 [4]. 10 Patienten sind bereits von vornherein auf Grund von Fehlmessungen bei Adipositas ausgeschlossen worden. Von den 15 eingeschlossenen Patienten mit einem $\text{BMI} \geq 30$, hatten alle einen IQR von $< 20\%$ und hatten somit eine nur sehr geringe Streuung der Messwerte, die Successrate war stets über 60% (siehe Kapitel 1.5 Einleitung).

In der umfangreichen prospektiven Studie von Castera et al. (2010) [82] mit mehr als 13.000 Untersuchungen, zeigte sich die Erfahrung des Untersuchers in der multivariaten Analyse als Einflussgröße bei der Leberelastizitätsmessung, wobei die „failure rate“ bei mehr als 500 Untersuchungen sich signifikant reduzierte ($p < 0,0001$). In unserer Studie hat in der Zeit der Datenerfassung von 2007-2009 stets die gleiche Assistentin, zuständig für die Ultraschalluntersuchung in der Leberambulanz, die Fibroscanuntersuchung durchgeführt. Es konnte ihr somit eine ausreichende Erfahrung in dieser Untersuchungsmethode zugeschrieben werden, was sich auch anhand der durchschnittlich 91% erfolgreichen Messungen widerspiegelte.

Der Median der Leberelastizität gemessen in Kilopascal (kPa) betrug für das eingeschlossene Gesamtkollektiv ($n=104$) 6,8 kPa und war somit nur etwas höher als bei einem Normalkollektiv (Normwert 5,49 kPa nach Roulot et al. 2008) [83]. Der eher niedrige Wert, gemessen am relativ kranken Patientengut, erklärt sich daher, dass knapp die Hälfte (46%) aller Patienten den milden und normalen Fibrosestadien $F=0$ und $F=1$ angehörten. Im Mittel etwas höher hingegen waren die kPa-Werte bei den HCV und NASH Patienten, was darauf zurückzuführen ist, dass bei den HCV-Patienten knapp die Hälfte ($n=12$) eine Zirrhose mit hohen Werten aufwiesen und bei den NASH Patienten bereits ab den milden Fibrosestadien relativ hohe Werte gemessen wurden. Die im Mittel etwas niedrigeren Werte bei den PBC Patienten sind darauf zurückzuführen, dass nur 2 Patienten höher gradige Werte im Stadium 3 aufwiesen und Zirrhosen gar nicht vorkamen (siehe Kapitel 3.2.2.).

Dass die Leberelastizitätswerte bei Männern durchschnittlich höher sind als bei Frauen, haben bereits verschiedene Studien gezeigt (Roulot et al. 2008, Corpechot et al. 2006) [83, 28]. Die Medianen Steifigkeitswerte waren auch in dieser Studie bei den Männern mit 8,7 kPa deutlich höher als bei den Frauen mit medianen Werten von 5,7 kPa. Da in dieser Studie der Frauenanteil mit 62 % etwas höher als der Anteil der Männer war, dürfte dieser Effekt sich eher zugunsten relativ niedriger Steifigkeitswerte auswirken. Der relativ höhere Frauenanteil kam durch den Einschluss der Autoimmunerkrankungen (AIH, PSC und PBC) zustande, denn mit Ausnahme der PSC betreffen diese Krankheiten insbesondere Frauen (AIH (w:m): 4:1; PBC: 9:1) [24]. In dieser Studie sind von den o.g. Diagnosen 24 Patienten weiblich und nur 4 Patienten männlich.

4.2 Qualität der Leberhistologie

Der Median der Gesamtstanzzyllinderlänge (Summe der Stanzzyllinderlänge rechts und links) betrug 2,6 cm bei den 84 Patienten mit beidseitiger Dokumentation über die Stanzlängen, von den Übrigen 20 Patienten mit nur einseitiger Dokumentation, betrug der Median 1,3 cm. Die mediane Anzahl der Gesamtportalfelder (Summe der Portalfelder rechts und links) lag bei den Patienten mit vollständigem Datensatz (84 Patienten) bei 19,5 cm und die mit einfach dokumentiertem Datensatz bei den übrigen 20 Patienten bei 9,5 cm. Somit liegen beide Parameter über den von Crawford (1998) geforderten Anforderungen an eine Leberstanze mit einer Länge von 1,5 cm und dem Nachweis von 8-10 Portalfeldern. Bedossa et al. (2003) zeigten in ihrer Studie, dass nur 65% der Biopsien mit 1,5 cm Länge korrekt histologisch kategorisiert wurden, bei 2,5 cm Biopsatlänge bereits 75%, und dass eine weitere Zunahme der Biopsatlänge keinen Vorteil brachte. Allerdings können diese optimalen Kriterien einer Leberbiopsie selbst an hepatologischen Zentren häufig nicht erfüllt werden (Poynard et al. 2004).

4.3 Vergleich der Zirrhosediagnostik: Transiente Elastographie gegenüber dem histologischen Staging (FS/Histo)

Die Verteilung der Leberelastizitätswerte in Abhängigkeit von den verschiedenen Fibrosegraden F0 bis F4 (Box plots, Abb. 1) zeigt für das Gesamtkollektiv eine deutliche Überlappung der Werte für die Fibrosegrade F0-F2. Ein sprunghafter Anstieg der Werte war hingegen ab den schweren Fibrosen (F3) abzugrenzen. Die Mediane zwischen F3 und F4 hingegen unterschieden sich wiederum nicht signifikant (siehe T-Test Tab. 15). Diese Beobachtung gilt weitestgehend sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für die Subgruppen. Lediglich für die HCV Subgruppe ergab sich ein abweichendes Ergebnis, hier unterschieden sich die Mediane von F0-F3 kaum, erst mit dem Stadium F4 ergab sich ein deutlicher Anstieg des medianen Steifigkeitswertes. Diese Beobachtung muss jedoch, bei nur einem Patienten in der F3 Gruppe, kritisch gesehen werden. Die meisten Studien zu diesem Thema zeigen ähnliche Ergebnisse, während jedoch Ziol [5] und Foucher [26] einen Anstieg der Diagnostischen Genauigkeit von $F \geq 3$ zu $F=4$ aufwiesen (AUROC von 0,91 auf 0,97 bzw. von 0,9 auf 0,96) steigert sich in dieser Arbeit wie bei Castera et al.[27] und

Corpechot et al. [28] die diagnostische Genauigkeit in den o.g. Stadien nicht, sondern ist ab $F=4$ eher etwas ungenauer (AUROC von 0,91 auf 0,89). Im Vergleich zu anderen Studien, z.B. in der Prospektiven Studie von Erhardt et al. (2006) [29], in der 147 Patienten mit chronischer Lebererkrankung mittels Elastographie untersucht wurden und sich die Leberelastizitätswerte signifikant zwischen $F3$ versus $F4$ ($p < 0,0002$) sowie $F4$ versus $F0$ bis $F2$ ($p < 0,0001$) unterschieden, ergab sich in dieser Studie lediglich ein signifikanter Unterschied der Leberelastizitätswerte zwischen $F < 3$ und $F \geq 3$ ($p < 0,01$, p -Wert adjustiert). Die Mittelwerte von $F=3$ und $F=4$ (21 kPa bzw. 24,5 kPa) unterschieden sich nicht signifikant ($p=1$, p -Wert adjustiert).

Die diagnostische Genauigkeit der transienten Elastographie lag für die histologische Diagnose Zirrhose ($F4$), ausgedrückt in Form des AUROC-Wertes bei 0,89, für $F \geq 3$ bei 0,91 und für $F \geq 2$ bei 0,82. Der Optimale Cut off lag für $F=4$ bei 11,8 kPa mit einer Sensitivität von 0,86 und einer Spezifität von 0,88, für $F \geq 3$ bei 11,1 kPa mit einer Sensitivität von 0,79 und einer Spezifität von 0,96 und für $F \geq 2$ bei 5,9 mit einer Sensitivität von 0,84 und einer Spezifität von 0,69 (Tab. 18). In den häufig zitierten prospektiven Arbeiten von Casterol et al. [27] und Ziol et al. [5], welche anhand der Diagnose HCV durchgeführt wurden, wurden etwas höhere Cut off Werte für $F=4$ ermittelt (12,5 kPa bzw. 14,6 kPa). Eine etwas höhere Diagnostische Genauigkeit zeigte die Meta-Analyse von Friedrich-Rust et al. (2008) [30] bei der 50 Studien zur diagnostischen Genauigkeit, hauptsächlich mit HCV Patienten analysiert wurden und ein AUROC-Wert von 0,94 für die histologische Diagnose einer Zirrhose ($F=4$) ermittelt wurde. In der häufig zitierten Arbeit von Foucher et al. [26] welche alle chronischen Lebererkrankungen einschloss, wurde sogar ein Cut-off von 17,6 kPa für die Diagnose Zirrhose ermittelt. Der ermittelte Cut-off für $F \geq 3$ war in den meisten häufig zitierten Studien ähnlich und wird mit 9,5-12,5 kPa angegeben [26,27,5,28], der in dieser Studie mit 11,1 kPa ermittelte Wert reiht sich hier gut ein und ist mit einer diagnostischen Genauigkeit von 0,91 (AUROC Wert) ähnlich gut wie in den bereits genannten Studien. Für $F \geq 2$ ist der Cut-off Wert mit 5,9 kPa um 1 bis 2 kPa niedriger als in den genannten Studien und die diagnostische Genauigkeit geht auch hier mit einem AUROC-Wert von 0,82 deutlich herab.

Da bei der signifikanten Fibrose ($F \geq 2$) bereits ein fortgeschrittenes Krankheitsstadium vorliegt und in frühen Stadien der chronischen Lebererkrankung die Behandlungschancen mit diversen Therapieoptionen (anti virale Therapie bei der

Hepatitis, Alkohol Abstinenz bei der ASH, Gewichtsreduktion bei NASH und immunsuppressive Therapie bei Autoimmunerkrankungen) deutlich günstiger sind, besteht dringender Bedarf an diagnostischen Möglichkeiten besonders die frühen Stadien der Fibrose zu diagnostizieren. In der Metaanalyse von Friedrich–Rust et al. [30] mit der Analyse von 50 Studien aus den Jahren 2002-2007, variierte der AUROC-Wert für $F \geq 2$ zwischen 68%-100% und war im Mittel mit 0,84 (95% CI, 0,82-0,86) vergleichbar mit dem in dieser Studie ermitteltem Wert von 0,82. Der hierbei ermittelte optimale Cut-off von 5,9 kPa liegt knapp über dem des Normalkollektiv (Normwert 5,49 kPa nach Roulot et al. 2008). Somit ist der Fibroscan für die alleinige Diagnostik der signifikanten Fibrose nicht geeignet. Es kann jedoch zusammen mit anderen klinischen Tests und diagnostischen Daten als ein ergänzendes Tool und vor allem als Verlaufparameter angesehen werden.

4.4 Einfluss der Diagnose auf die Steifigkeitsmessung

Wie bereits in anderen Arbeiten gezeigt, kann auch in dieser Studie kein signifikanter Einfluss der Diagnose auf die Lebersteifigkeitsmessung gezeigt werden. Wie in der Varianzanalyse im Kapitel 3.3 dargestellt, gibt es keinen signifikanten Unterschied beim Haupteffekt Diagnose zwischen den viral bedingten chronischen Lebererkrankungen und den Autoimmun bedingten Lebererkrankungen (p -Wert=0.35, siehe Abb. 7). Wenn man jedoch die Wechselwirkung beider Diagnoseentitäten betrachtet, bei der für jedes Fibrosestadium die gemittelten Steifigkeitswerte aufgetragen wurden (siehe Abb. 9), ist aufgefallen, dass die autoimmunen Lebererkrankungen mit der histologischen Diagnose einer schweren Fibrose (Metavir Stadium $F=3$) mit einem Mittelwert von 22 kPa eine deutlich höhere Steifigkeit im Fibroscan aufwiesen als die vergleichsweise niedrigen Messungen der viral bedingten Hepatitiden mit nur 8 kPa. Dieser Effekt kommt hauptsächlich dadurch zustande, dass im $F=3$ Stadium die cholestatischen Erkrankungen PSC und PBC einen größeren Anteil bildeten als die nur in gering vertretenen und zudem mit niedrigen Steifigkeitsmessungen diagnostizierten viralen Diagnosen. Corpechot et al. (2006) [28] hatten bereits in ihrer prospektiven Studie mit 101 Patienten gezeigt, dass die chronisch cholestatischen Lebererkrankungen PSC und PBC einen deutlich höheren Cut off Wert für die Diagnose Zirrhose (17,3 kPa) hatten als die zwischen 12,5 und 14,6 kPa rangierenden Werte in den hauptsächlich mit HCV Patienten

durchgeführten Studien. Die Studie von Obara et al. mit n=133 eingeschlossenen Patienten mit chronischer Lebererkrankung, bei der virale und nicht virale Messungen gegenübergestellt wurden, tendierten die PSC-Werte in den fortgeschrittenen Stadien, insbesondere F=3, ebenfalls zu höheren Steifigkeitswerten. Da in unserer Studie keine Zirrhosen in den Subgruppen PSC und PBC eingeschlossen worden sind, kann dieser Vergleich in diesem Stadium nicht betrachtet werden.

Auch bei der alkoholischen und der nicht alkoholischen Steatosis gibt es in der Literatur Hinweise dafür, dass die Diagnose Einfluss auf die Elastizitätsmessungen nehmen kann. So berichtet Ganne-Carrié et al. [85] dass bei der Nash und ASH deutlich höhere cut off-Werte als bei den HCV Patienten für die Diagnose Zirrhose benötigt wird (21,5 vs. 10,4 kPa). Da in dieser Studie eher hohe Mediane für die Zirrhose bei den HCV-Patienten ermittelt wurden und im Vergleich dazu die NASH-Patienten gegenüber dem übrigen Kollektiv eher vergleichbare Werte aufwiesen, ergibt sich in dieser Studie kein Hinweis dafür, dass die Diagnose Einfluss auf die Steifigkeitsmessung bezüglich der NASH hat. Die ASH (alkohol-toxisch) wurde so gut wie nicht eingeschlossen (n=2).

4.5 Vergleich der diagnostischen Genauigkeit in der Zirrhosedagnostik zwischen transienter Elastographie und Histologie gegenüber transienter Elastographie und laparoskopisch/histologischer Beurteilung

In die minilaparoskopisch durchgeführte makroskopische Beurteilung der Leber geht die Beurteilung der fibrösen Septen, der Lichtreflexe und des knotigen Organumbaus ein. Sie hat die Detektion der Zirrhose bzw. der Fibrose zum Ziel. Hauptsächlich werden Regeneratknoten beurteilt. Es werden drei Stadien unterschieden (F1=Normalbefund, F=2 Fibrose und F=3 Zirrhose). Der in dieser Studie verwendete ML/Histo-Mischscore (siehe Kap. Methode) ist das Ergebnis der kombiniert makroskopischen und histologischen Beurteilung der Leber, wobei jeweils bei ungleichen Ergebnissen der höhere Score zur Beurteilung verwendet wurde. Die beim Fibrorestaging differenzierten Fibrorestadien F1-3 wurden beim Mischscore zu einem Fibrose-Stadium subsummiert, somit konnte hierbei im Vergleich zum Metavir-

Score zwischen den Stadien einer signifikanten Fibrose ($F \geq 2$) und einer schweren Fibrose ($F \geq 3$) nicht unterschieden werden.

Die diagnostische Genauigkeit zur Detektion einer Leberzirrhose war beim Mischcore vergleichbar mit dem der alleinigen Minilaparoskopie (AUROC 0,88 vs. 0,89), der Cut-off unterschied sich ebenfalls kaum (11,8 kPa vs. 10,55 kPa). Es wurde jedoch im Vergleich eine etwas bessere Spezifität (0,9 vs. 0,88) zu Lasten der Sensitivität (0,79 vs. 0,88) erzielt.

Bei der Detektion einer signifikanten Fibrose ($F > 1$) ergab sich wie beim alleinigen Vergleich mit der Histologie ein deutlich unterhalb des von Friedrich-Rust geforderten [30] Cut-off Wertes von 7,65 kPa und lag mit 5,55 kPa im Bereich der Werte der Normalbevölkerung [83]. Auch die diagnostische Genauigkeit ging mit einem AUROC-Wert von 0,8 deutlich zurück.

Ein Vergleich der in dieser Studie ermittelten Werte bezogen auf den ML/Histo-Mischscore mit der Literatur ist nicht möglich, da nach unserem Wissen bislang in der Literatur keine publizierten Daten diesbezüglich vorliegen.

Wie eingangs beschrieben sind 8 Patienten nur aufgrund der makroskopischen Beurteilung zu der Zirrhose-Gruppe gezählt worden. Tendenziell ergibt sich hieraus ein kleiner Vorteil durch die Minilaparoskopie, da 5 von diesen Patienten tatsächlich auch kPa-Werte über dem in dieser Studie ermitteltem Cut-off für Zirrhose von 10,55 kPa aufwiesen und somit trotz geringerer histologischer Einstufung durch die Makroskopie zur mutmaßlich richtigen Diagnose geführt haben. Die höheren Fibroscan-Messungen bestätigen diese Einschätzung. Bei diesen 5 Patienten kam bekräftigend hinzu, dass jeweils beide Leberlappen übereinstimmend makroskopisch mit einer Zirrhose bewertet wurden. Die übrigen 3 Patienten wiesen hingegen im wesentlichen normale Steifigkeitswerte auf (4,9-8,2 kPa) und hatten auch seitens des histologischen Stagings nur normal bis mittelgradig fibrotische Leberveränderungen. Diese deutliche diagnostische Diskrepanz wurde in diesen 3 Fällen ausschließlich durch die Zusammenfassung mit dem makroskopischem Erscheinungsbild der Leberoberfläche hervorgerufen. Ein Grund dafür ist möglicherweise die makroskopische Begutachtung eines makronodulären Leberumbaus. Hierbei werden im Vergleich zum mikronodulären Leberumbau relativ wenig Fasermaterial pro untersuchter Fläche in der histologischen Stanze "gasampelt". Ein fortgeschrittenes

Staging mittels histologischer Beurteilung und physikalischer Steifigkeitsmessung durch den Fibroscan basiert auf einem vermehrten Anteil an Bindegewebe bzw. Septen bildenden Fasern pro Fläche. Der makronoduläre Gewebsumbau kann in den eben genannten Untersuchungen zu einer falsch positiven Diagnose geführt haben. Hier wurde nur das Kriterium der Nodularität beurteilt ggf. ohne einen hohen Anteil fibrotischer Septen z.B. bei Regeneratknoten, wohingegen die histologische Einstufung und die Steifigkeitsmessung einen Normalbefund ergeben haben.

In der Literatur gibt es Hinweise darauf, dass bezüglich des makronodulären Leberparenchyumbaus die Elastography falsch negative Befunde erhebt. In der Studie von Ganne-Carrie et al. (2006) [85] waren 29% der Patienten mit makronodulärer Zirrhose falsch negativ im Fibroscan diagnostiziert worden. Hierbei wurden die großen Regeneratknoten mit nur sehr dünnen Gewebsepten charakterisiert. In der laparoskopischen Arbeit (Helmreich-Becker et al. 2003) wurden, die im Rahmen einer Minilaparoskopie diagnostizierten makronodulären Zirrhosen, in nur 50% der Fälle histologisch bestätigt. Insbesondere war das der Fall bei Patienten mit Autoimmunhepatitis, bei denen die laparoskopische Diagnose einer Zirrhose in nur 37% mit der Histologie übereinstimmte. Die Diagnose einer Autoimmunhepatitis geht häufig mit einer irregulären und makronodulären Zirrhose einher (Lohse und Mieli-Vergani 2010).

Somit ist zu diskutieren, ob die Messungen der Elastographie mit der histologischen Beurteilung der Fibrose so gut korreliert, weil sie die gleiche physikalische Messgröße beeinflusst, nämlich die quantitative Menge an Faservermehrung und ob die Korrelation mit dem ML/Histo Mischscore etwas schlechter korreliert weil hier das phänotypische Kriterium der Nodularität Einfluss nimmt.

Bei den 3 Patienten mit normalen Lebersteifigkeitswerten kam hinzu, dass jeweils der rechte Leberlappen diskrepant gegenüber dem zirrhotischen linken Leberlappen, makroskopisch mit Fibrose bewertet worden ist. Diese Tatsache spricht dafür, dass die Fibroscan-Werte, welche hauptsächlich den rechten Leberlappen betreffen, richtig eher niedrig gemessen worden sind und der zur Diagnose führende makroskopisch zirrhotisch imponierende linke Leberlappen nur anhand der Minilaparoskopie höhergradig eingeschätzt wurde. Einen Hinweis auf die diskrepante Diagnostik beider Leberlappen mittels zweier Verfahren findet sich in der Studie von Berzigotti et al. (2010) wo die diagnostische Genauigkeit bezüglich der

Zirrrosedetektion der transienten Elastographie mit der Ultraschalluntersuchung des linken Leberlappens verglichen worden sind. Hierbei hatten beide Methoden eine ähnliche diagnostische Genauigkeit (AUROC 0,91 versus 0,88), die Konkordanz beider Verfahren war allerdings für die Diagnose einer Zirrhose sehr gering ($K=0,27$, 95% KI), zum Ausschluss einer Zirrhose war sie auch nur mäßig ($K=0,40$, 95% KI). Es wurde gezeigt, dass die Ultraschalluntersuchung des linken Leberlappens besser geeignet war, eine Leberzirrhose nachzuweisen (positive likelihood ratio 11,15 versus 5,05). Die transiente Elastographie hingegen konnte die Leberzirrhose besser ausschließen (negative likelihood ratio 0,08 versus 0,10). Als Ursache der mangelnden Konkordanz dieser beiden Verfahren wurde diskutiert, dass möglicherweise der Fibroscan den rechten Leberlappen untersucht, hingegen die Ultraschalluntersuchung den linken Leberlappen. Eine weitere Hypothese von Berzigotti et al. 2010 und Castera 2010 war, dass beide Verfahren zwei komplementäre Charakteristika der Leberzirrhose untersuchten. Der Fibroscan nämlich die Lebersteifigkeit auf Grundlage von Fibrosierungen und die Ultraschalluntersuchung die Nodularität der Leberoberfläche.

Da beim ML/Mischscore 8 Patienten alleine durch die Minilaparoskopie und nur 2 Patienten aufgrund der histologischen Beurteilung in die höhere Stufe der Zirrhose hochgestuft worden sind und 14 histologisch normwertige Patienten in der makroskopischen Begutachtung zur Fibrose hochgestuft worden sind, kann man davon ausgehen dass die minilaparoskopische Begutachtung das Krankheitsstadium in dieser Studie eher überschätzt wurde. Bestätigt wird diese Einschätzung durch die von Poniachik et al. (1996) durchgeführte retrospektive Analyse, bei der 32% der im Rahmen einer Laparoskopie diagnostizierten Leberzirrhosen histologisch nicht bestätigt wurden. Demgegenüber hatten nur 0,8% aller histologisch bestätigten Zirrhosepatienten makroskopisch keinen Hinweis auf eine Zirrhose. Helmreich-Becker et al. (2003) fanden in ihrer Studie eine histologische Unterschätzung der Leberzirrhose insbesondere bei makronodulärer Zirrhose und beim Child-Pugh Stadium A.

Insgesamt liegt jedoch die falsch negativ Rate bezüglich der Zirrrosedetektion bei der Laparoskopie laut der retrospektiven Studie von Nord (1982) nur bei 9% (4-18%) und ist im Vergleich mit den perkutan durchgeführten Leberbiopsien, welche falsch negative Raten von 24%(1-67%) aufwiesen (retrospektive Analyse verschiedener

Studien bei insgesamt 6242 Fällen), relativ niedrig. Da in dieser Studie keine perkutanen Leberbiopsien durchgeführt wurden, sind diese hohen falsch negativ Raten als Störfaktor nicht im größerem Umfang in den ML/Histo Mischscore mit eingegangen.

Ein Nachteil des Mischscores in dieser Studie zu Lasten der diagnostischen Genauigkeit, liegt wie eingangs bereits erwähnt, in der Zusammenführung der histologisch gut zu diskriminierenden mäßiggradigen (F2) und hochgradigen Fibroestadien (F3) (siehe T-Test Tab. 15).

Bei der Wechselwirkung zwischen Diagnose und Fibrose kam es wie beim histologischem Staging nicht zu einem signifikanten Unterschied zwischen den zusammengefassten viral bedingten Hepatitiden und den in dieser Studie eingeschlossenen autoimmunen Lebererkrankungen (Abb. 12).

4.6 Einfluss der Entzündungsaktivität auf die Leberelastizität

Der Einfluss der Entzündungsaktivität auf die Lebersteifigkeitsmessung wurde in dieser Studie nicht statistisch untersucht. In der Literatur gibt es kontroverse Aussagen über den Einfluss der Entzündungsaktivität, Lupsoret al. (2008) zeigten in der Studie mit über 300 Patienten mit chronischer Hepatitis C, dass die Entzündungsaktivität und die Steatosis hepatis die Leberelastizitätsmessung beeinflussen. Demgegenüber zeigten Zioli et al. (2009) anhand eines Mischkollektivs (virale Hepatitiden, ASH und NASH) keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Entzündungsaktivität und der Lebersteifigkeitsmessung. Die Steatosis hingegen bestätigten Sie als Einflussfaktor.

Von den 4 Patienten in dieser Studie, die eine hochgradige Entzündungsaktivität (Grading A4) besaßen gehörten 3 den AIH Patienten und einer hiervon den PBC Patienten an. Das ermittelte Staging korrelierte hierbei sehr gut mit den gemessenen Elastizitätswerten, der Patient mit der höchsten Fibrosestufe (F3) hatte einen Elastizitätswert von 14,1 kPa, die zwei Patienten mit mittelgradiger Fibrose (F2) hatten Werte von 8,1 kPa und 10,8 kPa und der Patient mit der milden Fibrose (F1) hatte mit 6,9 kPa einen etwas gegenüber dem Schwellenwert (5,6 kPa) höheren Wert. Insgesamt passten die Fibroscan-Messwerte bei allen 4 Patienten gut zu den

jeweils zugehörigen histologischen Beurteilungen und waren jeweils an den Obergrenzen der von Castera et al. [35] vorgeschlagenen Cut-off-Werte der jeweiligen Diagnoseintervalle ($F \geq 2,7$ kPa; $F \geq 3,95$ kPa; $F = 4,125$ kPa). Somit ergibt sich aus dieser Studie, zumindest bei den Patienten mit hochgradiger Entzündungsaktivität, kein Hinweis auf falsch hoch gemessene Fibroscanwerte bei hochgradiger Entzündungsaktivität, da jeweils trotz der hohen Entzündungsaktivität die passende Histologie zum Fibroscan-Wert vorlag.

Es gibt in der Literatur Hinweise darauf, dass die Entzündungsaktivität und die Dynamik der Transaminasen Einfluss auf die Fibroscan-Messung hat. Coco et al. (2007) zeigten einen Rückgang der Fibroscan-Werte bei viralen Hepatitiden nach biochemischer Remission (definiert als Rückgang der GPT) bei jedoch Befund konstanten Fibrosegraden. 10 Patienten der insgesamt 228 eingeschlossenen Patienten zeigten einen bis zu 3-fachen Anstieg der Leberelastizitätswerte bei gleichzeitig deutlich erhöhten GPT Werten. Sagir et. al (2008) zeigte bei 15 von 20 Patienten (75%), mit akuter Hepatitis unklarer Ätiologie, das gleichzeitige Vorliegen von deutlich erhöhten Transaminasen (Mittelwert GPT 1355 ± 1217 U/l, Spanne 151-5383) und Zirrhose verdächtige Elastizitätswerte von über 12,5 kPa. Tatsächlich zeigte jedoch keiner dieser Patienten weder in der klinischen Untersuchung, in der Ultraschalluntersuchung noch in der Leberbiopsie Anzeichen einer Zirrhose. Zu Beginn einer akuten Hepatitis konnten Arena et al. (2008) in Ihrer Studie mit 18 Patienten zeigen, dass eine signifikante Reduktion der Leberelastizität parallel zum Abfall der Transaminasen vorlag. Da in dieser Studie keine Verlaufswerte ermittelt wurden, kann bezüglich des Einflusses der Transaminasen auf die Fibroscanmessung kein Vergleich hergestellt werden.

4.7 Transiente Elastographie als Screeningmethode

Eine der vielversprechendsten Einsatzmöglichkeiten der Transienten Elastography, als nicht invasive Methode, ist das Therapie-Monitoring und die Möglichkeit, den Krankheitsprogress chronischer Lebererkrankungen frühzeitig zu erfassen, um das Risiko bevorstehender Komplikationen abzuwehren und entsprechend geeignete Therapiemaßnahmen zu ergreifen [Castera et al 2008]. Ob die Untersuchung auch als Screeningmethode im Rahmen der Prävention einzusetzen ist, gehört nicht zum

Gegenstand dieser Studie. Einzelne im Folgendem zitierte Arbeiten jedoch zeigen bereit erste Ergebnisse.

4.8 Check up

Roulot et al. zeigten in einer ersten Studie zum Thema Screening, dass der Fibroscan im Rahmen einer Check-up Untersuchung sinnvoll ist. Es wurden hierbei von 1190 augenscheinlich gesunden Patienten 89 Personen (7,5 %) mit Leberelastizitätswerten größer als 8 kPa identifiziert. Hierunter befanden sich 13 Patienten mit Werten über 13 kPa. Obwohl 38 von diesen 89 Patienten (43%) normale Leberwerte aufwiesen, konnten bei allen Patienten eine spezifische chronische Lebererkrankung diagnostiziert werden. Bei allen 9 Patienten mit Werten über 13 kPa konnte histologisch sogar eine Leberzirrhose nachgewiesen werden, davon 5 Patienten mit äthyltoxischer Leberzirrhose und 4 Patienten mit viraler Hepatitis.

In unserer Studie hatten 5 von 33 (15%) Patienten mit dem Histostaging einer schweren Fibrose (F=3) oder Leberzirrhose(F=4) Werte unterhalb von 8 kPa. Nimmt man den in unserer Studie ermittelten Cut off von 7 kPa für eine signifikante Fibrose (F>=2) sind es jedoch nur noch 2 Patienten.

4.9 Monitoring des Krankheitsprogresses

Castera et. al. beschreiben bereits in ihrer retrospektiven Studie mit 711 Patienten mit chronischer Hepatitis C [26] einen signifikanten Zusammenhang der Leberelastizitätswerte zum Child-Pugh-Score, zu klinischen Parametern wie Varizenblutungen, Ascites und hepatozellulären Karzinomen und zu Laborparametern wie Prothrombinzeit, Faktor V, Albumin und zu Billirubin-Werten sowie zu anderen relevanten Parametern wie Splenomegalie, heterogenes Parenchym und noduläre Oberfläche in der Sonographie. Eine Klärung dieser Frage kann jedoch nur in Langzeitstudien beantwortet werden und liegt bislang nach unserem Kenntnisstand noch nicht vor. Einzelne Studien gibt es jedoch bereits, die den Zusammenhang zwischen portaler Hypertension und den Elastizitätswerten sehen, z.B. Carrion et al. (2006) [31] welche einen Zusammenhang zwischen HVPG-

Messungen (Hepatic Venous Pressure Gradient; Goldstandard für die Messung und Staging einer portalen Hypertension) bei 124 HCV-infizierten Lebertransplantatempfängern (Pearson Koeffizient 0,84, $p < 0,001$) sehen. Vizzutti et al. [32] hatten das gleiche Ergebnis bei 61 Patienten mit HCV assoziierter schwerer Leberzirrhose (Metavir F3-F4), hierbei waren jedoch nur HVP-G-Werte < 10 mmHg mit einer exelenten Korrelation verbunden ($r = 0.81$, $P < 0.0003$). Werte über 10 mmHg hingegen waren nicht optimal (Werte > 10 mm Hg Grenzwert für die Varizenbildung; HVP-G-Werte > 12 mmHg Grenzwert für das Auftreten anderer Komplikationen wie Varizenblutung und Ascites). Die Autoren folgern schließlich, dass die Elastographie zwar den Anstieg des intrahepatischen Druckes, aufgrund des Anstieges der intrahepatischen Resistance bei vermehrter extrazellulären Faservermehrung reflektieren, aber die komplexen hämodynamischen Veränderungen bei der portalen Hypertension nicht widerspiegeln kann [33]. In einer Studie von Rigamonti et al. 2008 [34] wurde der Fibroscan bei 40 Patienten als Follow-up nach Lebertransplantation eingesetzt, die Messungen veränderten sich parallel zum histologischem Fibroestaging ($r=0,71$) mit 86% Sensibilität und 92 % Spezifität, wobei jeweils 2 Leberbiopsien im Abstand von 6 bis 21 Monaten als Referenzdiagnostik vorlagen. Sie suggerieren hierdurch eine Reduktion der Anzahl an Verlaufs-Leberbiopsien.

4.10 Stellenwert der transienten Elastographie innerhalb der nicht-invasiven Fibrosediagnostik

Innerhalb der nicht invasiven Untersuchungsmethoden gilt der Fibroscan als der genaueste Test in Bezug auf die Früherkennung bei Patienten mit chronischer Hepatitis [35]. Im Vergleich zum Ultraschall haben Bergozzi et al. [36] in ihrer prospektiven Studie mit 90 Patienten mit hochgradigem klinischem Verdacht auf das Vorliegen einer Leberzirrhose gezeigt, dass der Ultraschall des linken Leberlappens und der Fibroscan eine gleichwertige diagnostische Genauigkeit aufwiesen (AUROC 0,88 und 0,91), wobei der Ultraschall besser geeignet in der Vorhersage einer Zirrhose war (positive likelihood ratio: 11.15)) und der Fibroscan besser zum Diagnoseausschluss (negative likelihood ratio: 0.08). In der prospektiven Studie von Castera et al. [27] wurden der Fibroscan, Fibrotest und APRI bei Patienten mit Hepatitis C verglichen, die größte diagnostische Genauigkeit ergab sich bei der

Kombination von Fibroscan und Fibrotest. Nhuyen-Khac et al. [37] zeigten, dass hinsichtlich der Fibrose und Zirrhosedetektion die Elastographie im Vergleich mit 7 Serumfibrosemarkern bei einem Patientenkollektiv mit chronischem Alkoholabusus die größte diagnostische Genauigkeit zeigte.

Unter den bildgebenden Verfahren sind die Ultraschall-Methoden (TE, real-timeelastography, tissue strain imaging, supersonic shear imaging) und die MR basierten Elastographien die vielversprechendsten Verfahren [39], welche ohne Risiken und Nebenwirkungen durch Kontrastmittel oder Strahlenbelastung auskommen und somit auch als Staging oder Follow-up Untersuchung eingesetzt werden können. Bezüglich der DWI gibt es jedoch eine nicht einheitliche Datenlage. Als Weiterentwicklung des Fibroscans kann das ARFI-Imaging (acoustic radiation force impulse) in den herkömmlichen Ultraschallgerätsystem integriert werden. Friedrich-Rust et al. 2009 [38] geben bei dieser Methode eine vergleichbare diagnostische Genauigkeit im Vergleich zu der des Fibroscans an.

In der Kosten-Nutzen-Analyse von Carlson et al.[40] lassen die Autoren vermuten, dass der Einsatz der nicht invasiven Diagnostik bezogen auf die Diagnose einer signifikanten Zirrhose, zwar kurzfristig Kosten gegenüber der Leberbiopsie senken kann aber im langfristigen Verlauf die Therapiekosten auf Grund von initialen Fehldiagnosen steigen.

4.11 Methodenkritik

Eine Schwäche der Studie bezogen auf die Fragestellung der Detektion der Leberzirrhose muss bei den eingeschlossenen Diagnosen PSC, PBC und NASH kritisch gesehen werden, da diese Diagnosen insgesamt nur einen Patienten mit der Diagnose einer Zirrhose einschließen.

In dieser wie auch in den meisten Vergleichsstudien zu diesem Thema, gilt die Leberhistologie als diagnostische Referenz und als Goldstandart. Da die alleinige Leberhistologie aufgrund des möglichen „sampling errors“ keine 100% diagnostische Sicherheit bietet, können somit auch die hieran gemessenen Alternativ Methoden niemals eine diagnostische Genauigkeit mit einem maximalem AUROC-Wert von 1 erreichen [41].

Die Leberhistologien sind zwar verblindet aber jeweils immer nur von einem und nicht immer identischen Pathologen im Rahmen der Routine begutachtet worden. Ein zweiter Pathologe und die Begutachtung jeweils von dem identischen Pathologen hätte eine höhere diagnostische Sicherheit für die histologische Begutachtung erwirken können. Dasselbe gilt für die minilaparoskopische Begutachtung, da hierbei ebenfalls nur ein Untersucher die Beurteilung durchgeführt hat. Zudem gilt es zu bedenken, dass die makroskopische Begutachtung als nicht standardisiert gilt und sehr untersucherabhängig ist [42].

Bezüglich der Wahl des histologischen Scoring-Systems gilt grundsätzlich, dass bei unterschiedlichen Diagnosen unterschiedliche Scoringssysteme verwendet werden, da zum Teil unterschiedliche befundcharakteristische Kriterien bei der Diagnosestellung bewertet werden. In dieser Arbeit wurden 2 Scoring-Systeme verwendet. Die meisten Diagnosen wurden in die Stadien nach dem modifizierten histologischen Aktivitätsindex (HAI) eingeteilt. Die Diagnosen mit einer Steatosis (NASH und NAS) hingegen wurden nach dem NASH-Score eingeteilt (siehe Einleitung). Beide stellen semiquantitative, bereits vereinfachte Scoring-Systeme dar und können somit eine bessere Korrelation zu den klinischen Stadien herstellen. Der NASH-Score unterscheidet sich hauptsächlich durch die Ballonierung und die Angabe des Fettanteils zum Scheuer-Score.

Als weitere Methodenkritik ist anzumerken, dass die AUROC-Kurve zur Messung der diagnostischen Genauigkeit einen binären Goldstandard voraussetzt, nämlich zum Beispiel „krank“ oder „nicht krank“ diskriminiert. In dieser Arbeit sind jedoch die einzelnen Schwellenwerte der Fibrosestadien auf einer ordinalen Skala diskriminiert worden. Als alternative Methode zur Bestimmung der diagnostischen Genauigkeit für zukünftige Studien empfehlen Lambert et al. [43] die Obuchowski Messung.

5. Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, optimale Cut-off Werte im Fibroscan für die Detektion einer Leberzirrhose und den unterschiedlichen Fibrosestadien bei den häufigsten Lebererkrankungen zu ermitteln und die diagnostische Genauigkeit des Fibroscans mit dem kombiniert minilaparoskopisch-/histologischen Mischscores zu vergleichen. Der AUROC-Wert für die Diagnose einer Zirrhose im Vergleich zum alleinigen histologischen Staging (F4) betrug beim Gesamtkollektiv 0,89 mit einem Cut-off Wert von 11,8 kPa (Sensitivität 0,86, Spezifität 0,88). Eine bessere Spezifität (0,96) zu Lasten der Sensitivität (0,79) wurde jedoch bei der Diskriminierung zwischen den gering bis mittelgradigen Fibrosen und den hochgradigen bis zirrhotischen Stadien ($F > 3$) erreicht. Durch den Einsatz der kombiniert minilaparoskopisch/makroskopischen Beurteilung konnte die diagnostische Genauigkeit nicht verbessert werden. Wie in anderen Studien bereits gezeigt, gibt es eine große Überlappung der Steifigkeitswerte in den Fibrosestadien F0-F2, eine signifikante Unterscheidung bietet die Methode in den niedrigen Fibrosestadien nicht und ist somit nicht für die initiale Diagnostik einer Fibrose geeignet. Auch die Stadien F3 und F4 konnten nicht signifikant voneinander getrennt werden. Demnach konnte gezeigt werden, dass mittels Fibroscan nur die Diagnose einer schweren Fibrose oder Zirrhose gestellt werden kann. Optimale Cut-off Werte waren für die Diagnose $F = 4$ 11,8 kPa und für $F \geq 3$ 11,1 kPa. Da der in dieser Arbeit ermittelte Cut-off für $F \geq 2$ mit 5,9 kPa sich nicht von dem der Normalbevölkerung unterscheidet und deutlich unterhalb des von Friedrich Rust geforderten Wertes von 7,65 kPa liegt, ist der Fibroscan für das primäre Staging der Leberfibrose nicht geeignet. Aus dieser Arbeit und aus der Literatur ergeben sich Hinweise darauf, dass die Diagnose Einfluss auf die Steifigkeitsmessung hat. Bei den cholestatischen Erkrankungen (PSC, PBC) haben sich im $F = 3$ Stadium deutlich höhere Messungen ergeben als bei den viralen Hepatitiden. In der Literatur wurden für diese Erkrankungen deutlich höhere Cut-off Werte für die Zirrhose angegeben, die vermehrte im Messfeld miterfasste Gallenflüssigkeit mag ein Grund hierfür sein. Insgesamt ergibt sich jedoch anhand der Varianzanalyse bei der Gegenüberstellung der viralen gegenüber den autoimmunen Hepatitiden kein Einfluss der Diagnose auf die Fibrosemessung, weder beim Vergleich mit der Histologie noch mit dem ML/Mischscore.

Die Kombination aus laparoskopischem und histologischem Staging hat zwar keine Zunahme der diagnostischen Genauigkeit gebracht, aber ein wesentliches Kriterium des zirrhotischen Leberumbaus berücksichtigt, nämlich den makronodulären Parenchyumbau. Ob dieser ein wesentliches Kriterium für den prognostischen Krankheitsverlauf darstellt oder wie in dieser Studie das Krankheitsstadium eher überschätzt, kann nicht abschließend geklärt werden.

Entgegen den vereinzelten Angaben aus der Literatur scheint die Entzündungsaktivität keinen Einfluss auf die Fibroscanmessungen zu nehmen. Zumindest bei den Patienten mit hochgradiger Entzündungsaktivität (A4), ergab sich in dieser Studie trotz der hohen Entzündungsaktivität kein Hinweis auf falsch hoch gemessene Fibroscanwerte, da jeweils zur Histologie der passende Fibroscan-Wert vorlag.

Zusammenfassend hat der Fibroscan als eines der genauesten nicht invasiven diagnostischen Verfahren Potential zusammen mit anderen klinischen Tests und diagnostischen Daten, als ein ergänzendes Tool oder als Verlaufsparemeter in der klinischen Routine einzugehen. Als Screening Methode scheint sie, bei nur geringer Diskriminierung der frühen Fibrosestadien, nicht geeignet zu sein. Für die Diagnoseklärung und zum genauen Fibrose-Staging bleibt die Leberbiopsie Methode der Wahl. Da jedoch eine gute Korrelation mit den Fibrosestadien besteht, die Methode eine geringe Interobservervariabilität sowie gut reproduzierbare Ergebnisse aufweist, ist sie eine vielversprechende Methode, die sich gut als Bedside-Test (ARFI-Imaging) für das Therapiemonitoring und das Therapieansprechen sowie zur Abschätzung von Komplikationen einsetzen lässt. Hierfür sind jedoch weitere multizentrische Longitudinalstudien notwendig.

6. Abkürzungsverzeichnis

A0-A4	Entzündungsaktivität 0 bis 4
Abb.	Abbildung
AIH	Autoimmunhepatitis
AMA	antimitochondriale Antikörper
ANA	Autoantikörper gegen nukleäre Antigene
AP	Alkalische Phosphatase
ASH	alkoholisch bedingte Steatohepatitis (alcoholic steatohepatitis)
AUROC	Area under the receiver operating characteristics curve
BMI	Body mass index
CCC	Cholangiocarcinom
cm	Zentimeter
d.h.	das heißt
DWI	Diffusion-weighted MR imaging
ERCP	endoskopisch retrograde Cholangiographie
F	Fibrose
F0-F4	Fibrosegrad 0 bis 4
FS	Fibroscan
g/dl	Gramm pro Deziliter
ggf.	gegebenenfalls
gGT	gamma-Glutamyl-Transferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HAI	Histologischer Aktivitätsindex (Histology Activity Index)
HBV	Hepatitis-B-Virus

HCV	Hepatitis-C-Virus
HCC	Hepatozelluläres Karcinom
Histo	Histologie
HVPG	Hepatic Venous Pressure Gradient
i.S.	im Serum
i.v.	intravenös
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
INR	international normalized ratio
IQR	Interquartilrange
J	Jahre
kg/m ²	Kilogramm pro Quadratmeter
KI	Konfidenzintervall
KÖF	Körperoberfläche
kPa	Kilopascal
l	Liter
m	männlich
MELD	Model for End Stage Liver Disease
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
min.	Minuten
Mischscore	Ergebnis der kombiniert makroskopisch/histologischen Zirrrosediagnostik
ml	Milliliter
ML	Minilaparoskopie
mm	Millimeter

MRCP	Magnetresonanzcholangiographie
Mrd/l	Milliarden pro Liter
n	Anzahl
N ₂ O	Stickstoffoxid
NaCl 0,9 %	Natriumchlorid 0,9%
NASH	nicht alkoholisch bedingte Steatohepatitis (Non alcoholic steatohepatitis)
O ₂	Sauerstoff
PBC	Primäre biliäre Zirrhose
PSC	Primär sklerosierende Cholangitis
Q ₁	25%-Quartil
Q ₃	75%-Quartil
ROC-Kurve	Receiver operating characteristic-Kurve
SLA	Autoantikörper gegen lösliches Leberantigen (soluble liver antigen)
SMA	Autoantikörper gegen Antigene von glatten Muskelzellen (smooth muscle antigen)
Tab.	Tabelle
U/l	Units pro Liter
w	weiblich
WHO	Weltgesundheitsorganisation
z.B.	zum Beispiel

7. Literaturverzeichnis

- [1] W. Böcker, H. Denk, Ph. U. Heitz, Pathologie, Urban und Fischer, S. 782- 785
- [2] Preuss, R., Renz-Polster, H., Wellhoefer, P., Brüning, A. (2004) Leber, Galle, Pankreas. S.624-726. In: Renz-Polster, H., Krautzig S., Braun J. Basislehrbuch Innere Medizin. 3. Auflage. Urban & Fischer Verlag, München und Jena.
- [3] Bahr, M.J. and M.P. Manns, [*Liver cirrhosis*].Internist (Berl), 1999.40(12): p. 1308-22.
- [4] Foucher, J., L. Castera, et al. (2006). Prevalence and factors associated with failure of Liver Stiffness measurement using Fibroscan® in a prospective study of 2114 examinations. European Journal of Gastroenterology & Hepatology 18(4): 411-2.
- [5] Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, et al., Non-invasive assessment of Liver fibrosis by stiffness measurement: a prospective multicenter study in patients with chronic hepatitis C., Hepatology 2005; 41:48-54.
- [6] Nichtinvasive Diagnose der Leberfibrose bei chronischen Hepatopathien Stauber R *Journal für Gastroenterologische und Hepatologische Erkrankungen*, 2009; 7 (4), 12-17
- [7] 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 2002; 97: 2614–8.
- [8] Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. Hepatology 2003; 38: 1449–57.
- [9] Cholongitas E, Senzolo M, Standish R, Marelli L, Quaglia A, Patch D, Dhillon AP, Burroughs AK. A systematic review of the quality of liver biopsy specimens. Am J Clin Pathol 2006;

- [10] Friedman SI Fau - Bansal, M.B. and M.B. Bansal, *Reversal of hepatic fibrosis - - fact or fantasy?*(0270-9139 (Print)).
- [11] Standish Ra Fau - Cholongitas, E., et al., *An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis.* (0017-5749 (Print)).
- [12] Schuppan, D. and Y. Porov, *Hepatic fibrosis: From bench to bedside.* J Gastroenterol Hepatol, 2002. 17 Suppl 3: p. S300-S305.
- [13] Friedman, S.L., *Liver fibrosis -- from bench to bedside.*J Hepatol, 2003. 38 Suppl 1: p. S38-53.
- [14] Kweon, Y.O., et al., *Decreasing fibrogenesis: an immunohistochemical study of paired liver biopsies following lamivudine therapy for chronic hepatitis B.* J Hepatol, 2001. 35(6): p. 749-55.
- [15] Poynard, T., et al., *A comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases.*J Hepatol, 2003. 38(3): p. 257-65.
- [16] Hammel, P., et al., *Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct.* N Engl J Med, 2001. 344(6): p. 418-23.
- [17] Dufour, J.F., R. DeLellis, and M.M. Kaplan, *Reversibility of hepatic fibrosis in autoimmune hepatitis.*Ann Intern Med, 1997.127(11): p. 981-5.
- [18] Grading and Staging the Histopathological Lesions of Chronic Hepatitis: The Knodell Histology Activity Index and Beyond. ELIZABETH M. BRUNT; HEPATOLOGY January 2000; Seiten 241-246
- [19] Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions, Am J. Gastroenterol. 1999 Sep;94(9):2467-74
- [20] Yano, M., Kumada, H., Kage, M. Ikeda, K., Shimamatsu, K., Inoue, O., Hashimoto, E., Lefkowitz, J.H., Ludwig, J., Okuda, K. (1996). The long-

- term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology*, Vol.23, No.6, (June 1996), pp. 1334-1340, ISSN 0270-9139
- [21] Roulot D, Czernichow S, Le Clesiau H, Costes JL, Vergnaud AC, Beaugrand M (2008) Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *Journal of Hepatology* 48: 606-613.
- [22] Culver EL, Chapman RW: Systematic review: management options for primary sclerosing cholangitis and its variant forms – IgG4-associated cholangitis and overlap with autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1273–91.
- [23] Indikationen zur Leberbiopsie - The indications for liver biopsy - *Dtsch Arztebl Int* 2012; 109(27-28): 477-83; DOI: 10.3238/arztebl.2012.0477
- [24] Gerd Herold et al. :*Innere Medizin*, Köln, 2009, S. 507
- [25] Bravo, A.A., S.G. Sheth, and S. Chopra, *Liver biopsy*. *N Engl J Med*, 2001. 344(7): p. 495-500.
- [26] Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, et al. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): A prospective study. *Gut* 2006;55:403-8.
- [27] Castéra L, Vergniol J, Foucher J, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005;128:343-50.
- [28] Corpechot C, El Naggar A, Poujol-Robert A, et al. Assessment of biliary fibrosis by transient elastography in patients with PBC and PSC. *Hepatology* 2006;43:1118-24.
- [29] Erhardt A, Lörke J, Vogt C, Poremba C, Willers R, Sagir A, Häussinger D (2006) Transiente Elastographie zur Diagnose der Leberzirrhose. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 131: 2765-2769.

- [30] 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.
- [31] Carrion JA, Navasa M, Bosch J, Bruguera M, Gilibert R, Forns X. Transient elastography for diagnosis of advanced fibrosis and portal hypertension in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006;12:1791–1798.
- [32] Vizzutti F, Arena U, Romanelli RG, Rega L, Foschi M, Colagrande S, et al. Liver stiffness measurement predicts severe portal hypertension in patients with HCV-related cirrhosis. *Hepatology* 2007;45:1290–1297.
- [33] Lim JK, Groszmann RJ. Transient elastography for diagnosis of portal hypertension in liver cirrhosis: is there still a role for hepatic venous pressure gradient measurement? *Hepatology* 2007;45:1087–1090.
- [34] Rigamonti C, Donato MF, Fraquelli M, Agnelli F, Ronchi G, Casazza G, et al. Transient elastography predicts fibrosis progression in patients with recurrent hepatitis c after liver transplantation. *Gut* 2008. doi:10.1136/gut.2007.135046.
- [35] Castéra L, Le Bail B, Roudot-Thoraval F, Bernard PH, Foucher J, Merrouche W, et al. Early detection in routine clinical practice of cirrhosis and oesophageal varices in chronic hepatitis C: comparison of transient elastography (FibroScan) with standard laboratory tests and non-invasive scores. *J Hepatol* 2009;50:59–68.
- [36] Berzigotti A, Abraldes J, Tandon P, Erice E, Gilibert R, Garcia-Pagan J C, et al. Ultrasonographic evaluation of liver surface and transient elastography in clinically doubtful cirrhosis. *J Hepatol* 2010;52:846–853.

- [37] Nguyen-Khac E, Chatelain D, Tramier B, Decrombecque C, Robert B, Joly JP, Brevet M, Grignon P, Lion S, Le Page L, Dupas JL (2008) Assessment of asymptomatic liver fibrosis in alcoholic patients using fibroscan: prospective comparison with seven non-invasive laboratory tests. *Aliment Pharmacol Ther* 28: 1188-1198.
- [38] Friedrich-Rust M, Wunder K, Kriener S, Sotoudeh F, Richter S, Bojunga J, Herrmann E, Poynard T, Dietrich CF, Vermehren J, Zeuzem S, Sarrazin C (2009) Liver Fibrosis in Viral Hepatitis: Noninvasive Assessment with Acoustic Radiation Force Impulse imaging versus Transient Elastography. *Radiology* 252: 595-604.
- [39] Bonekamp S, Kamel I, Solga S, Clark J (2009) Can imaging modalities diagnose and stage hepatic fibrosis and cirrhosis accurately ? *Journal of Hepatology* 50:17-35.
- [40] Carlson JJ, Kowdley KV, Sullivan SD, Ramsey SD, Veenstra DL (2009) An evaluation of the potential cost-effectiveness of non-invasive testing strategies in the diagnosis of significant liver fibrosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 24: 786-791.
- [41] Bedossa P, Carrat F (2009) Liver biopsy: The best, not the gold standard. *Journal of Hepatology* 50: 1-3.
- [42] Manns MP, Schneider A, Meier PN (2003) Minilaparoscopy for early diagnosis of cirrhosis: Is the endoscopist's eye better than the histopathologist's? *Endoscopy* 35: 74-75.
- [43] Lambert J, Halfon P, Penaranda G, Bedossa P, Cacoub P, Carrat F (2008) How to measure the diagnostic accuracy of noninvasive liver fibrosis indices: The area under the ROC curve revisited. *Clinical Chemistry* 54: 1372-1378.
- [44] POYNARD, T.; RATZIU, V.; CHARLOTTE, F.; ET AL. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in Patients with chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology* 34:730–739, 2001.

- [45] Everson GT, Jensen DM, Graig JR, van Leeuwen DJ, Bain VG, Ehrinpreis MN, Joh K, Witt K (1999) Efficacy of interferon treatment for patients with chronic hepatitis C: comparison of response in cirrhotics, fibrotics or non fibrotics. *Hepatology* 30: 271-276.
- [46] Schölmerich J (2008) Leberzirrhose. In: *Gastroenterologie*. J.F. Riemann, W. Fischbach, P.R. Galle, J. Mössner (Hrg.), Band 2: *Leber, Galle, Pankreas*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1422-1486.
- [47] Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease David E. Kleiner, 1 Elizabeth M. Brunt, 2 Mark Van Natta, 3 Cynthia Behling, 4 Melissa J. Contos, 5 Oscar W. Cummings, 6 Linda D. Ferrell, 7 Yao-Chang Liu, 8 Michael S. Torbenson, 9 Aynur Unalp-Arida, 3 Matthew Yeh, 10 Arthur J. McCullough, 11 and Arun J. Sanyal 12 for the Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network 13; *HEPATOLOGY*, June 2005
- [48] Kuntz E, Kuntz H-D (2008) *Hepatology Textbook and Atlas*, 3rd Edition, Heidelberg. Springer Medizin Verlag, 410-412, 738-744, 751-763.
- [49] Schuppan D, Afdhal NH (2008) Liver cirrhosis. *Lancet* 371: 838-851.
- [50] Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1994; 20: 15–20.
- [51] Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1: 431–5.
- [52] Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19: 1513–20.

- [53] Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RNM, Phillips MJ, Portmann BG, Poulsen H, Scheuer PJ, Schmid M, Thaler H. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22: 696–9.
- [54] Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467–74
- [55] Denzer U, Arnoldy A, Kanzler S, Galle PR, Dienes HP, Lohse AW (2007) Prospective randomized comparison of minilaparoscopy and percutaneous liver biopsy: diagnosis of cirrhosis and complications. *Journal of Clinical Gastroenterology* 41:103-110.
- [56] Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R (2003) Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*. 29: 1705-1713.
- [57] Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Conte D, Donato MF, Ronchi G, Colombo M. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut* 2007; 56: 968–73.
- [58] Arena U, Vizzutti F, Abraldes JG, Corti G, Stasi C, Moscarella S, Milani S, Lorefice E, Petrarca A, Romanelli RG, Laffi G, Bosch J, Marra F, Pinzani M. Reliability of transient elastography for the diagnosis of advanced fibrosis in chronic hepatitis C. *Gut* 2008; 57: 1288–93.
- [59] Sandrin, L., et al., *Time-resolved pulsed elastography with ultrafast ultrasonic imaging*. *Ultrason Imaging*, 1999. 21(4): p. 259-72.
- [60] Ziol, M., et al., *Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C*. *Hepatology*, 2004. 41(1): p. 48-54.
- [61] Beaugrand, M., *[Fibroscan: instructions for use]*. (0399-8320 (Print)).

- [62] Masaki N Fau - Imamura, M., et al., *Usefulness of elastometry in evaluating the extents of liver fibrosis in hemophiliacs coinfectd with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus*. (1386-6346 (Print)).
- [63] Laharie D Fau - Zerbib, F., et al., *Diagnosis of liver fibrosis by transient elastography (FibroScan) and non-invasive methods in Crohn's disease patients treated with methotrexate*. (0269-2813 (Print)).
- [64] Foucher J Fau - Castera, L., et al., *Prevalence and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations*. (0954-691X (Print)).
- [65] Castera L Fau - Foucher, J., et al., *FibroScan and FibroTest to assess liver fibrosis in HCV with normal aminotransferases*. (0270-9139 (Print)).
- [66] de Ledinghen V Fau - Douvin, C., et al., *Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV/hepatitis C virus-coinfectd patients*. (1525-4135 (Print)).
- [67] Sogni P Fau - Salmon-Ceron, D., P. Salmon-Ceron D Fau - Podevin, and P. Podevin, *[Management of cirrhosis complications in HIV patients coinfectd with hepatitis B or C virus]*. (0755-4982 (Print)).
- [68] Colletta C Fau - Smirne, C., et al., *Value of two noninvasive methods to detect progression of fibrosis among HCV carriers with normal aminotransferases*. (0270-9139 (Print)).
- [69] Foucher J Fau - Chanteloup, E., et al., *Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study*. (0017-5749 (Print)).
- [70] Castera L Fau - Vergniol, J., et al., *Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C*. (0016-5085 (Print)).
- [71] Fontana, R.J. and A.S. Lok, *Noninvasive monitoring of patients with chronic hepatitis C*. Hepatology, 2002. 36(5 Suppl 1): p. S57-64.

- [72] McGill, D.B., et al., *A 21-year experience with major hemorrhage after percutaneous liver biopsy*.Gastroenterology, 1990.99(5): p. 1396-400.
- [73] Van Thiel, D.H., et al., *Liver biopsy. Its safety and complications as seen at a liver transplant center*.Transplantation, 1993.55(5): p. 1087-90.
- [74] Wong, J.B., et al., *Pretreatment evaluation of chronic hepatitis C: risks, benefits, and costs*.Jama, 1998.280(24): p. 2088-93.
- [75] Janes, C.H. and K.D. Lindor, *Outcome of patients hospitalized for complications after outpatient liver biopsy*.Ann Intern Med, 1993.118(2): p. 96-8.
- [76] Raines, D.R., R.L. Van Heertum, and L.F. Johnson, *Intrahepatic hematoma: a complication of percutaneous liver biopsy*.Gastroenterology, 1974.67(2): p. 284-9.
- [77] Colombo, M., et al., *Ultrasound-assisted percutaneous liver biopsy: superiority of the Tru-Cut over the Menghini needle for diagnosis of cirrhosis*.Gastroenterology, 1988.95(2): p. 487-9.
- [78] McGill, D.B., et al., *A 21-year experience with major hemorrhage after percutaneous liver biopsy*.Gastroenterology, 1990.99(5): p. 1396-400.
- [79] Colloredo, G., et al., *Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease*.J Hepatol, 2003.39(2): p. 239-44.
- [80] Maharaj, B., et al., *Sampling variability and its influence on the diagnostic yield of percutaneous needle biopsy of the liver*.Lancet, 1986.1(8480): p. 523-5.
- [81] Regev, A., et al., *Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection*.Am J Gastroenterol, 2002. 97(10): p. 2614-8.

- [82] Castera L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, Couzigou P, de Ledinghen V (2010 a) Pitfalls of Liver Stiffness Measurement: A 5-Year Prospektive Study of 13.369 Examinations. *Hepatology* 51: 828- 835.
- [83] Roulot D, Czernichow S, Le Clesiau H, Costes JL, Vergnaud AC, Beaugrand M (2008) Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *Journal of Hepatology* 48: 606-613.
- [84] Crawford JM (2007) Basic mechanisms in hepatopathology. In: MacSween`s Pathology of the Liver. A.D. Burt, B.C. Portmann, L.D. Ferrell (Hrg.), Fifth Edition, Churchill Livingstone, China, 75-110.
- [85] Ganne-Carrie N, Ziol M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Castera L, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M (2006) Accuracy of liver stiffness measurement for the diagnosis of cirrhosis in patients with chronic liver diseases. *Hepatology* 44: 1511-1517.
- [86] Kim SU, Han KH, Park JY, Ahn SH, Chung MJ, Chon CY, Choi EH, Kim do Y. Liver stiffness measurement using FibroScan is influenced by serum total bilirubin in acute hepatitis. *Liver Int.* 2009 Jul;29(6):810-5. doi:10.1111/j.1478-3231.2008.01894.x. Epub 2008 Oct 24. PubMed PMID: 19018979.
- [87] Extrahepatische Cholestase erhöht die Lebersteifigkeit (Fibroscan®) unabhängig von der Fibrose G Millonig ¹, S Friedrich ¹, A Welker ¹, P Becker ¹, F Reimann ¹, A Mehrabi ², H Founouni ², MW Büchler ², HK Seitz ¹, S Mueller ¹ Z Gastroenterol 2008; 46 - P100 DOI: 10.1055/s- 0028-1089476

8. Danksagung

In erster Linie danke ich meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Ulrike W. Denzer, die mir stets als Ansprechpartnerin diente und mich fortwährend in meinem Forschungsprojekt durch ihre Ideen, ihre Anregungen und ihre konstruktive Kritik bereicherte.

Ich danke den wissenschaftlichen Mitarbeitern und insbesondere dem Dipl.-Math. Simon Schneider vom Institut für Medizinische Statistik der Universitätsmedizin Göttingen für deren statistische Beratung.

Ich danke Herrn Dr. A. Quaas vom Institut für Pathologie der Universität Hamburg, der mir stets ein Ansprechpartner für die Interpretation der pathologischen Referenzbefunde war und diese in einer standardisierten Form zur Verfügung gestellt hat.

Ich danke meiner Frau und meinen Kindern, die mir stets Mut zugesprochen haben und mich fortwährend in meiner Arbeit bestärkt haben. Hätten sie mir nicht den Rücken freigehalten, wäre diese Arbeit nicht entstanden.

Und nicht zuletzt danke ich meinen Eltern, die in jeglicher Hinsicht die Grundsteine für meinen Weg gelegt haben.

9. Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus datenrechtlichen Gründen für die elektronische Veröffentlichung entfernt.

10. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: