

Aus der Zentralen Sonographie, Medizinische Klinik II,  
Krankenhaus Siloah, Klinikum Region Hannover

und der

Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin  
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**LEBER-TRANSITZEITEN EINES ULTRASCHALL-KONTRASTMITTELS (SONOVUE®)  
BEI FOKALEN UND NICHT-FOKALEN LÄSIONEN DER LEBER**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Martin Kolditz

aus Hannover

---

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. T. Albrecht  
2. Priv.-Doz. Dr. med. T. Fischer  
3. Priv.-Doz. Dr. med. T. Bernatik

Datum der Promotion: 16.05.2010

Gewidmet meiner Frau Birgit Kolditz  
mit Dank für ihre Geduld

# Inhaltsverzeichnis

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1     | EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG .....  | 1  |
| 1.1   | BILDGEBENDE DIAGNOSTIK BEI DIFFUSEN UND FOKALEN LÄSIONEN DER LEBER .....                                    | 2  |
| 1.2   | FRAGESTELLUNG DER VORLIEGENDEN UNTERSUCHUNG .....   | 4  |
| 2     | MATERIAL UND METHODEN .....   | 6  |
| 2.1   | PATIENTEN .....   | 6  |
| 2.2   | UNTERSUCHUNGSMETHODIK .....   | 10 |
| 2.2.1 | <i>Ultraschall-Kontrastmittel</i> .....   | 10 |
| 2.2.2 | <i>Ultraschallgerät</i> .....   | 11 |
| 2.2.3 | <i>Untersuchungsablauf</i> .....  | 14 |
| 2.2.4 | <i>Auswertung</i> .....   | 16 |
| 2.3   | STATISTISCHE AUSWERTUNG .....   | 19 |
| 3     | ERGEBNISSE .....  | 22 |
| 3.1   | INTER-RATER-ÜBEREINSTIMMUNG .....   | 22 |
| 3.2   | STICHPROBENBESCHREIBUNG .....   | 22 |
| 3.3   | GRUPPENVERGLEICHE .....   | 32 |
| 3.3.1 | <i>Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie</i> .....                                 | 32 |
| 3.3.2 | <i>Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader</i> .....                                    | 34 |
| 3.3.3 | <i>Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Lebervene</i> .....                                    | 35 |
| 3.3.4 | <i>Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Pfortader</i> ..... | 37 |
| 3.3.5 | <i>Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Lebervene</i> ..... | 38 |
| 3.3.6 | <i>Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene</i> .....    | 40 |
| 3.3.7 | <i>Korrelation der Transitzeit mit der Größe von Lebermetastasen</i> .....                                  | 41 |
| 3.4   | PRÜFUNG AUF ZUSAMMENHÄNGE MIT DEM ALTER .....   | 42 |
| 3.5   | VERIFIKATION DER GEFUNDENEN ZUSAMMENHÄNGE MIT ALTERSADJUSTIERTEN PRÜFGRÖßEN .....                           | 45 |
| 3.5.1 | <i>Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie</i> .....                                 | 45 |
| 3.5.2 | <i>Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader</i> .....                                    | 46 |
| 3.5.3 | <i>Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Lebervene</i> ..... | 46 |
| 3.5.4 | <i>Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene</i> .....    | 47 |
| 3.6   | ZUSAMMENHANG MIT DER LÄSIONSGRÖßE .....   | 49 |

---

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 3.7 | ZUSAMMENFASSEnde BEWERTUNG .....          | 50 |
| 4   | DISKUSSION .....                          | 52 |
| 5   | ZUSAMMENFASSUNG .....                     | 61 |
| 6   | LITERATURVERZEICHNIS .....                | 62 |
| 7   | ANHANG .....                              | 72 |
| 7.1 | ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS ..... | 72 |
| 7.2 | TABELLARIUM .....                         | 74 |
| 8   | DANKSAGUNG .....                          | 77 |
| 9   | LEBENS LAUF .....                         | 78 |
| 10  | ERKLÄRUNG .....                           | 80 |

## 1 Einleitung und Problemstellung

Die Nutzung von Schallwellen ist in Natur und Technik weit verbreitet. So nutzen z. B. Fledermäuse den Ultraschall zur Ortung im Dunkeln. In der Technik wird der Ultraschall z. B. zur Ortung von U-Booten oder zur Bestimmung von Meerestiefen eingesetzt. In der Medizin wurde der Ultraschall erstmals von dem Neurologen DUSSIK (1942) als Hypersonographie diagnostisch genutzt. Als wesentliche Verbesserung entwickelten LUDWIG und STRUTHES im Jahr 1949 das Impuls-Echoverfahren (Reflexionstechnik), das die Voraussetzung für die Ultraschalltechnik als bildgebendes Verfahren darstellt (BADER *et al.* 1994). 1965 kam das erste Real-Time-Ultraschallgerät auf den Markt. Seit den frühen 1980er Jahren steht außerdem die farbkodierte Duplexsonographie zur Verfügung.

Die Ultraschalluntersuchung hat inzwischen durch technische Weiterentwicklung deutliche und häufig klinisch relevante Verbesserungen in vielen Bereichen der bildgebenden Diagnostik ermöglicht, wobei die Untersuchung in Echtzeit und die – abgesehen von endosonographischen Verfahren - Non-Invasivität nur zwei der wesentlichsten Vorteile sind.

Eine wichtige Weiterentwicklung ist der Einsatz von Ultraschall-Kontrastmitteln. Das Prinzip der Ultraschallkontrastmittel ist bereits seit über 30 Jahren bekannt, als GRAMIAK und SHAH (1968) bei der i.v.-Injektion von Indocyaningrün im Ultraschall starke Echosignale im Blut feststellten. Die Signale entstanden nicht durch den – gelösten – Farbstoff selbst, sondern durch Luftbläschen, die bei der schnellen Bolusinjektion mit verabreicht wurden. Seit einigen Jahren wird versucht, mittels gezielter Produktion solcher Luft- oder Gasbläschen echogene Lösungen zu erzeugen, um das echoarme Blut im Ultraschall sichtbar zu machen. Seit 1991 sind in Deutschland standardisierte Ultraschallkontrastmittel für die Rechtsherzdiagnostik (Echovist®) und seit 1995 lungengängige Ultraschallkontrastmittel (Levovist®) kommerziell erhältlich. Alle derzeit verfügbaren Ultraschallkontrastmittel bestehen aus einer Hülle (Shell) und einem darin eingeschlossenen beziehungsweise daran adsorbierten Gas. Es gibt Präparate mit harter Schale (beispielsweise Galaktose-Mikropartikel oder denaturiertes Albumin) und solche mit einer flexiblen Hüllmembran (beispielsweise mit einer Phospholipidhülle). Die Zusammensetzung der Hülle bestimmt die physikalische Flexibilität der Mikrobälchen und damit gleichzeitig das Schallwellenverhalten. Beim Gas unterscheidet man Präparate mit Luft (Produkte der 1. Generation) von solchen mit schwer wasserlöslichen Gasen (Produkte der 2. Generation) [DIETRICH und BECKER 2002].

## 1.1 Bildgebende Diagnostik bei diffusen und fokalen Läsionen der Leber

Ultraschall steht heute in der Regel bei der apparativen Diagnostik der Leber an erster Stelle. Die Ultraschalluntersuchung der Leber ist in der Primärdiagnostik von Lebererkrankungen, wie z. B. der Leberzirrhose bzw. Lebertumoren, mittlerweile etabliert und stellt die Fortsetzung der internistischen körperlichen Untersuchung dar. Gegenüber anderen bildgebenden Verfahren weist sie folgende Vorteile auf (HOFFMANN 2005):

- Breite Verfügbarkeit,
- Möglichkeit der Diagnostik am Krankenbett,
- Vielseitigkeit in Bezug auf die darstellbaren Strukturen und Funktionen, direktes Umschalten zwischen verschiedenen Darstellungsmodi,
- im Vergleich zu den röntgendiagnostischen (CT, Angiographie) oder szintigraphischen Verfahren fehlende Strahlenbelastung, daher beliebig wiederholbar,
- keine Nebenwirkungen an soliden Organen wie Nieren und Schilddrüse,
- im Unterschied zur radiologischen Bildgebung keine Probleme durch Metallteile, Platzangst in engen Röhren oder unangenehme Sensationen,
- vergleichsweise niedriger Preis für Geräteanschaffung und Durchführung der Untersuchungen.

Eine der Hauptindikationen für die Leberultraschalluntersuchung ist die Diagnostik von diffusen und fokalen Lebererkrankungen. Als typische sonographische Zeichen für eine Leberzirrhose gelten in der B-Bild-Sonographie u. a. eine höckrige Leberoberfläche, Rarefizierung der Lebervenen, vermehrte Konsistenz sowie ein inhomogen vermehrtes Echoreflexmuster. Allerdings finden sich diese typischen sonographischen Zeichen bei nur ca. 50 % der Patienten mit einer Leberzirrhose. So kann einerseits eine Leberzirrhose vorliegen, auch wenn das Leberparenchym sonographisch unauffällig aussieht (z. B. bei feinknotiger Leberzirrhose). Zum anderen können Befunde, welche die typischen sonographischen Zeichen einer Leberzirrhose aufweisen, auch durch andere Erkrankungen, wie z. B. eine diffuse Metastasierung oder eine inhomogene Verfettung, verursacht sein.

Ein weiteres wichtiges Einsatzgebiet ist die Diagnostik fokaler Läsionen der Leber. Durch die Weiterentwicklung der Ultraschall-Gerätetechnologie – z. B. in Form einer Optimierung der Orts- und Kontrastauflösung – wurde die Sensitivität für die sonographische Darstellbarkeit solcher Läsionen immer weiter verbessert. Mit den modernen „High-End“-Ultraschallgeräten können Lebertumoren im Idealfall bereits ab einer Größe von wenigen Millimetern sonographisch nachweisbar sein. Die *Sensitivität* der Darstellung von Leberumherden hat sich zwar deutlich verbessert, sie liegt aber für Lebermetastasen ohne Kontrastmittel trotzdem nur bei etwa 70 % (ALBRECHT *et al.* 2001). Zudem stößt die Nativ-Sonographie bezüglich der Charakterisierung der Dignität von Leberumherden an ihre Grenze (DIETRICH 2004). Es lassen sich zwar Leberzysten anhand der typischen Kriterien wie rundliche Form, echofreier Binnenraum und Schallverstärkung sowie Verkalkungen anhand des Schallschattens und der Unterschiede der Echogenität sicher beurteilen, eine sichere Charakterisierung von Lebertumoren gelingt jedoch meist nicht.

Dies ist besonders problematisch, da die WHO allein etwa 40 verschiedene Entitäten fokaler Leberherde unterscheidet (HOFFMANN 2005). In dem bis vor Kurzem noch problematischen Bereich der Differentialdiagnostik von Leberumherden haben sich durch Ultraschallkontrastmittel – in den ersten Jahren mit Levovist<sup>®</sup>, seit 2001 mit SonoVue<sup>®</sup> – neue Perspektiven eröffnet. Durch Beurteilung der Kontrastmittelkinetik und des Verteilungsverhaltens in der Läsion und der gesamten Leber ist es häufig möglich, bereits durch die Ultraschalluntersuchung gutartige von bösartigen Leberumherden zu unterscheiden (DIETRICH und BECKER 2002, DIETRICH 2004, BOLONDI *et al.* 2007); besonders vorteilhaft sind in diesem Zusammenhang die Kontrastmittel der zweiten Generation (wie SonoVue<sup>®</sup>) mit flexibler Hülle, die Untersuchungen mit niedrigem Schalldruck und langen zerstörungsfreien Beobachtungszeiten ermöglichen (WILSON und BURNS 2001, BURNS und WILSON 2006).

Der Nachweis einer homogenen Kontrastmittel-Anreicherung in fokalen Leberläsionen weist zusammen mit dem Auswaschverhalten eine hohe Spezifität in der Dignitätszuordnung des Herdes auf: Im Falle einer Kontrastmittelauswaschung in der Spätphase ist ein Malignom hoch wahrscheinlich; der Nachweis von Kontrastmittelaussparungen, die im B-Bild vor der Kontrastmittel-Injektion nicht als Läsion zu erkennen waren, besitzt dabei eine hohe Spezifität für eine Malignität des Leberherdes (ALBRECHT *et al.* 2004b, HOHMANN *et al.* 2004, SOLBIATI *et al.* 2004b).

Somit wird die Kontrastmittelsonographie zur direkten Darstellung der Vaskularisierung und der Perfusionskinetik fokaler Läsionen als Funktion der Zeit zur Erhöhung der Detektionsrate und genaueren Charakterisierung solcher Veränderungen durchgeführt.



Unter diesen Indikationen hat der Einsatz von Ultraschall-Kontrastmitteln seit Ende der 90er Jahre vielversprechende Ergebnisse erbracht und gilt als gleichwertig gegenüber auch aufwändigen radiologischen Verfahren wie der Kontrast-CT (SOLBIATI *et al.* 1999, BEISSERT *et al.* 2000, HARVEY *et al.* 2000, WILSON *et al.* 2000, BERNATIK *et al.* 2001, KIM *et al.* 2002, ALBRECHT *et al.* 2003, BARTOLOTTA *et al.* 2003, JANG *et al.* 2003, STROBEL *et al.* 2003, ALBRECHT *et al.* 2004a, BLEUZEN und TRANQUART 2004, PESCHL *et al.* 2004, RICCI *et al.* 2005).

## 1.2 Fragestellung der vorliegenden Untersuchung

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit der Kontrastmittel ist ihr Einsatz als intravaskulärer Tracer zur Beurteilung der zeitlichen Dynamik der Leberperfusion durch Messung der intrahepatischen Transit- (=Durchlauf-) Zeit. Auch diese Anwendungsmöglichkeit wurde von Beginn der „Kontrastmittelära“ Ende der 90er Jahre an untersucht. Erste Ergebnisse mit Levovist™ wurden von der Arbeitsgruppe um COSGROVE am Imperial College in London vorgelegt (BLOMLEY *et al.* 1998, ALBRECHT *et al.* 1999a, b, COSGROVE *et al.* 2002); es zeigte sich bei Patienten mit Leberzirrhose eine verkürzte Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Lebervene.

BERNATIK *et al.* (2002) konnten die mit Levovist™ bei der Leberzirrhose erzielten Ergebnisse unter Verwendung eines anderen Kontrastmittels (Optison®) und einer modifizierten (Puls-Inversions-) Technik an Patienten mit Lebermetastasen bestätigen.

Neben der Primärdiagnostik eignet sich das Verfahren möglicherweise auch zum Therapiemonitoring: SOLBIATI *et al.* (2004a) sowie ZHOU *et al.* (2005) wendeten es zur Verlaufskontrolle nach Radiofrequenzablation von Lebertumoren an; bei Patienten, die auf diese Therapie ansprachen, zeigte sich eine Normalisierung der Transitzeit auf über 10 Sekunden, die bei Non-Respondern ausblieb.

Diese charakteristischen Veränderungen der Kinetik der Leberperfusion wurden auch mit anderen bildgebenden Verfahren nachgewiesen, und zwar sowohl klinisch als auch im Tierexperiment (RYPINS *et al.* 1981, SARPER *et al.* 1981, NOTT *et al.* 1987, WARREN *et al.* 1998, CUENOD *et al.* 2001, RICHTER *et al.* 2000, 2001, FUENTES *et al.* 2002, NAKATA *et al.* 2002, VAN BEERS *et al.* 2003).

Die klinisch-praktische Anwendung der mit der Kontrastmittelsonographie ermittelten intrahepatischen Transitzeiten wurde zunächst davon beeinträchtigt, dass die Mikroblasen der Kontrastmittel eine harte, durch das Schallfeld leicht zerstörbare Hülle hatten und damit instabil waren; die leichte Fragmentierung erschwerte die Entwicklung diagnostischer Standards und Normwerte. In den letzten Jahren wurden jedoch Kontrastmittel entwickelt, die bereits bei niedrigem Schalldruck Resonanz zeigen und durch höhere Stabilität eine bessere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erlauben (BECHER und BURNS 2000).

Damit bietet sich die Möglichkeit, die bekannten und gut dokumentierten Alterationen der zeitlichen Dynamik der Leberperfusion im Rahmen der kontrastmittelgestützten Lebersonographie zu erfassen und diagnostisch zu verwerten. Mit der vorliegenden Untersuchung soll ein Beitrag zur Prüfung der Eignung dieses methodischen Ansatzes für die klinische Diagnostik geleistet werden. Dafür wurden die digital gespeicherten „cine loops“ von Patienten, die sich unter unterschiedlichen Indikationen einer KM-verstärkten Sonographie der Leber unterzogen hatten, retrospektiv auf die Transitzeiten hin untersucht. Der Zeitpunkt der Detektion des Kontrastmittels in

- *A. hepatica*,
- *V. portae* sowie
- *V. hepatica*

wurde bei Patienten mit diffusen bzw. fokalen Erkrankungen der Leber sowie einer Kontrollgruppe gemessen und zur Diagnose in Beziehung gesetzt. Da es keinen automatischen Detektionsalgorithmus gibt, wurde durch wiederholtes sequentielles Durchsehen der jeweils mit einem „Zeitstempel“ versehenen Einzelbilder der Zeitpunkt des Auftauchens im jeweiligen Gefäß festgelegt.

Das verwendete Kontrastmittel SonoVue<sup>®</sup> (Fa. Bracco, Italien) ist in Europa und China seit 2001 zugelassen und kommerziell erhältlich (SCHNEIDER *et al.* 1995, 1996, MOREL *et al.* 2000, RICCI *et al.* 2005).

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Patienten

In der Medizinischen Klinik II des Klinikums Hannover, Krankenhaus Siloah, steht seit August 2001 die digitale Ultraschalltechnik mit niedrigem mechanischem Index (Low MI) und Phaseninversion im Real-Time-Verfahren zur Untersuchung der Leber zur Verfügung. In einem Beobachtungszeitraum von insgesamt 15 Monaten (bis Ende 2003) wurden insgesamt 543 „cine loops“ von abdominalen Kontrastmittel-Ultraschalluntersuchungen des Abdomens gespeichert, von denen bei 461 auch die Leber untersucht worden war. Bei allen Patienten war die Kontrastmitteluntersuchung Teil der klinischen Diagnostik, und vor der Kontrastmittelapplikation war in allen Fällen eine mündliche Aufklärung und eine schriftliche Einverständniserklärung erfolgt.

Die Indikationen zur KM-Sonographie waren

1. Nachweis bzw. Verdacht auf das Vorliegen von fokalen Veränderungen der Leber;
2. Hinweis auf ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) bei fokaler Läsion auf dem Boden einer Leberzirrhose;
3. Staging bzw. Verlaufskontrolle bei Patienten mit malignen Tumorerkrankungen (solide Tumore und Lymphome).

Für die retrospektive Re-Evaluation der „cine loops“ für die vorliegende Untersuchung mussten für eine kinetische Auswertung folgende Merkmale bei den Filmsequenzen erfüllt sein:

#### **Einschlusskriterium:**

- Aus dem digitalen Archiv abgespeicherter Bilder und cine loops wurden folgende Fälle in die retrospektive Untersuchung aufgenommen: Vorliegen einer

20- bis 30-sekündigen „cine loop“, auf der das Eintreffen der Mikrobläschen in der *A. hepatica*, *V. portae* sowie *V. hepatica* sichtbar war

### **Ausschlusskriterien:**

- Alle im damals aktuellen Beipackzettel angeführten Kontraindikationen;
- Erkrankungen der Lebergefäße (Pfortaderthrombose, Budd-Chiari-Syndrom);
- Diskontinuierliche Darstellung von einem der drei o. g. Gefäße in einer digitalen Aufzeichnung über mindestens 20 Sekunden;
- Beginn der Aufzeichnung nach Beginn der Darstellung in der Leberarterie oder Ende vor Beginn der Darstellung in der Lebervene;
- Zweituntersuchungen eines Patienten am selben Tag.

Alle Patienten mit Malignomen wurden zusätzlich computertomographisch untersucht, einige darüber hinaus auch mit MRT und/oder Szintigraphie. Bei 6 Patienten dieser Gruppe wurde eine Feinnadelpunktion durchgeführt, bei 2 Patienten eine Hemihepatektomie.

Insgesamt wurden nach den o. g. Kriterien 102 Patienten in die Untersuchung eingeschlossen. Die Patienten wurden in Abhängigkeit von der Diagnose in 6 Gruppen eingeteilt:

1. Die *Kontrollgruppe* (n=19; 18,6 %) bestand aus Patienten mit gesicherter einfacher Leberzyste (Größe 1-4,4 cm im Durchmesser), zonalen Mehrverfettungen oder Hämangiomen bis 2 cm Durchmesser. Bei diesen Entitäten ist eine Änderung der Kontrastmittelkinetik nicht zu erwarten. Alle Patienten dieser Gruppe waren zum Zeitpunkt der Untersuchung beschwerdefrei und hatten im Referenzbereich liegende Leber-Laborwerte; die Läsionen waren als Zufallsbefund bei Sonographien des Oberbauchs aus anderer Indikation (meist im Rahmen von Screening-Untersuchungen) aufgefallen und hätten von externen Untersuchern sicher nicht zugeordnet werden können. 10 der Patienten dieser Gruppe (52,6 %) wurden zusätzlich durch CT und/oder MRT untersucht. Außer den Patienten mit Leberzysten wiesen alle Patienten der Kontrollgruppe in der portalen oder späten Phase der Kontrastmitteluntersuchung eine homogene Anreicherung des Lebergewebes auf. Außerdem gab es weder anamnestische noch

sonographische oder klinische Zeichen einer diffusen oder andersartigen fokalen Lebererkrankung.

2. 12 Patienten (11,8 %) wiesen eine *Leberzirrhose* auf. Bei 3 dieser Patienten war diese nach Biopsie histologisch bestätigt, die Diagnose bei den übrigen Patienten war aufgrund des Ultraschallbefundes und der klinischen Befunde konklusiv. Bei je 5 Patienten lag ein CHILD-PUGH-Stadium von A bzw. B vor, 2 Patienten befanden sich im Stadium C. Alle Patienten wiesen ein normales  $\alpha$ -Fetoprotein auf. Die Untersuchung erfolgte bei diesen Patienten zum Ausschluss eines hepatozellulären Karzinoms, wofür sich weder im CT, noch in der kontrastverstärkten Sonographie Hinweise fanden.
3. Eine *fokale noduläre Hyperplasie (FNH)* lag bei 17 Patienten (16,7 %) vor. 6 dieser Patienten (35,3 %) hatten multiple ( $\leq 5$ ) Läsionen, der mittlere Durchmesser der Läsionen lag bei  $5,1 \pm 3,5$  cm (Bei Patienten mit mehreren Läsionen wurde hier die größte berücksichtigt.). Die Diagnose wurde bei allen Patienten mit FNH durch ein oder mehrere weitere(s) bildgebende(s) Verfahren (Spiral-CT, MRT, Szintigraphie) zusätzlich gesichert, bei 3 Patienten erfolgte eine Leberbiopsie. Bei einem Patienten mit diskrepanten Befunden in der Bildgebung wurde operiert; die histologische Aufbereitung ergab in diesem Fall eine FNH von 6,5 cm im Durchmesser.
4. 32 Patienten hatten *Lebermetastasen*, die von Tumoren des Gastrointestinaltrakts ( $n=15$ ; 46,9 %), einem Mammakarzinom ( $n=5$ ; 15,6 %), Nierenzellkarzinom ( $n=3$ ; 9,4 %), Pankreaskarzinom ( $n=2$ ; 6,3 %) bzw. einer multiplen Tumorerkrankung von Lunge, Urothel und Bindegewebe ( $n=1$ ; 3,1 %) ausgingen. In allen Fällen wurde die Lebermetastase durch weitere diagnostische Maßnahmen (CT, MRT, Szintigraphie und/oder Feinnadelbiopsie mit zytologischer bzw. Operation mit histologischer Untersuchung) bestätigt. Die Metastasen wiesen einen mittleren Durchmesser von  $3,5 \pm 2,5$  cm auf. Die Gesamtzahl der Metastasen pro Patient bzw. die Gesamt-Tumormasse der Leber konnte aufgrund des Studiendesigns retrospektiv nicht zuverlässig beurteilt werden. Der Untersuchungsanlass bei den Patienten mit Lebermetastasen war die Planung der individuellen, stadiengerechten Behandlung durch Operation und/oder Chemotherapie. Keiner der Patienten litt an einem tumorbedingten terminalen Leberversagen, und kein Patient wurde während eines Chemotherapiezyklus untersucht.
5. 22 Patienten (21,6 %) wurden wegen eines *Non-Hodgkin-Lymphoms (NHL)* in die Studie eingeschlossen. Patienten mit Allgemeinsymptomatik (z. B. Fieber)

wurden nicht in die Studie einbezogen. Die eingeschlossenen Patienten wurden in zwei Untergruppen aufgeteilt:

- 10 Patienten, die im CT und der Kontrastmittel-Sonographie Läsionen im Bereich der Leber aufwiesen sowie
- 12 Patienten, bei denen die Leber in beiden bildgebenden Untersuchungen unauffällig gewesen war.

Die NHL wurden nach der „Revised European American Lymphoma“- (REAL-Klassifikation) eingeteilt, die die Ausdehnung der Erkrankung bewertet. Indolente NHL wachsen langsam, sind dabei aber oft wenig empfindlich gegenüber Chemo- und Strahlentherapie. Die aggressiven, schnell wachsenden Formen dagegen sind gegenüber der konventionellen Tumorthherapie oft empfindlich(er).

Die Patientenzahl in den einzelnen Gruppen zeigt Tabelle 1:

Tabelle 1: Zusammensetzung des Patientenkollektivs

| <b>Diagnose</b>         | <b>Anzahl</b> | <b>Prozent</b> |
|-------------------------|---------------|----------------|
| Kontrollen              | 19            | 18,6           |
| Zirrhose                | 12            | 11,8           |
| FNH                     | 17            | 16,7           |
| Lebermetastasen         | 32            | 31,4           |
| NHL m. Leberbeteiligung | 10            | 9,8            |
| NHL o. Leberbeteiligung | 12            | 11,8           |
| <b>Gesamtzahl</b>       | <b>102</b>    | <b>100,0</b>   |

In einer Follow-up-Untersuchung ein Jahr nach den für die Studie ausgewerteten Untersuchungen wurde bei allen Patienten mit dem nicht histologisch gesicherten Befund einer FNH, eines Hämangioms oder einer zonalen Mehrverfettung die Läsion durch KM-Sonographie und ggf. andere bildgebende Verfahren re-evaluiert.

## 2.2 Untersuchungsmethodik

### 2.2.1 Ultraschall-Kontrastmittel

Die oszillierenden Mikroblasen emittieren Schallsignale, deren Frequenz ein ganzzahliges Vielfaches der insonierten Frequenz ist. Aus dem emittierten Spektrum wird ausschließlich die zweite harmonische Frequenz (d. h. das Doppelte der Ausgangsfrequenz) zur Kontrastdarstellung verwendet (BECHER und BURNS 2000).

Der Vorteil dieser Form der – nicht destruktiven – Kontrastdarstellung ist die Erhaltung des Echtzeit-Charakters der Sonographie. Diese erlaubt die problemlose Verfolgung der zeitlichen Dynamik der Kontrastanreicherung der zuführenden Lebergefäße, des Parenchyms, eventueller fokaler Läsionen und des abführenden venösen Schenkels. Abgesehen von der Entwicklung geeigneter Kontrastmittel und Software für die „Low MI (Mechanical Index)“-Sonographie haben insbesondere erweiterte Speichermöglichkeiten den Weg für die klinisch-praktische Anwendung dieses Verfahrens geebnet: Die Möglichkeit, „cine loops“ von über einer Minute Länge digital abzuspeichern, erlaubt die wiederholte Betrachtung der kompletten arteriellen („Einwasch“-) Phase einer Kontrastmittel-Sonographie und erhöht damit die Zuverlässigkeit der Bestimmung der Detektionszeiten erheblich.

Für die Untersuchung kam das Ultraschall-Kontrastmittel der 2. Generation (SonoVue<sup>®</sup>, Fa. Bracco, Mailand, Italien) zum Einsatz. Es handelt sich dabei eine wässrige Dispersion kleiner, stabilisierter Gasbläschen, die Schwefelhexafluorid (SF<sub>6</sub>) enthalten. Schwefelhexafluorid ist ein inertes, ungiftiges Gas, das in wässrigem Milieu schwer löslich ist. In der Literatur wird die Verwendung dieses Gases zur Untersuchung der Atemfunktion und zur pneumatischen Retinopexie beschrieben. Die flexible Hüllmembran der Mikrobläschen besteht aus einem Phospholipidmonolayer, welcher die Gasbläschen stabilisiert. Die derart stabilisierten Gasbläschen sind lungenskapillar-gängig und führen so zu einer Signalverstärkung auch im Bereich der linken Herzhöhlen, der großen Gefäße und der Mikrozirkulation. Die verbesserte Darstellung der Mikrozirkulation ist im Bereich von Leber und Mamma klinisch belegt (SOLBIATI *et al.* 2004b, RICCI *et al.* 2005, CASSANO *et al.* 2006).

---

Die Dispersion enthält bis zu 500 Millionen Mikrobäschen pro Milliliter. Das in die Mikrobäschen eingeschlossene Gasvolumen (SF<sub>6</sub>) beträgt 8 µl/ml. Der mittlere Durchmesser der Mikrobäschen beträgt 2,5 µm; 90 % der Mikrobäschen sind kleiner als 8 µm. Die Osmolarität der Dispersion beträgt 294 mosm/kg, der pH-Wert liegt zwischen 6.0 und 6.5 (CORREAS *et al.* 2001, PESCHL 2003).

SonoVue<sup>®</sup> erlaubt mit niedrigem mechanischem Index die Untersuchung der Leber in Echtzeit und hat sich in der Diagnostik von Leberläsionen im klinischen Einsatz etabliert. Es weist ein verlängertes Enhancement in der Leber und eine Leberspezifitat auf, wobei der genaue Mechanismus und die Ausprägung der Leberspezifitat bislang nicht geklärt wurden (PESCHL 2003).

### 2.2.2 Ultraschallgerät

Zur Untersuchung kam das Gerät LOGIQ 7 (Fa. General Electric, Milwaukee, WI, USA) mit dem für Abdomen- und Beckensonographie geeigneten Schallkopf 3.5C (Mittelfrequenz 3,5 MHz) zur Anwendung (Abbildung 1). Dieses Gerät erlaubt die für die vorliegende Untersuchung entscheidende digitale Speicherung und spätere Re-Evaluation von „cine loops“ ausreichender Länge (kurze Filmsequenzen).





Abbildung 1: LOGIQ 7 der Fa. General Electric

Die Sendeleistung wird als mechanischer Index (MI) auf dem Bildschirm des Gerätes angezeigt; dieser – aus Sicherheitsgründen vor der Einführung der Ultraschallkontrastmittel eingeführte – Wert errechnet sich aus dem maximalen negativen Schalldruck dividiert durch die Quadratwurzel aus der Schallfrequenz (PATTON et al. 1994). Es ist dabei aber zu beachten, dass *in vivo* aufgrund der Schallstrahlgeometrie und der zunehmenden Abschwächung in der Tiefe der tatsächliche lokale Schalldruck im Gewebe stark variiert. Zudem unterscheidet sich die Berechnungsweise bei den verschiedenen Geräteherstellern, so dass die absoluten MI-Werte nur als Anhaltspunkte dienen können und von Gerät zu Gerät nicht direkt vergleichbar sind.

Beim Puls-/Phaseninversionsverfahren, wie es in der vorliegenden Untersuchung verwendet wurde, wird das gesamte Frequenzspektrum zur Bildgebung verwendet. Besonders mit den neuen Kontrastmitteln mit flexibler Hülle (außer dem hier verwendeten Sonovue<sup>®</sup> z. B. auch die – in Europa nicht zugelassenen Kontrastmittel Sonazoid<sup>®</sup>, Definity<sup>®</sup> oder Luminity<sup>®</sup>) kann mit minimalem Schalldruck (mechanischer Index < 0,2) gearbeitet werden, bei welchem die Mikrobläschen für lange Zeit unter Aussendung starker harmonischer Signale oszillieren, ohne zerstört zu werden. Hierdurch wird eine

Darstellung der Mikrozirkulation unter kontinuierlicher Beschallung möglich (real time perfusion imaging).

Es wird das Phasenumkehrprinzip (Phaseninversion) genutzt, um die nichtlinearen und linearen Signalanteile zu trennen. Inversion bedeutet die sequentielle Abgabe von phaseninvertierten Pulsen und die Aufsummierung ihrer beiden Echoanteile, so dass bei linearer Schallausbreitung eine Signalauslöschung, bei nichtlinearer Schallausbreitung eine Frequenzantwort mit entsprechender Amplitude registriert werden kann. Im einfachsten Fall heben sich eine positive Welle und eine negative Welle (mit invertierter Phase) gegeneinander auf, wodurch sich rechnerisch bei linearen Signalen eine Auslöschung ergibt. Lineare Signale kommen somit nicht zur Darstellung. Nichtlineare Signale (die ja auf der Basis einer unterschiedlichen Reaktion der Mikrobläschen auf positive und negative Wellen entstehen) löschen sich dagegen bei dieser Verrechnung nicht aus und werden dargestellt. In Ergänzung zu einer Pulsumkehr können auch weitere mathematische Verrechnungen verwendet werden. Eines dieser sende- und empfangsseitigen Verrechnungsverfahren ist die digitale Kodierung bei der „coded phase inversion“ (CPI), bei der die Pulse einer bestimmten Frequenz kodiert abgegeben werden, um sie u. a. als Echo besser von Störsignalen trennen zu können. Die CPI ist eine geschützte Technologie der Firma General Electric zur Erkennung nichtlinearer harmonischer Kontrastsignale, wie sie im in der vorliegenden Untersuchung verwendeten LOGIQ-7-System implementiert ist<sup>1</sup>.

Mit zunehmendem mechanischem Index wird zwar die harmonische Antwort der Mikrobläschen zunächst bis zu einem bestimmten Grad stärker (intensiveres Kontrastsignal); gleichzeitig erhöht sich die Menge an zerstörten Mikrobläschen, so dass diese Zunahme abgeschwächt und zudem das Signal der platzenden Bläschen als breites Frequenzband mit kurzer, hoher Signalamplitude registriert wird. Zudem ergibt sich mit wachsendem mechanischem Index eine durch Laufzeiteffekte bedingte Zunahme der harmonischen Komponenten aus dem Gewebe, so dass die Diskriminierung zwischen Gewebe- und Bläschensignal schlechter wird. Eine ausgewogene Anpassung des – für verschiedene Geräte unterschiedlichen – mechanischen Index ist deshalb für eine gute Kontrastdarstellung essentiell.

---

<sup>1</sup> <http://www.gehealthcare.com/eude/ultrasound/products/general-imaging/logiq-7/seemore.html>

### 2.2.3 Untersuchungsablauf

Um eine angemessene Untersuchungszeit zu gewährleisten, wurden die Untersuchungen entweder am späten Vor- oder am späten Nachmittag vorgenommen. Typischerweise erfolgte die KM-Sonographie daher relativ einheitlich mindestens 4 Stunden nach der Nahrungsaufnahme bei Frühstück bzw. Mittagessen.

Zu Beginn der Untersuchung wurde ein intravenöser Bolus von 2,4 ml des Ultraschall-Kontrastmittels, gefolgt von einem Bolus von 10 ml isotonischer Kochsalzlösung, mittels einer 21G-Kanüle (0,8 mm Durchmesser) in eine Kubitalvene injiziert. Bei einigen Patienten mit schwierigen Venenverhältnissen wurde die Kanüle unter Ultraschallkontrolle gelegt. Bei Gabe von mehreren Kontrastmittel-Gaben wurde für die Untersuchung der Transitzeiten jeweils nur die erste Applikation ausgewertet.

Bei 2 Patienten erfolgte die Injektion in die *V. subclavia*, bei einem Patienten in eine Handrückenvene. Bei diesen 3 Patienten wurden wegen der veränderten Distanz zum rechten Herzen nur die Differenzen der Detektionszeiten in den verschiedenen Lebergefäßen, nicht aber die Ankunftszeit in der Leberarterie in die Auswertung einbezogen.

Zum Zeitpunkt der Injektion des Kontrastmittel-Bolus wurde eine im Gerät implementierte Stoppuhr aktiviert, und jeweils zu Beginn der Anreicherung in den 3 Lebergefäßen wurde die bis dahin verstrichene Zeit protokolliert; diese wird links unten im Bild in Form einer laufenden Digitaluhr angezeigt (s. Abbildung 4, Seite 18). Da alle „cine loops“ als Roh-Daten abgespeichert wurden, konnte diese Analyse später beliebig oft wiederholt werden.

Da der für die KM-Untersuchung erforderliche niedrige Schalldruck auf eine Verstärkung und exakte Positionierung der Fokuszone angewiesen ist, ist dieser Parameter auch bei einem gegebenen Schalldruck variabel. Der Fokuspunkt wurde in der Tiefe gesetzt, in der sich die Leberpforte als „Region of Interest“ (ROI) befand.

Abbildung 2 zeigt die Veränderungen des mechanischen Index (MI) in Abhängigkeit von der fokalen Position. Der akustische Output variierte zwischen 9 und 12 % (im Mittel  $0,09 \pm 0,01$  im Fokuspunkt); bei den Patienten mit Lebermetastasen wurde er mit durchschnittlich  $0,12 \pm 0,13$  etwas höher gewählt, um Läsionen im gesamten Schallfenster gut darstellen zu können. Auch bei einem akustischen Output von 14 % wurde ein MI von 0,2 in keiner Tiefe überschritten.

Der akustische Output wurde den individuellen Untersuchungsverhältnissen bei den einzelnen Patienten angepasst; der o. g. höhere Wert bei den Patienten mit Lebermetastasen resultierte aus den schwierigeren Darstellungsverhältnissen in dieser Gruppe.

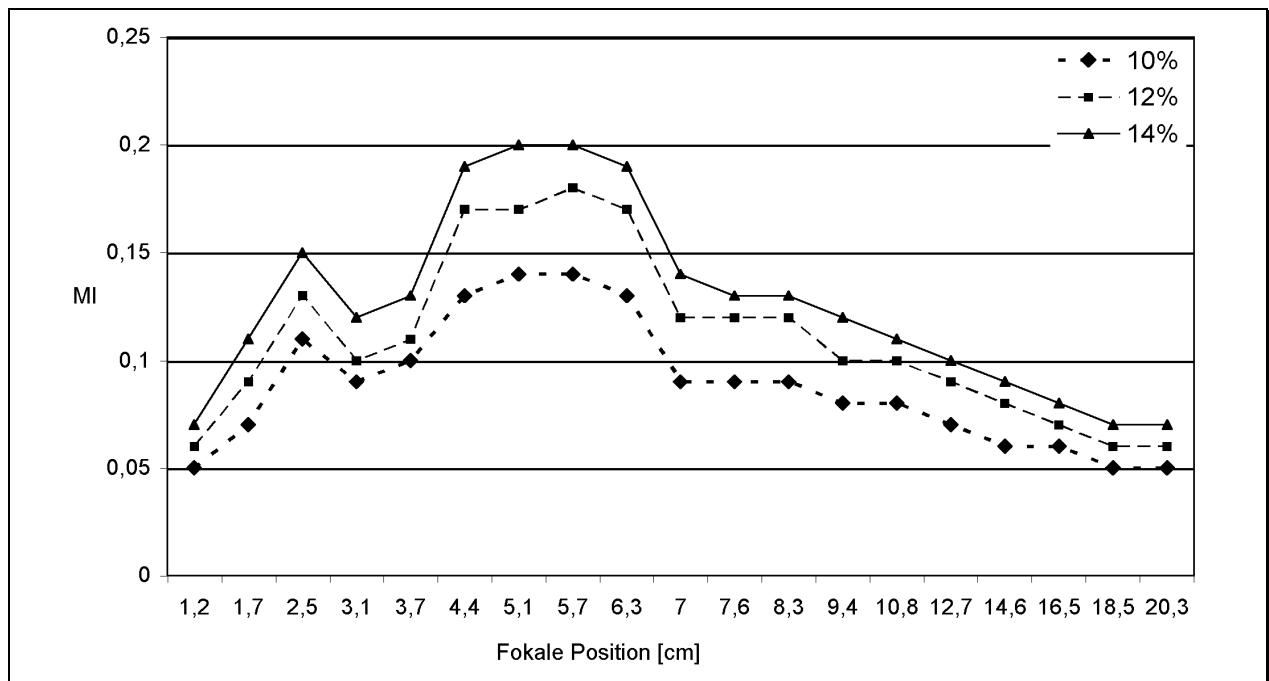


Abbildung 2: Angabe des mechanischen Index (MI) in Abhängigkeit von der Tiefe des Fokuspunkts für einen akustischen Output von 10, 12 bzw. 14 %

Nach der Optimierung der Parameter wurde der Schallkopf in den Phaseninversionsmodus umgeschaltet, wodurch das B-Mode-Hintergrundbild weitestgehend unterdrückt wird, und das B-Bild ohne Grauwertinformationen sich schwarz darstellt. Hierdurch können bereits sehr geringe Mengen des anflutenden Kontrastmittels als deutliches Signal wahrgenommen werden.

Je nach Bildgröße und –auflösung betrug die Bildrate zwischen 11 und 15 fps (frames per seconds), die ins Bild eingebettete Digitaluhr war an die frame rate gekoppelt und lief in Ein-Sekunden-Schritten. Da die Untersuchung zur diagnostischen Abklärung fokaler oder diffuser Leberprozesse durchgeführt wurde, wurden die Geräteeinstellungen nach den individuellen akustischen Gegebenheiten optimiert, und die Lebergefäße wurden dargestellt; die Bestimmung der Transitzeiten konnte damit ohne zusätzlichen zeitlichen oder apparativen Aufwand im Rahmen der KM-Untersuchung vorgenommen werden.

Die Scanebene wurde entsprechend der frühen Veränderungen der KM-Verteilung in der ROI gelegt, oder es wurde die frühe Verteilung des Kontrastmittels in einem großen Bereich des rechten Leberlappens erfasst. Nach dem kompletten Enhancement des Lebergewebes wurde mit einem „Sweep“ nach weiteren fokalen Veränderungen gesucht; zu diesem Zeitpunkt begann in den meisten Fällen die Anreicherung des Kontrastmittels in der Lebervene.

#### 2.2.4 Auswertung

Zur Auswertung wurden nur solche „cine loops“ herangezogen, bei denen die Gefäße wenigstens 2 cm Abstand zu einer eventuell vorhandenen fokalen Läsion hatten und kein direkter Abfluss in eine der drei Lebervenen erkennbar war. Bei Patienten mit Leberzirrhose wurde zuvor mittels farbkodierter Dopplersonographie eine relevante Stenosierung der Gefäße ausgeschlossen. Die Ankunftszeit im jeweiligen Gefäß wurde definiert als derjenige Zeitpunkt, zu dem die Ankunft der ersten Kontrastmittelbläschen in den jeweiligen Hauptästen detektiert wurde; kleinere, periphere Äste wurden nicht berücksichtigt.

Aufgrund eines Reflux in die zentralen Lebervenenäste während der Vorhofsystole (A-Welle) fand sich in den letzten 3-4 cm der Lebervene vor Einmündung in die *V. cava* meist ein frühes, stark ausgeprägtes Enhancement durch Bläschen, die – wie in der Doppler-Spektralanalyse - retro- und antegrad fließen; deshalb wurde zur Auswertung ein weiter zentral gelegenes Segment der *V. hepatica* herangezogen (Abbildung 3).

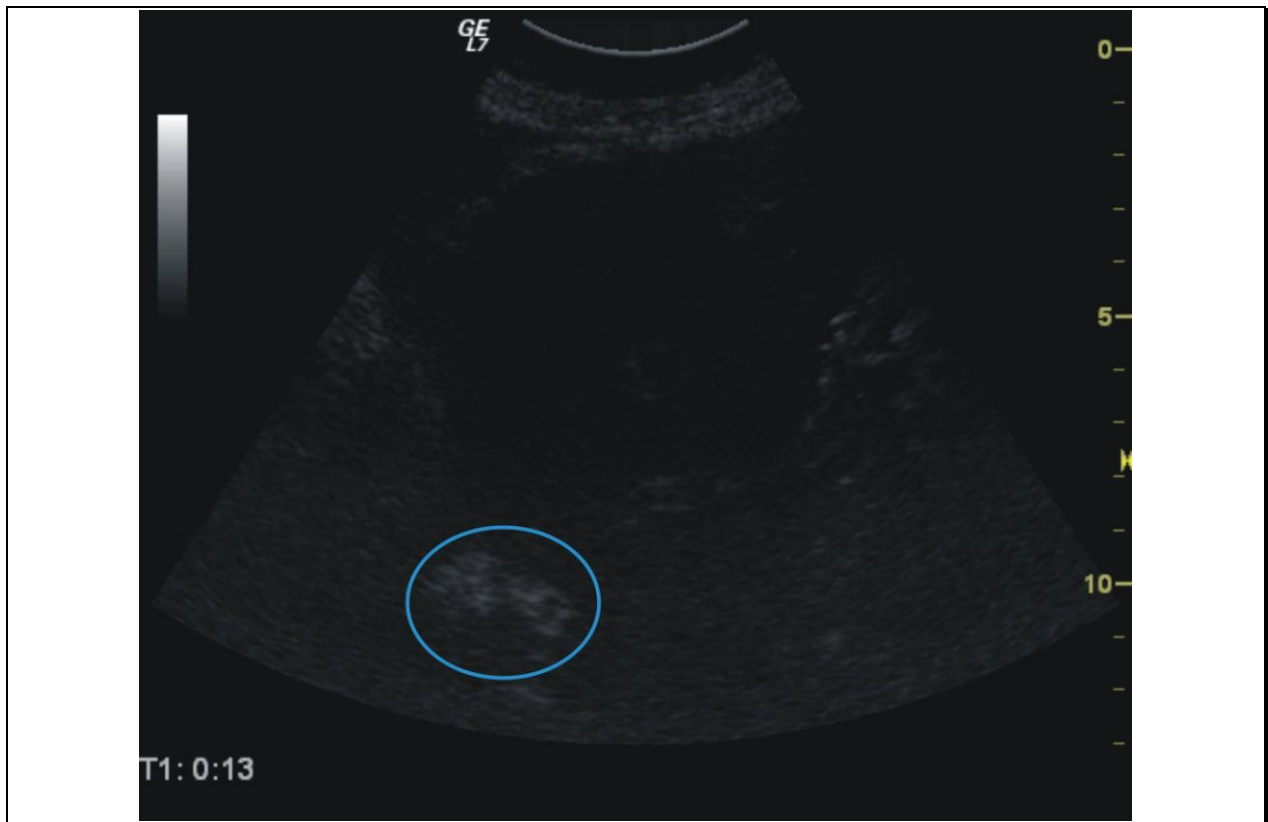


Abbildung 3: Enhancement in der Nähe der *V. cava* (Kreis)

Die Loops konnten bei Bedarf auch mit beliebig langsamer Geschwindigkeit abgespielt werden. Die Ankunftszeit in Leberarterie, Portal- und Lebervene wurde von der Digitaluhr auf dem Bildschirm abgelesen und protokolliert; in Zweifelsfällen wurde das Ergebnis durch Zurückfahren der Loops und erneute Begutachtung – ggf. im „Frame by Frame“- (Bild nach Bild-) Modus der als Rohdaten gespeicherten Einzelbilder – abgesichert. Da alle Loops in digitalem Format als Rohdaten abgespeichert wurden, konnte diese Analyse beliebig oft wiederholt werden. Neben den Ankunftszeiten im jeweiligen Gefäß wurden die Differenzen zwischen der Ankunft des Kontrastmittels in den zu- und abführenden Lebergefäßen als Transitzeiten berechnet.

Abbildung 4 (a und b) zeigt anhand von Standbildern den Beginn der Kontrastmittelanreicherung in der Leberarterie (4a - oben), Pfortader (4a - unten) und Lebervene (b), jeweils mit eingblendeter Zeit, bei einem gesunden Patienten.

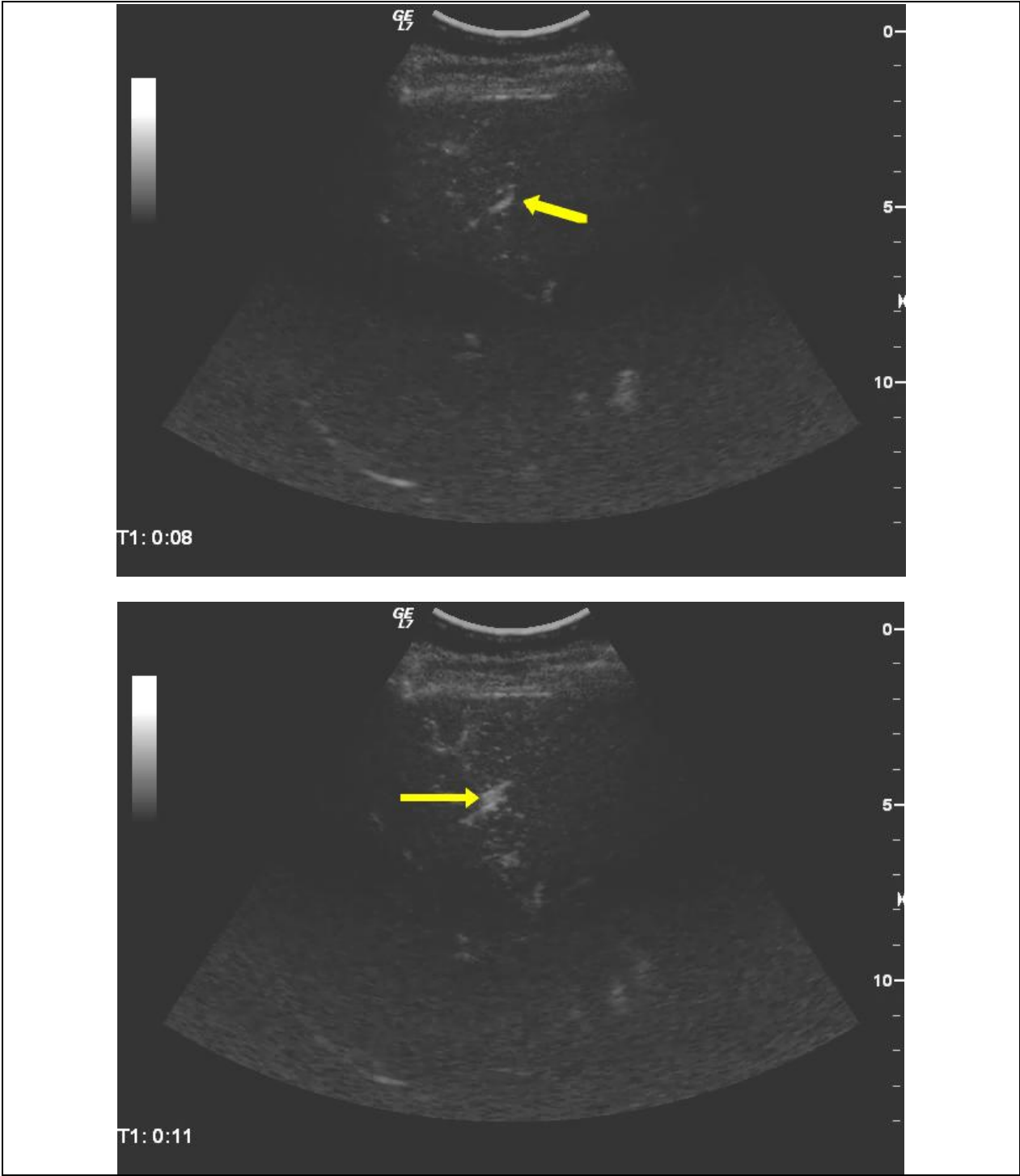


Abbildung 4a: Früheste Detektion von Kontrastmittelbläschen in der Leberarterie (oben, nach 8 Sekunden) bzw. der Pfortader (unten, nach 11 Sekunden) bei einem Gesunden

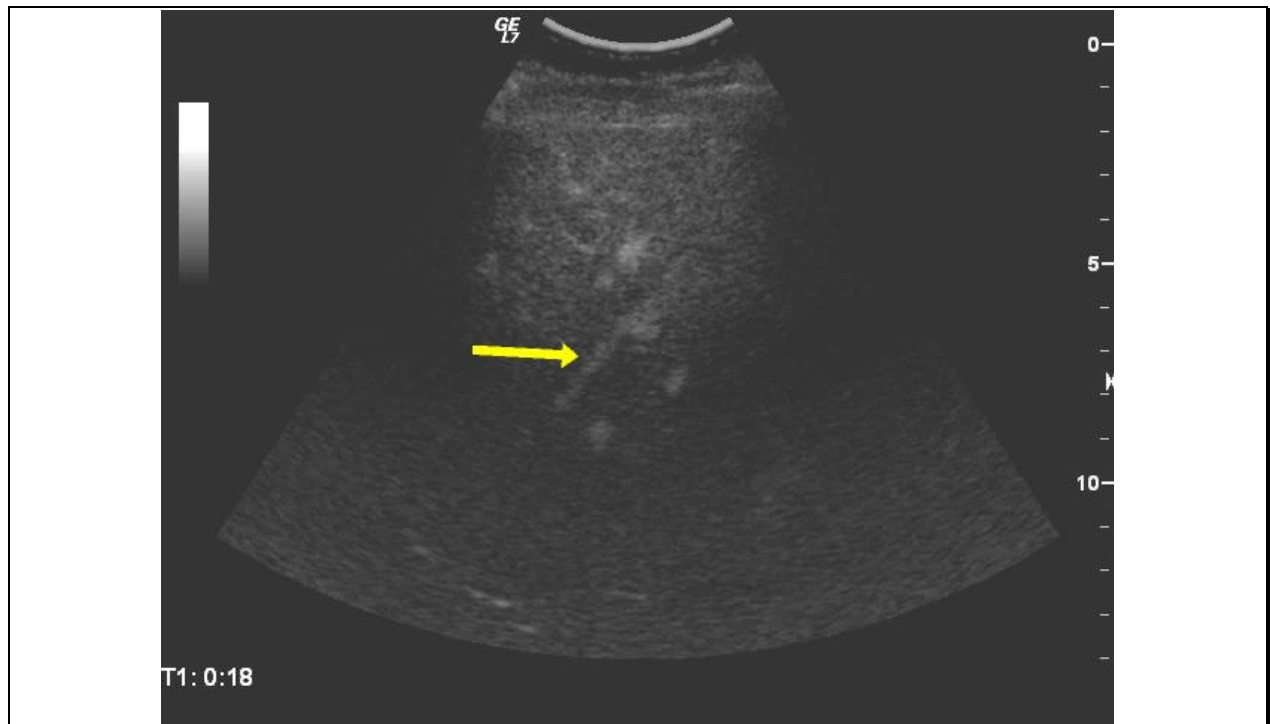


Abbildung 4b: Früheste Detektion von Kontrastmittelbläschen in der Lebervene (nach 18 Sekunden) bei einem Gesunden

### 2.3 Statistische Auswertung

Aus den einleitenden Ausführungen ergeben sich für die statistische Auswertung folgende Aufgabenstellungen:

- Deskriptive Darstellung der Daten für alle Variablen für die Gesamtgruppe;
- deskriptive Darstellung der Daten für alle Variablen für die einzelnen Indikationen;
- prüfstatistische Bewertung eventueller Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen auf Signifikanz;
- Prüfung auf einen möglichen Einfluss des Alters als Kovariable.



Alle Auswertungen wurden mit dem Programmpaket StatView 4.5<sup>2</sup> durchgeführt. Für intervallskalierte und rangskalierte Variablen (im Folgenden als „stetige“ Variablen bezeichnet) werden als Kennwerte Mittelwert, Median, Standardabweichung, Minimum und Maximum berechnet. Für diskrete Variablen wird die Anzahl der Werte in jeder Kategorie und deren Anteil an der Gesamtzahl (in Prozent) angegeben.

Alle in der Aufgabenstellung genannten Untersuchungen beziehen sich auf die Ermittlung von Zusammenhängen oder Unterschieden zwischen Stichproben der Daten, wobei in der vorliegenden Arbeit nur „unabhängige“ Stichproben (d. h. Stichproben, denen unterschiedliche Fälle zugrunde liegen), vorkommen. Neben den Zahlenwerten der Transitzeiten in den einzelnen Gruppen sollen dabei auch Aussagen zur Übertragbarkeit der Ergebnisse auf andere Patienten mit den gleichen Voraussetzungen (die „Grundgesamtheit“) getroffen werden, d. h. es soll festgestellt werden, ob ein Unterschied zwischen den Gruppen tatsächlich existiert oder ob die Differenzen auf zufällige Abweichungen von einem in beiden Stichproben in Wirklichkeit gleichen Mittelwert zurückzuführen sein können (d. h. die Nullhypothese akzeptiert werden muss).

Die für einen Test aufgestellte Nullhypothese wird üblicherweise abgelehnt, wenn  $p$  kleiner als 0,05 (=5 %) ist. Ein Testergebnis wird dann als signifikant bezeichnet. Der Zusammenhang oder Unterschied kann in diesem Fall nicht nur für die untersuchten Stichproben, sondern auch für die Grundgesamtheit angenommen werden.

Da aufgrund der inhomogenen Zusammensetzung des Patientenkollektivs eine Normalverteilung nicht unterstellt werden konnte, wurden – wo möglich – nicht parametrische Testverfahren eingesetzt. Im Einzelnen kamen in der vorliegenden Untersuchung folgende Tests zur Anwendung:

- Zur Prüfung des Einflusses der Diagnose auf die Transitzeit wurde der Kruskal-Wallis-Test verwendet.
- Als post hoc-Test für Paardifferenzen kam der Bonferroni-Dunn-Test zur Anwendung; in diesem Test wird eine Paardifferenz nur dann als signifikant bewertet, wenn  $p$  kleiner als 0,0033 ist.
- Der Zusammenhang zwischen den Transitzeiten und dem Alter wurde mit der linearen Regression geprüft. Diese liefert neben dem  $p$ -Wert auch das Zusammenhangsmaß  $R^2$ , das sich anschaulich als der Anteil der durch den Regressor erklärten Varianz des Regressanden beschreiben lässt.

---

<sup>2</sup> Firma SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA

---

Die graphische Darstellung der Gruppenvergleiche erfolgte mit Box&Whisker-Plots. Die einzelnen Elemente dieser Darstellung haben folgende Bedeutung:

- Unterer Whisker: 10er Perzentil
- Box: 25er bis 75er Perzentil
- Querstrich: Median
- Oberer Whisker: 90er Perzentil
- Kreise: Werte unterhalb des 10er bzw. oberhalb des 90er Perzentils

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Inter-Rater-Übereinstimmung

Alle Loops wurden unabhängig und gegeneinander verblindet von 2 erfahrenen Untersuchern beurteilt; anschließend einigten sich beide Untersucher auf eine Zeit in ganzen Sekundenschritten. Durch die „Frame by Frame“-Beurteilung war der Unterschied zwischen den Untersuchern sehr gering, es traten kaum Diskrepanzen auf. Auf eine statistische Auswertung der Inter-Rater-Übereinstimmung wurde verzichtet, da bei dieser Vorgehensweise das Cohen's k definitionsgemäß immer bei 1 gelegen hätte.

#### 3.2 Stichprobenbeschreibung

Insgesamt lag das Alter der Patienten zwischen 18 und 88 Jahren (Mittelwert  $53,5 \pm 15,9$ ; Median 54 Jahre). Es zeigten sich diesbezüglich erhebliche und signifikante Unterschiede in Abhängigkeit von der Diagnose ( $p < 0,0001$ ): Die Patienten mit fokalnodulärer Hyperplasie (meist junge Frauen) und die Kontrollprobanden waren deutlich jünger als (die Patienten mit FNH nur etwa halb so alt wie) die Patienten der anderen Gruppen (Abbildung 5, Tabelle 2).

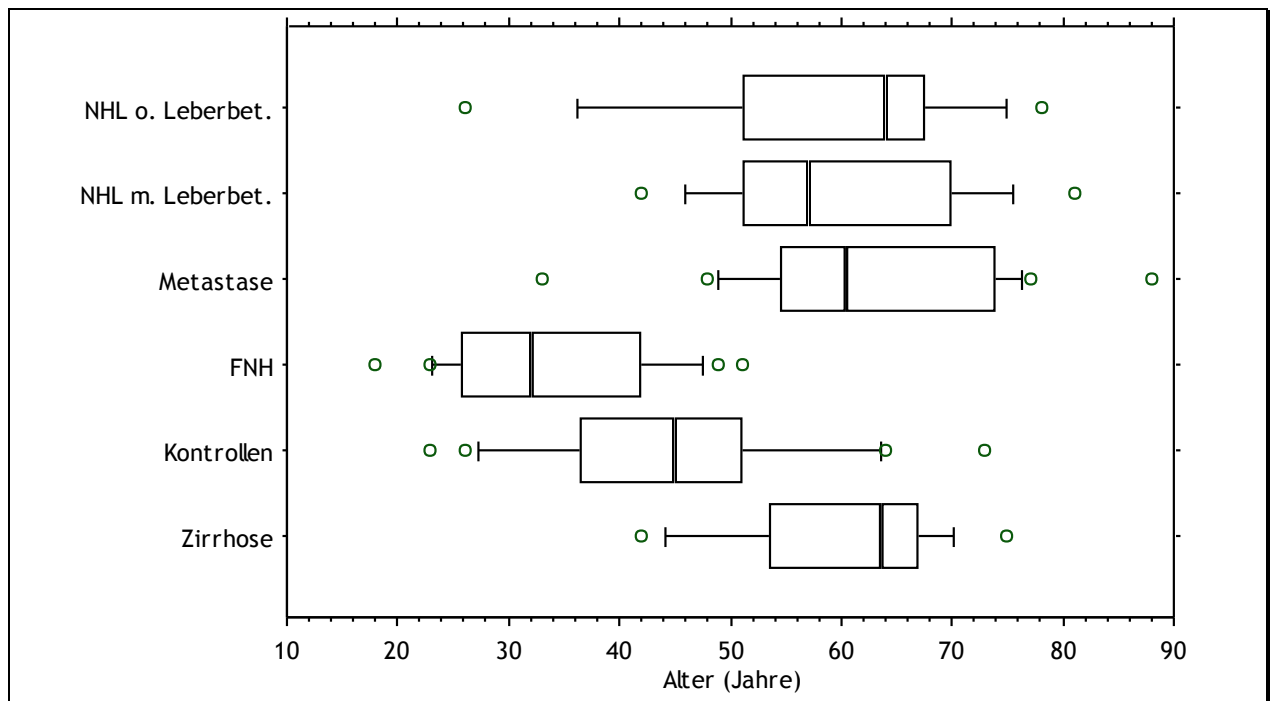


Abbildung 5: Alter der Patienten in Abhängigkeit von der Diagnose. Zur Legende s. Seite 21

Tabelle 2: Ergebnis der Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede bezüglich des Alters der Patienten

|                  | Zirrhose          | Kontrollen        | FNH               | Metastase | NHL m. Leberbet. |
|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------|------------------|
| Zirrhose         |                   |                   |                   |           |                  |
| Kontrollen       | <b>0,0013</b>     |                   |                   |           |                  |
| FNH              | <b>&lt;0,0001</b> | <b>0,0032</b>     |                   |           |                  |
| Metastase        | 0,6000            | <b>&lt;0,0001</b> | <b>&lt;0,0001</b> |           |                  |
| NHL m. Leberbet. | 0,9149            | <b>0,0033</b>     | <b>&lt;0,0001</b> | 0,5375    |                  |
| NHL o. Leberbet. | 0,8591            | <b>0,0031</b>     | <b>&lt;0,0001</b> | 0,4720    | 0,9487           |

Die signifikanten Paardifferenzen im Bonferroni-Dunn-Test sind **fett** unterlegt.

Die Messwerte aus der Sonographie sind im Anhang für die Gesamtgruppe sowie aufgeteilt nach Diagnosen tabellarisch dargestellt (Kapitel 7.2, Seite 74ff). Gemittelt über alle Patienten der unterschiedlichen Diagnosegruppen wurde das Kontrastmittel nach etwa 8 Sekunden (Mittelwert) in der Leberarterie, nach 12 Sekunden in der Pfortader und nach 17 Sekunden in der Lebervene detektiert. Die Zeit zwischen dem Auftauchen in der Leberarterie und der Pfortader sowie Pfortader und Lebervene betrug jeweils 4 Sekunden, zwischen Leberarterie und –vene damit 8 Sekunden (Abbildung 6).

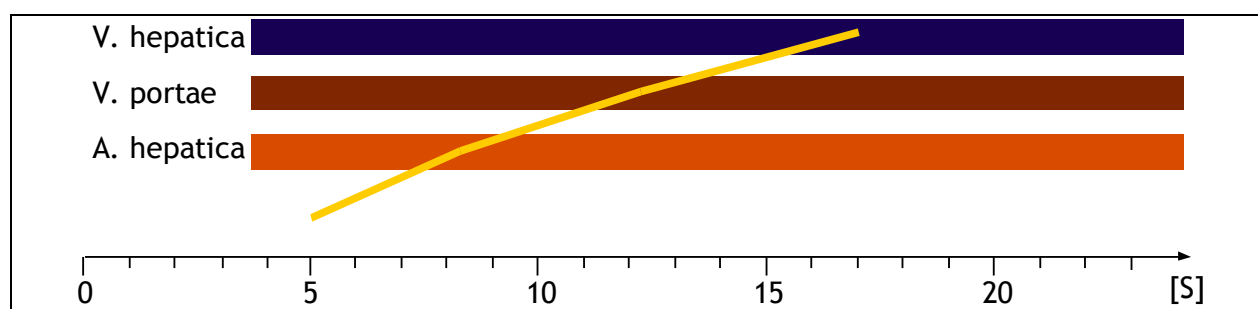


Abbildung 6: Schematisches Weg-Zeit-Diagramm der Kontrastmittel-Transitzeiten, Mittelwerte aller Patienten

In den folgenden Abbildungen sind jeweils Standbilder zum Zeitpunkt des frühesten Nachweises von Kontrastmittelbläschen in den Lebergefäßen bei den verschiedenen Diagnosen (Metastase [Abbildung 7], FNH [Abbildung 8], Zirrhose [Abbildung 9]) dargestellt.

Bei dem Patienten mit Lebermetastasen wird das Kontrastmittel erst nach 15 Sekunden (im Mittel 7 Sekunden später als im Normalkollektiv, s. Abbildung 4) in der Leberarterie sichtbar; dieser Abstand bleibt beim Auftauchen in der Pfortader (nach 18 vs. 11 Sekunden) exakt erhalten. In der Lebervene dagegen kommt das Kontrastmittel lediglich 4 Sekunden später als beim Gesunden zur Darstellung, d. h. die Transitzeit durch das Parenchym ist verkürzt (Abbildung 7a, b).

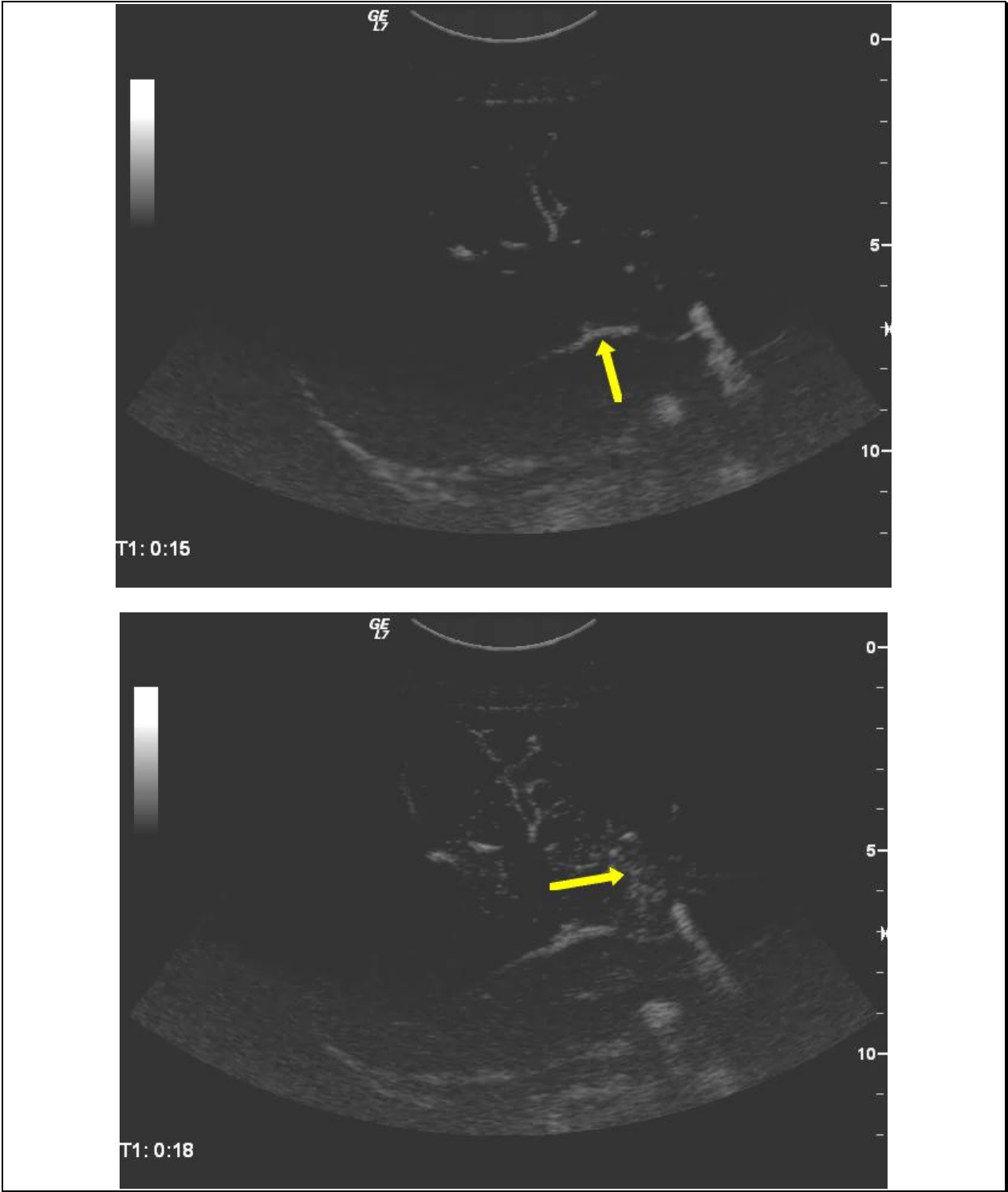


Abbildung 7a: Früheste Detektion von Kontrastmittelbläschen in der Leberarterie (oben, nach 15 Sekunden) bzw. der Pfortader (unten, nach 18 Sekunden) bei einem Patienten mit Lebermetastase

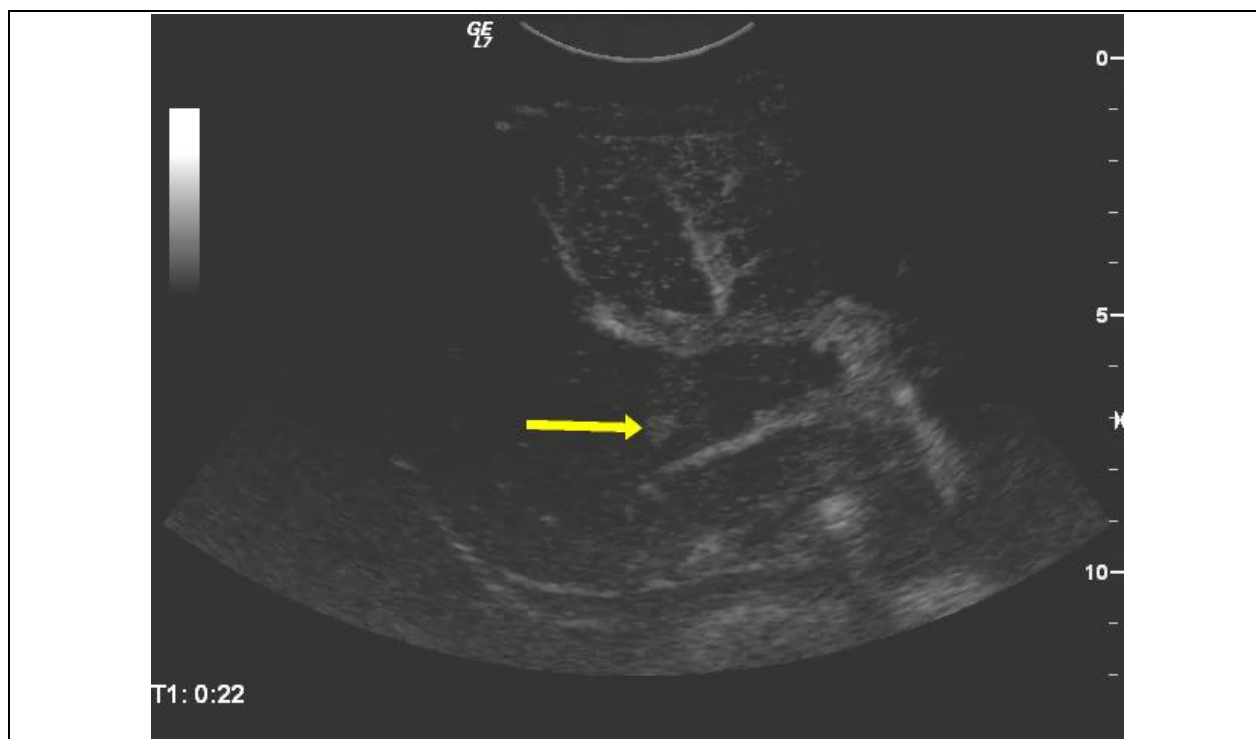


Abbildung 7b: Früheste Detektion von Kontrastmittelbläschen in der Lebervene (nach 22 Sekunden) bei einem Patienten mit Lebermetastase

Bei dem Patienten mit einer FNH wurde das Kontrastmittel in der Leberarterie zeitgleich, in der Pfortader eine und in der Lebervene 5 Sekunden früher gesehen als beim Gesunden; auch hier war damit eine deutliche Beschleunigung der Passage gegeben (Abbildung 8).

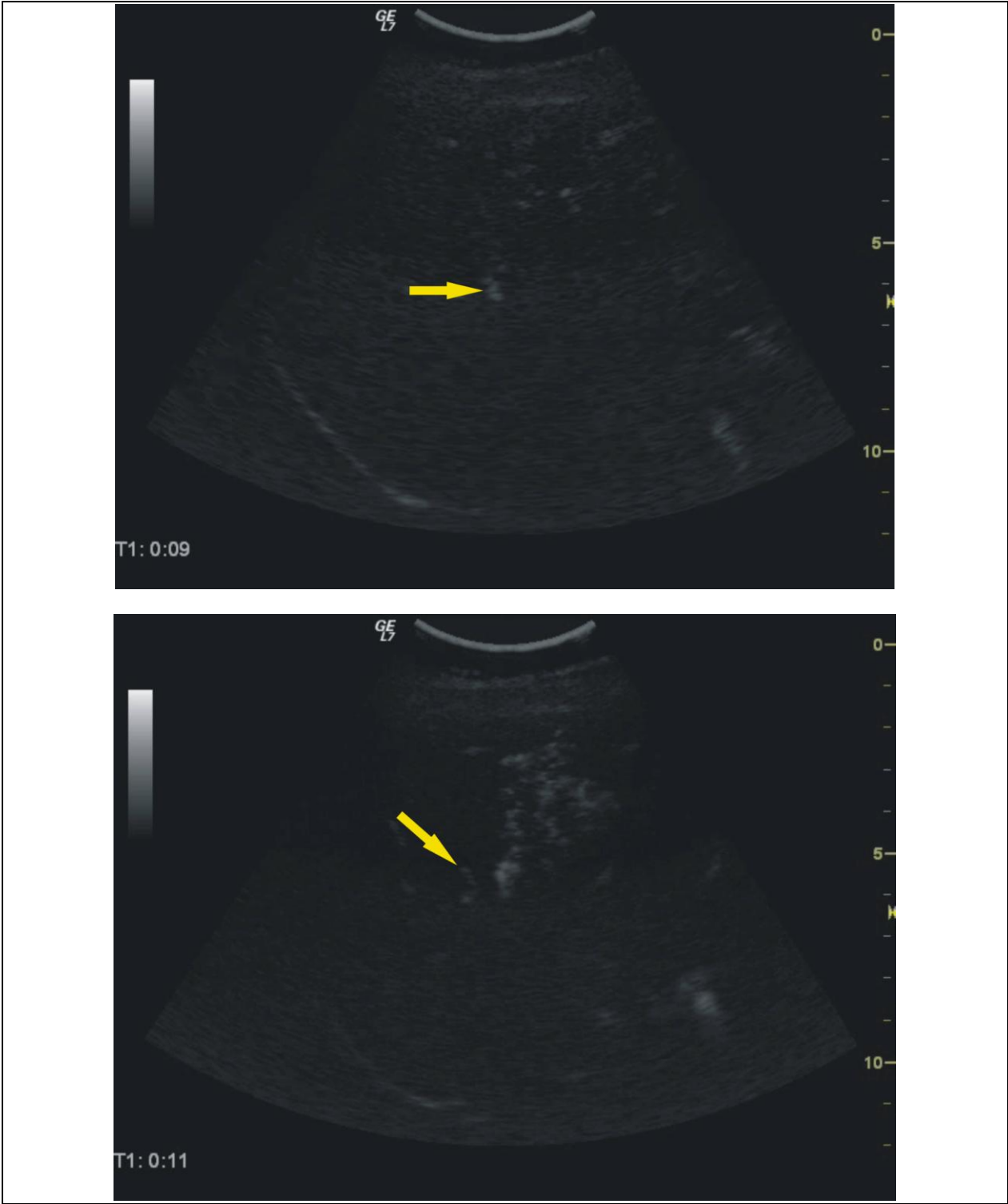


Abbildung 8a: Früheste Detektion von Kontrastmittelbläschen in der Leberarterie (oben, nach 9 Sekunden) bzw. der Pfortader (unten, nach 11 Sekunden) bei einem Patienten mit FNH



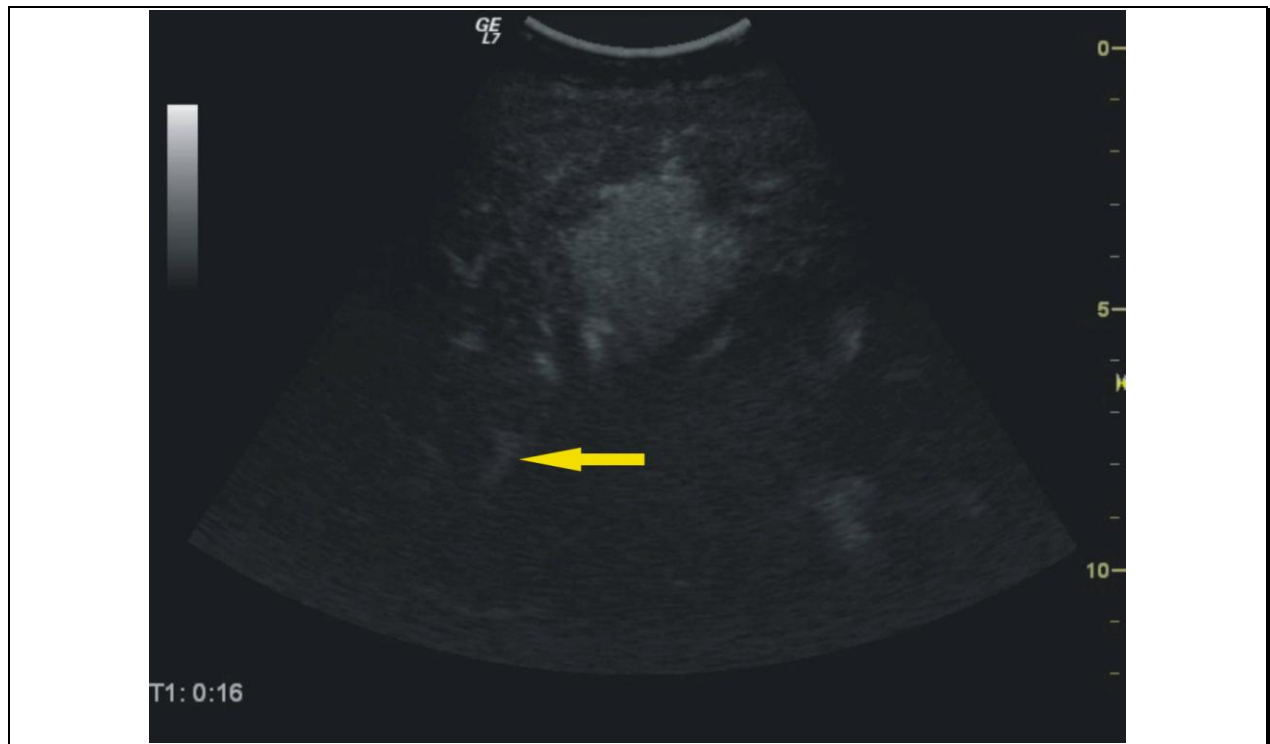


Abbildung 8b: Früheste Detektion von Kontrastmittelbläschen in der Lebervene (nach 16 Sekunden) bei einem Patienten mit FNH

Bei dem in Abbildung 9a und b dargestellten Kontrastmittelsonogramm des Patienten mit Leberzirrhose ist das Auftauchen des Kontrastmittels in der Pfortader (nach 17 Sekunden vs. 11 Sekunden beim Gesunden) stark verzögert, praktisch zeitgleich kommt das Kontrastmittel dann aber bereits in der Lebervene zur Darstellung.

Bei dem in Abbildung 9c abgebildeten Kontrastmittelsonogramm einer Patientin mit Leberzirrhose zeigt sich das Kontrastmittel in der Pfortader sogar erst 6 Sekunden nachdem es bereits in der Lebervene detektiert werden konnte.

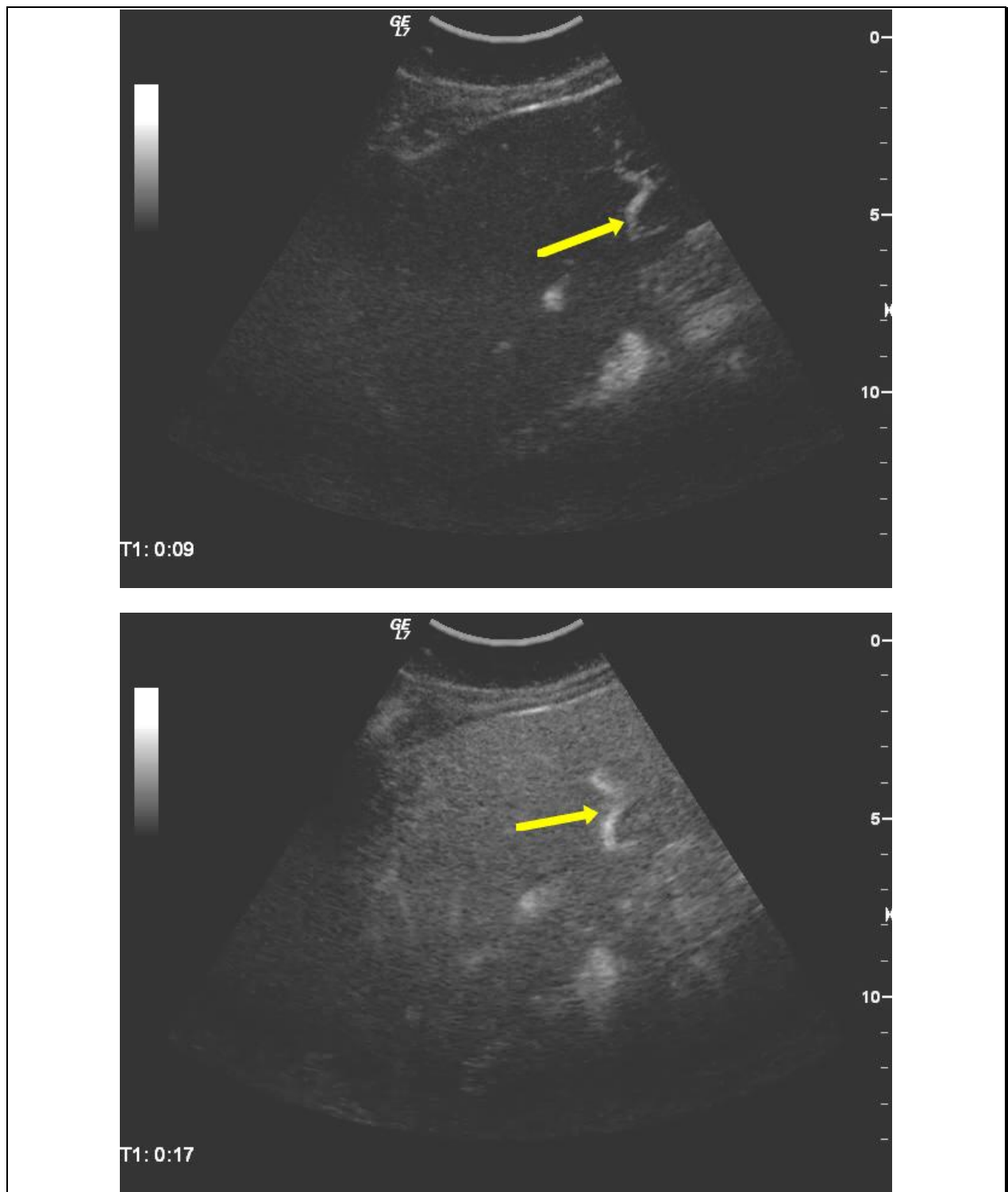


Abbildung 9a: Früheste Detektion von Kontrastmittelbläschen in der Leberarterie (oben, nach 9 Sekunden) bzw. der Pfortader (unten, nach 17 Sekunden) bei einem Patienten mit Leberzirrhose

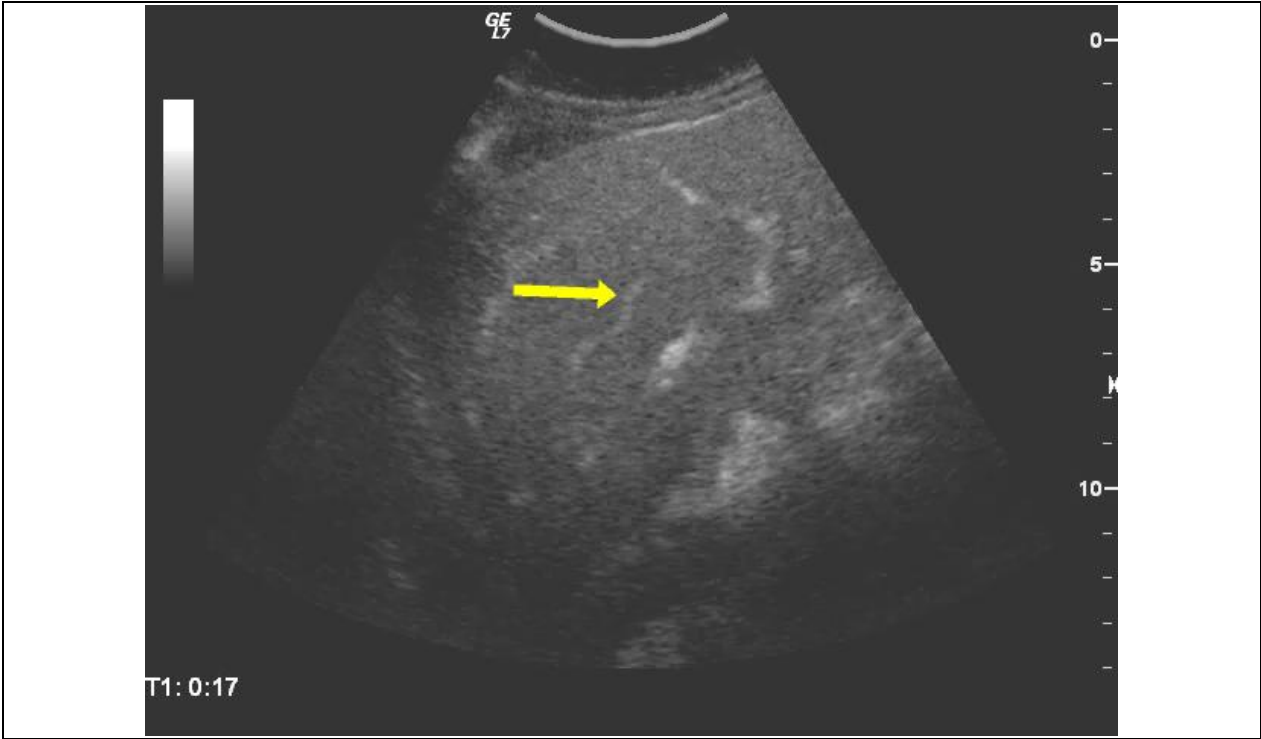


Abbildung 9b: Früheste Detektion von Kontrastmittelbläschen in der Lebervene nach 17 Sekunden praktisch zeitgleich bei einer Patientin mit Leberzirrhose

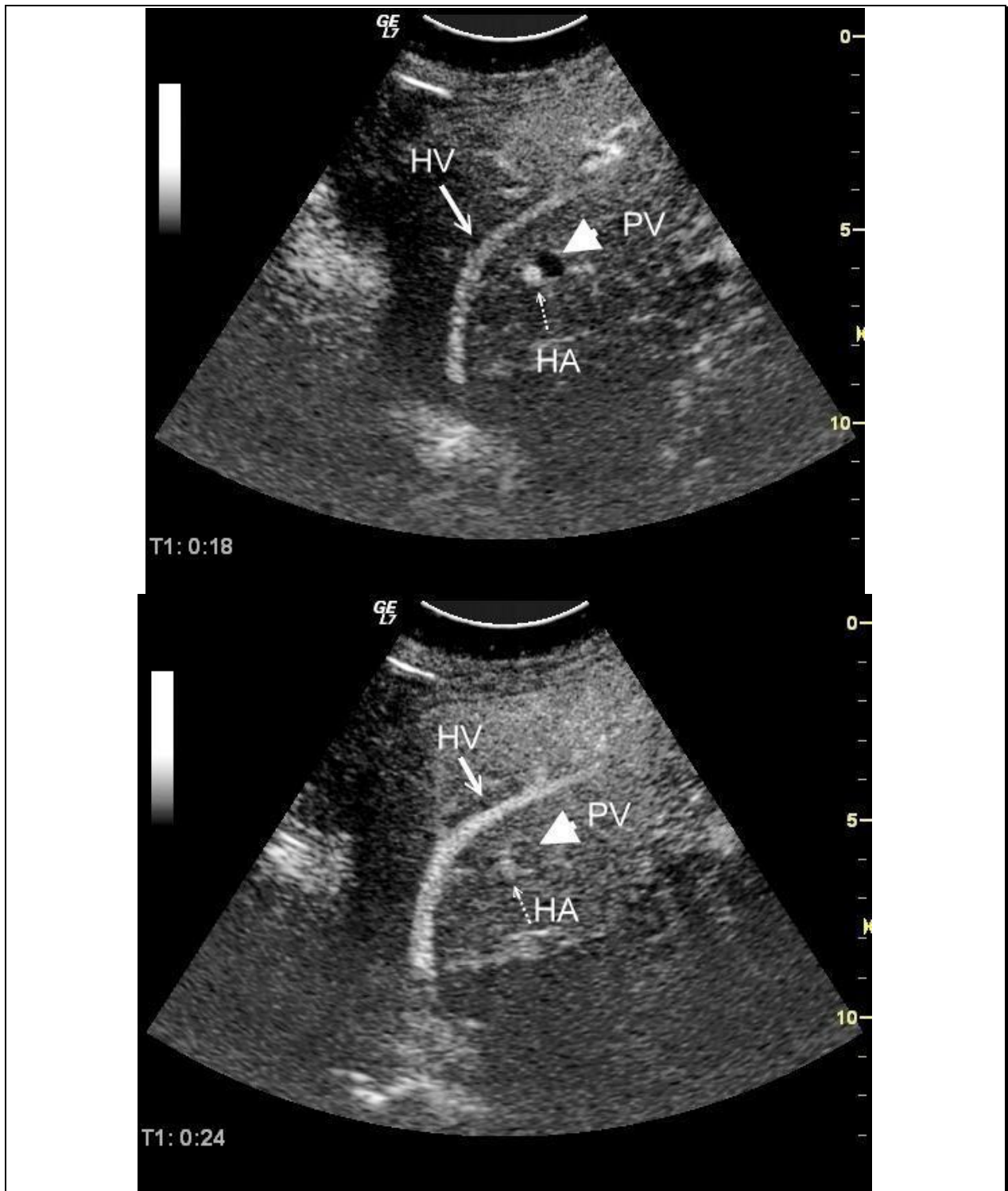


Abbildung 9c: Detektion von Kontrastmittelbläschen in der Lebervene (oben) 6 Sekunden vor Detektion in der Pfortader (unten) bei einer Patientin mit Leberzirrhose

Ein statistisch signifikanter – oder im Sinne eines Trends schlüssiger – Zusammenhang der Transitzeit mit dem Stadium der Leberzirrhose fand sich nicht (Tabelle 3).

Tabelle 3: Transitzeit zwischen Portal- und Lebervene bei Patienten mit Leberzirrhose in Abhängigkeit vom Child-PUGH-Stadium (n. signifikant)

|         | Median | Mittelwert | Standard-<br>abwei-<br>chung | Minimum | Maximum |
|---------|--------|------------|------------------------------|---------|---------|
| Child A | 2,5    | 1,0        | 5,0                          | -6      | 5       |
| Child B | 1,5    | 1,8        | 1,7                          | 0       | 4       |
| Child C | -2,5   | -2,5       | 3,5                          | -5      | 0       |

### 3.3 Gruppenvergleiche

#### 3.3.1 Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie

Bezüglich der Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie gibt es keine systematischen Unterschiede, obwohl der Gruppenunterschied insgesamt mit  $p=0,0263$  knapp signifikant ist. Am schnellsten wurde das Kontrastmittel bei FNH gesehen (im Mittel nach  $7,2\pm 1,9$  Sekunden), als letztes nach  $10,0\pm 2,9$  Sekunden bei Zirrhose (Abbildung 10).

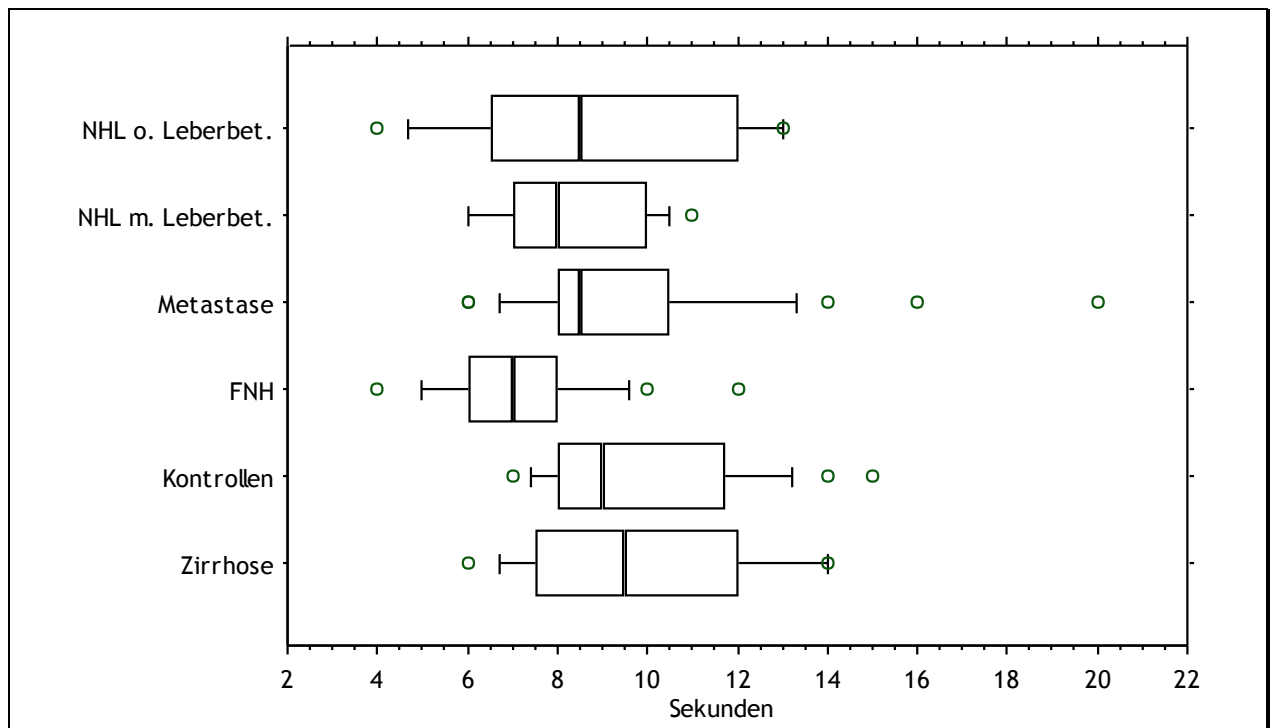


Abbildung 10: Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie in Abhängigkeit von der Diagnose. Zur Legende s. Seite 21

Keiner der Paarvergleiche zwischen Kontrollen und Patienten mit Pathologie oder der Diagnosen untereinander war bezüglich der Ankunftszeit des Kontrastmittels in der Leberarterie signifikant (Tabelle 4).

Tabelle 4: Ergebnis der Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede bezüglich der Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie

|                  | Zirrhose | Kontrollen | FNH    | Metastase | NHL m. Leberbet. |
|------------------|----------|------------|--------|-----------|------------------|
| Zirrhose         |          |            |        |           |                  |
| Kontrollen       | 0,8116   |            |        |           |                  |
| FNH              | 0,0083   | 0,0065     |        |           |                  |
| Metastase        | 0,6417   | 0,8099     | 0,0052 |           |                  |
| NHL m. Leberbet. | 0,1317   | 0,1530     | 0,3610 | 0,1768    |                  |
| NHL o. Leberbet. | 0,3967   | 0,4834     | 0,0791 | 0,5767    | 0,4804           |

Keine signifikante Paardifferenz (Bonferroni-Dunn-Test)

### 3.3.2 Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader

In der Portalvene taucht das KM bei Patienten mit FNH am schnellsten auf (nach durchschnittlich  $10,4 \pm 2,7$  Sekunden), bei Zirrhose ca. 6 Sekunden später als letztes (Abbildung 11;  $p=0,0017$ ).

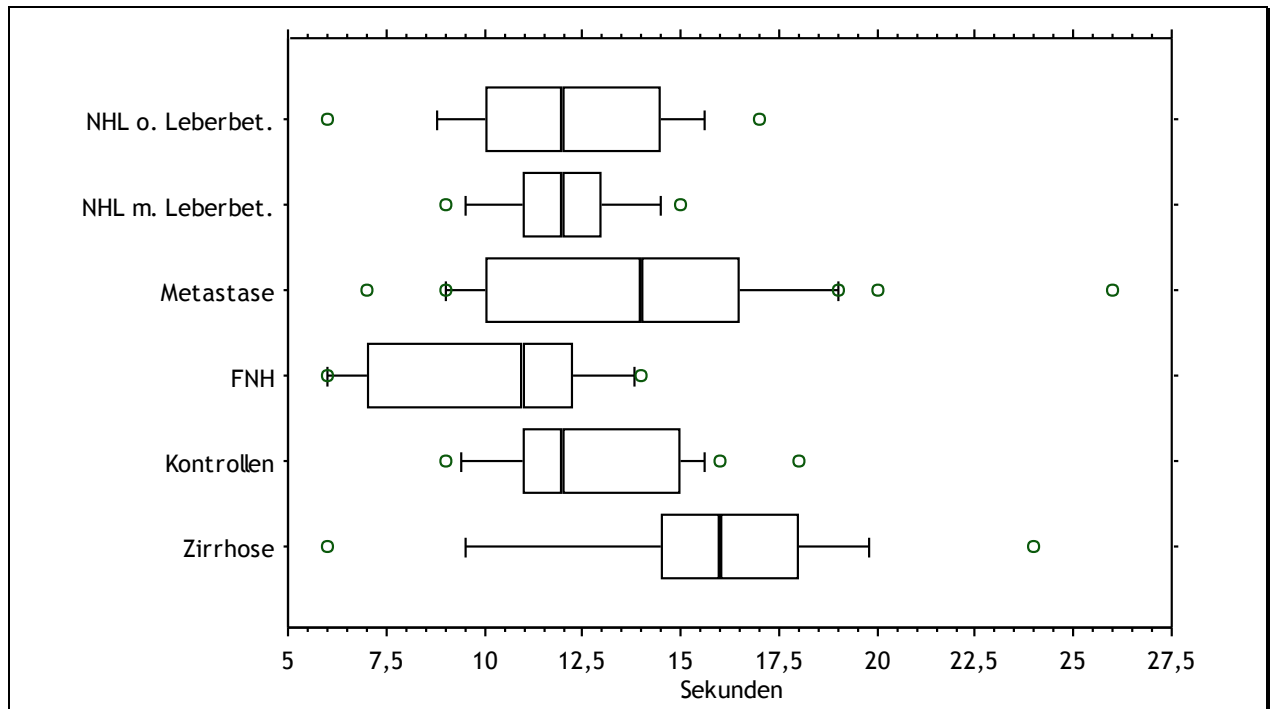


Abbildung 11: Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader in Abhängigkeit von der Diagnose. Zur Legende s. Seite 21

Der post hoc-Test zeigt, dass die Unterschiede der FNH-Patienten gegenüber Zirrhose und Metastasenleber signifikant sind; die Kontrollen dagegen unterscheiden sich von keiner der Patientengruppen in verwertbarer Weise (Tabelle 5).

Tabelle 5: Ergebnis der Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede bezüglich der Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader

|                  | Zirrhose          | Kontrollen | FNH           | Metastase | NHL m. Leberbet. |
|------------------|-------------------|------------|---------------|-----------|------------------|
| Zirrhose         |                   |            |               |           |                  |
| Kontrollen       | 0,0120            |            |               |           |                  |
| FNH              | <b>&lt;0,0001</b> | 0,0371     |               |           |                  |
| Metastase        | 0,1332            | 0,1393     | <b>0,0003</b> |           |                  |
| NHL m. Leberbet. | 0,0098            | 0,6397     | 0,1933        | 0,0927    |                  |
| NHL o. Leberbet. | 0,0099            | 0,7256     | 0,1300        | 0,1004    | 0,9004           |

Die signifikanten Paardifferenzen im Bonferroni-Dunn-Test sind **fett** unterlegt.

### 3.3.3 Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Lebervene

Die Zeit bis zum Auftauchen in der Lebervene ist bei den Kontrollen hochsignifikant länger als bei allen Patientengruppen (Gesamt  $p < 0,0001$ ); diese unterscheiden sich voneinander nicht. Werte von weniger als 16 Sekunden finden sich bei keinem der Kontrollprobanden, der Mittelwert liegt hier bei  $21,8 \pm 2,6$  Sekunden. Am schnellsten wird das Kontrastmittel bei Patienten mit NHL mit Leberbeteiligung detektiert ( $14,1 \pm 2,1$  Sekunden); in dieser Gruppe beträgt das Maximum lediglich 17 Sekunden, weist also mit den Kontrollen kaum eine Überlappung auf (Abbildung 12).

Im Paarvergleich ist der Unterschied der Kontrollen einerseits mit allen Diagnosen andererseits hochsignifikant, die einzelnen Diagnosen weisen nur in einem Fall (Metastasen gegenüber NHL mit Leberbeteiligung) einen statistisch signifikanten Unterschied auf (Tabelle 6).



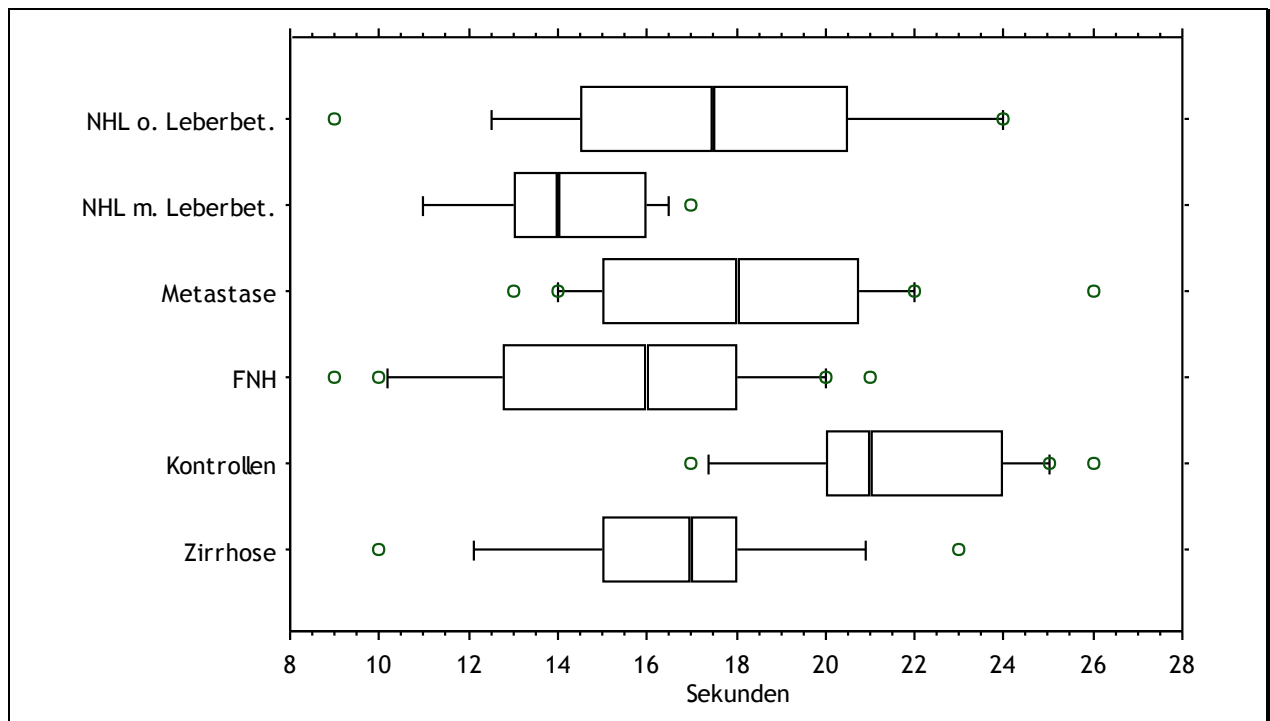


Abbildung 12: Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Lebervene in Abhängigkeit von der Diagnose. Zur Legende s. Seite 21

Tabelle 6: Ergebnis der Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede bezüglich der Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader

|                  | Zirrhose          | Kontrollen        | FNH    | Metastase     | NHL m. Leberbet. |
|------------------|-------------------|-------------------|--------|---------------|------------------|
| Zirrhose         |                   |                   |        |               |                  |
| Kontrollen       | <b>&lt;0,0001</b> |                   |        |               |                  |
| FNH              | 0,3256            | <b>&lt;0,0001</b> |        |               |                  |
| Metastase        | 0,2797            | <b>&lt;0,0001</b> | 0,0158 |               |                  |
| NHL m. Leberbet. | 0,0829            | <b>&lt;0,0001</b> | 0,3445 | <b>0,0027</b> |                  |
| NHL o. Leberbet. | 0,4991            | <b>&lt;0,0001</b> | 0,0885 | 0,7859        | 0,0184           |

Die signifikanten Paardifferenzen im Bonferroni-Dunn-Test sind **fett** unterlegt.

### 3.3.4 Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Pfortader

Unterschiede bezüglich dieses Parameters sind insgesamt signifikant ( $p=0,0028$ ), dabei unterscheiden sich in der Hauptsache die Patienten mit einer Zirrhose (Mittelwert  $6,0\pm 3,3$  Sekunden) durch höhere Werte von Kontrollen ( $2,8\pm 0,9$  Sekunden), FNH ( $3,1\pm 1,6$  Sekunden) und NHL ( $3,7\pm 1,1$  [Leberbeteiligung] bzw.  $3,1\pm 1,6$  [keine Leberbeteiligung] Sekunden). Metastasenpatienten weisen auch eher hohe Werte auf ( $4,5\pm 2,1$  Sekunden). Werte von mehr als 4 Sekunden finden sich bei keinem der Kontrollprobanden (Abbildung 13).

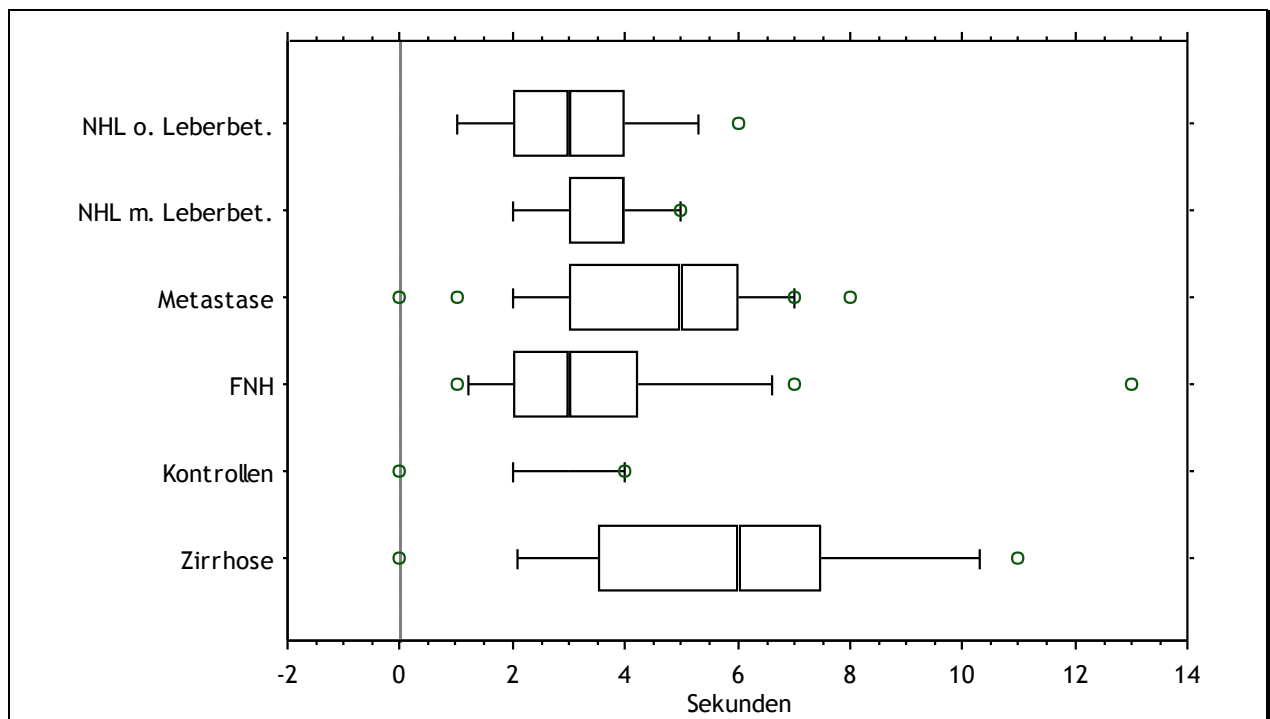


Abbildung 13: Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Pfortader in Abhängigkeit von der Diagnose. Zur Legende s. Seite 21

Im Paarvergleich signifikant war der Unterschied zwischen Zirrhose und Kontrollen sowie Patienten mit NHL ohne Leberbeteiligung (Tabelle 7).

Tabelle 7: Ergebnis der Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede bezüglich der Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Pfortader

|                  | Zirrhose      | Kontrollen | FNH    | Metastase | NHL m. Leberbet. |
|------------------|---------------|------------|--------|-----------|------------------|
| Zirrhose         |               |            |        |           |                  |
| Kontrollen       | <b>0,0002</b> |            |        |           |                  |
| FNH              | 0,0098        | 0,1876     |        |           |                  |
| Metastase        | 0,0616        | 0,0071     | 0,2423 |           |                  |
| NHL m. Leberbet. | 0,0187        | 0,2943     | 0,9380 | 0,2916    |                  |
| NHL o. Leberbet. | <b>0,0017</b> | 0,7451     | 0,3876 | 0,0473    | 0,4908           |

Die signifikanten Paardifferenzen im Bonferroni-Dunn-Test sind **fett** unterlegt.

### 3.3.5 Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Lebervene

Die Zeit zwischen Erreichen der Leberarterie und der Lebervene zeigt insgesamt hochsignifikante Gruppenunterschiede ( $p < 0,0001$ ). Sie ist bei den Kontrollen (mit  $12,1 \pm 2,1$  Sekunden) deutlich am höchsten und bei Zirrhose ( $6,6 \pm 1,6$  Sekunden) sowie NHL mit Leberbeteiligung ( $5,9 \pm 1,6$  Sekunden) am niedrigsten. Werte unter 9 Sekunden finden sich bei keinem der Kontrollprobanden, über dieser Grenze liegt keiner der Patienten mit NHL und Leberbeteiligung bzw. Leberzirrhose (Abbildung 14).

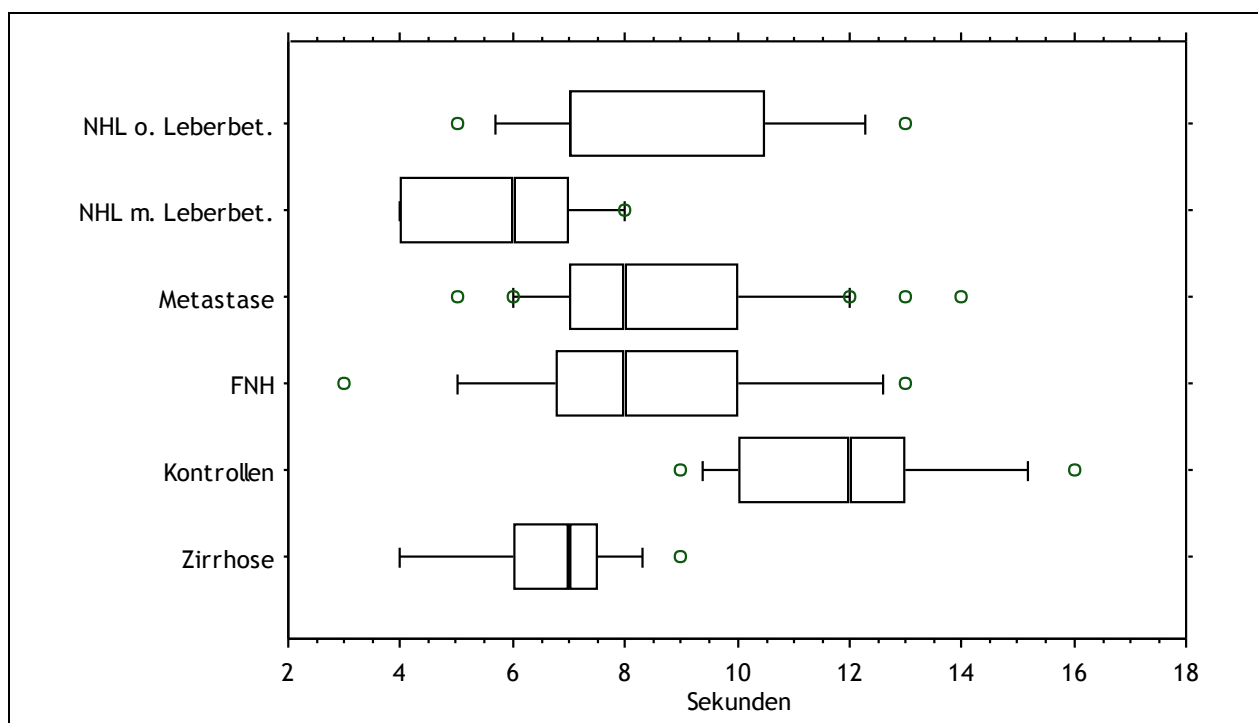


Abbildung 14: Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Lebervene in Abhängigkeit von der Diagnose. Zur Legende s. Seite 21

In den Paarvergleichen ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollen und allen Patientengruppen sowie zwischen Patienten mit Metastasen und NHL mit Leberbeteiligung (Tabelle 8).

Tabelle 8: Ergebnis der Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede bezüglich der Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Lebervene

|                  | Zirrhose          | Kontrollen        | FNH    | Metastase     | NHL m. Leberbet. |
|------------------|-------------------|-------------------|--------|---------------|------------------|
| Zirrhose         |                   |                   |        |               |                  |
| Kontrollen       | <b>&lt;0,0001</b> |                   |        |               |                  |
| FNH              | 0,0669            | <b>&lt;0,0001</b> |        |               |                  |
| Metastase        | 0,0110            | <b>&lt;0,0001</b> | 0,5465 |               |                  |
| NHL m. Leberbet. | 0,4270            | <b>&lt;0,0001</b> | 0,0105 | <b>0,0011</b> |                  |
| NHL o. Leberbet. | 0,0483            | <b>&lt;0,0001</b> | 0,7551 | 0,8495        | 0,0081           |

Die signifikanten Paardifferenzen im Bonferroni-Dunn-Test sind **fett** unterlegt.

### 3.3.6 Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene

Bezüglich der Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene verhalten sich die Werte im Wesentlichen so wie zwischen Leberarterie und Lebervene ( $p < 0,0001$ ). Werte über 6 Sekunden treten bei Zirrhose und Patienten mit NHL und Leberbeteiligung, Werte unter 6 Sekunden nicht bei Kontrollen auf (Abbildung 15).

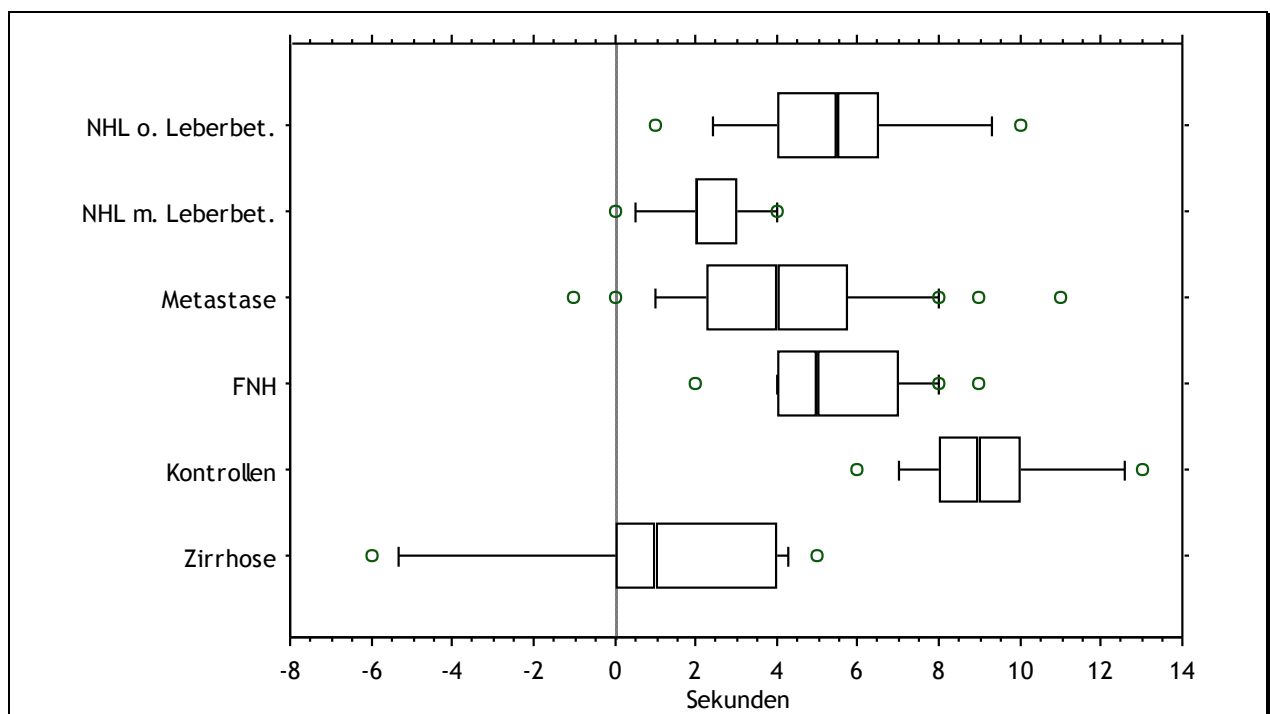


Abbildung 15: Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene in Abhängigkeit von der Diagnose. Zur Legende s. Seite 21

In den Paarvergleichen ist der Unterschied zwischen den Kontrollen und allen Patientengruppen sowie zwischen Patienten mit Zirrhose und allen anderen Diagnosen außer dem NHL mit Leberbeteiligung signifikant. Zudem unterscheiden sich bezüglich der Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene auch die Patienten mit NHL mit Leberbeteiligung von denen ohne Leberbeteiligung sowie mit fokaler nodulärer Hyperplasie (Tabelle 9).

Tabelle 9: Ergebnis der Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede bezüglich der Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene

|                  | Zirrhose          | Kontrollen        | FNH           | Metastase | NHL m. Leberbet. |
|------------------|-------------------|-------------------|---------------|-----------|------------------|
| Zirrhose         |                   |                   |               |           |                  |
| Kontrollen       | <b>&lt;0,0001</b> |                   |               |           |                  |
| FNH              | <b>&lt;0,0001</b> | <b>&lt;0,0001</b> |               |           |                  |
| Metastase        | <b>&lt;0,0001</b> | <b>&lt;0,0001</b> | 0,0852        |           |                  |
| NHL m. Leberbet. | <b>&lt;0,0001</b> | <b>&lt;0,0001</b> | <b>0,0011</b> | 0,0265    |                  |
| NHL o. Leberbet. | <b>&lt;0,0001</b> | <b>&lt;0,0001</b> | 0,9532        | 0,1425    | <b>0,0026</b>    |

Die signifikanten Paardifferenzen im Bonferroni-Dunn-Test sind **fett** unterlegt.

### 3.3.7 Korrelation der Transitzeit mit der Größe von Lebermetastasen

Bei Patienten mit Lebermetastasen lag eine nicht signifikante Tendenz zu einer abnehmenden Transitzeit zwischen Portal- und Lebervene mit zunehmender Größe der Metastasen vor (Abbildung 16).

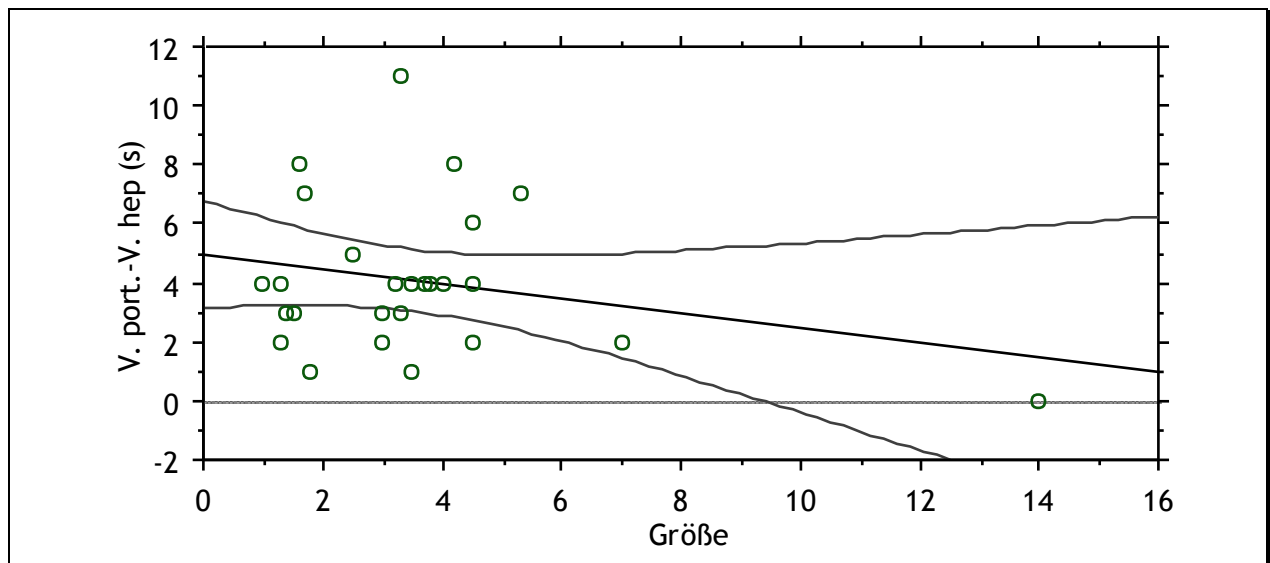


Abbildung 16: Transitzeit zwischen Portal- und Lebervene bei Patienten mit Lebermetastasen in Abhängigkeit von der Größe (n. signifikant)

### 3.4 Prüfung auf Zusammenhänge mit dem Alter

Wegen des – durch die Unterschiedlichkeit der Diagnosen bedingten – erheblichen Altersunterschieds zwischen den Gruppen wurden die Prüfgrößen auf Korrelation mit dem Alter hin untersucht. Signifikante *positive* Korrelationen fanden sich für die Zeit bis zur Detektion in der Leberarterie und der Pfortader, *negative* Korrelationen ergaben sich bezüglich der Zeit zwischen der Detektion in Leberarterie und Lebervene sowie Pfortader und Lebervene (Tabelle 10).

Tabelle 10: Ergebnisse der linearen Regression der Transitzeiten mit dem Alter

| Zeit                           | Signifikanz        | Korrelationskoeffizient $R^2$ , Tendenz |
|--------------------------------|--------------------|---|
| <i>A. hepatica</i>             | <b>p=0,0005</b>    | 0,115 - positiv                         |
| <i>V. portae</i>               | <b>p&lt;0,0001</b> | 0,149 - positiv                         |
| <i>V. hepatica</i>             | p=0,6916           | 0,002                                   |
| <i>A. hepatica-V. portae</i>   | p=0,2072           | 0,006                                   |
| <i>A. hepatica-V. hepatica</i> | <b>p=0,0170</b>    | 0,005 - negativ                         |
| <i>V. portae-V. hepatica</i>   | <b>p=0,0002</b>    | 0,125 - negativ                         |

Für die signifikanten Korrelationen ist die Regression in Abbildung 17 graphisch dargestellt. Insgesamt fällt auf, dass das Kontrastmittel bei älteren Patienten früher in den zuführenden Gefäßen der Leber (*A. hepatica* bzw. Pfortader) auftaucht (hier erklärt das Alter 10 – 15 % der Varianz), aber – abzulesen an der vergleichsweise großen Zeitdifferenz bis zur Detektion in der Lebervene – die Leberpassage langsamer ist; die Zeit zwischen der Detektion in Leberarterie und Lebervene zeigt keine Altersabhängigkeit, da sich hier diese beiden Effekte aufheben.

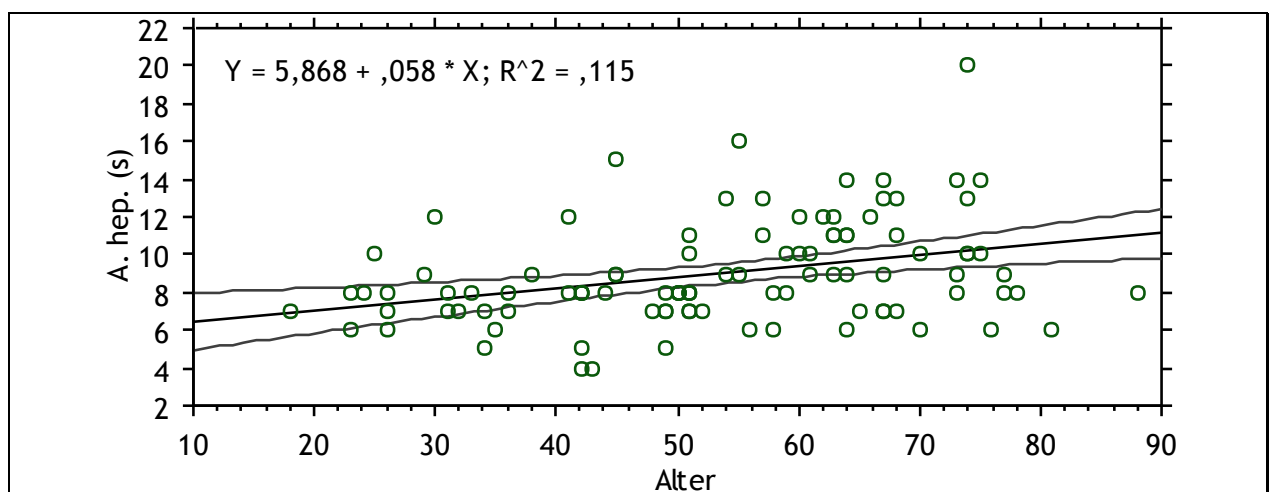


Abbildung 17a: Regression zwischen Alter und Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie



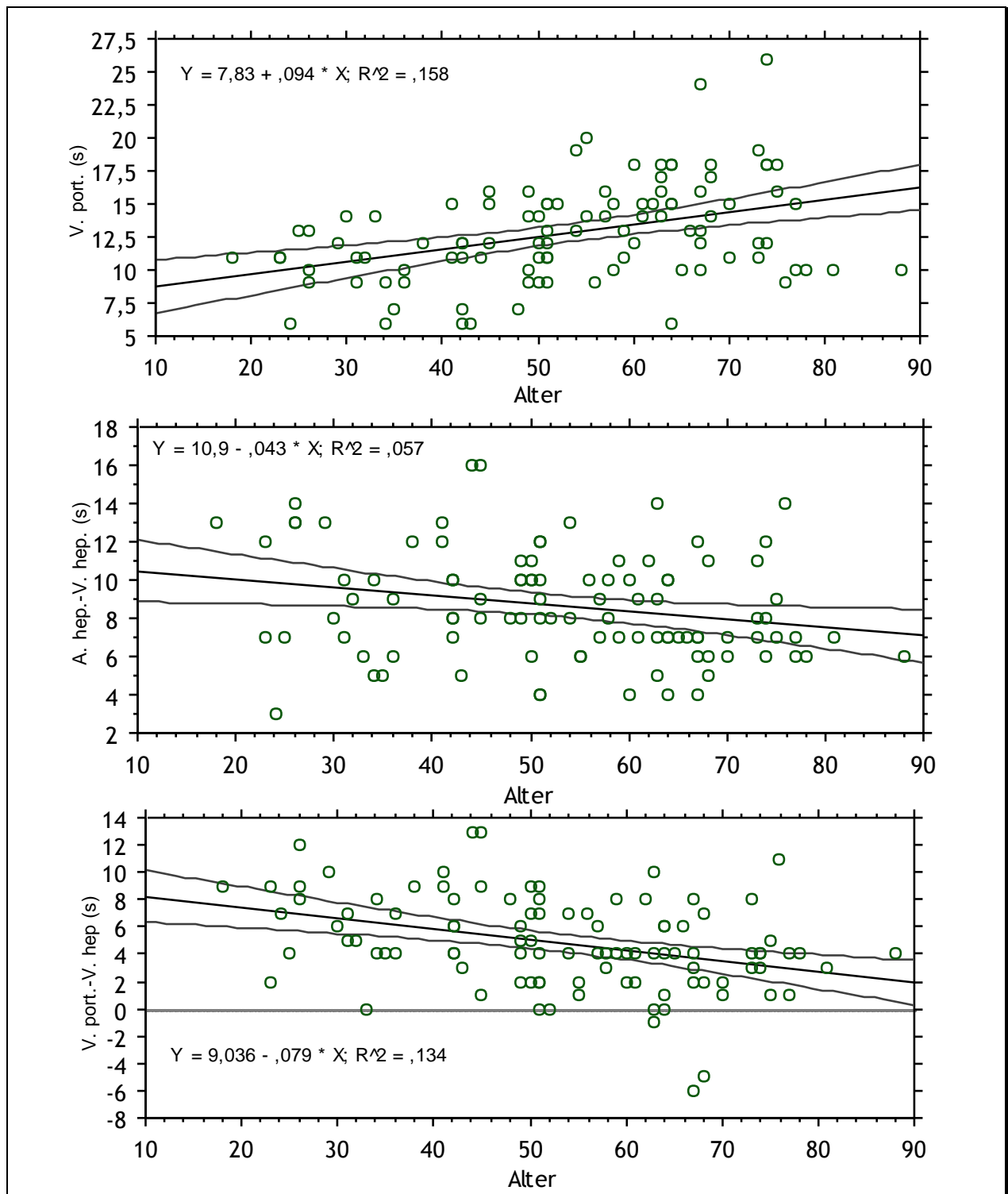


Abbildung 17b: Regression zwischen Alter und Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader (oben) sowie zwischen Leberarterie und -vene (Mitte) und Pfortader und Lebervene (unten)

### 3.5 Verifikation der gefundenen Zusammenhänge mit altersadjustierten Prüfgrößen

Aufgrund dieser statistisch deutlich signifikanten und auch quantitativ nicht unerheblichen Altersabhängigkeit der Transitzeiten wurden die Parameter, für die sich eine solche Abhängigkeit ergab, altersadjustiert. Dabei wurde aus den tatsächlichen Messwerten mit Hilfe der folgenden Methode ein – natürlich spekulativer – korrigierter Wert errechnet:

Gleichung 1: Regressionsgerade

$$\text{Transitzeit} = a + b \bullet [\text{Alter}]$$

Gleichung 2: Berechnung der altersadjustierten Transitzeit

$$\text{Transitzeit (adj.)} = \text{Transitzeit (gemessen)} - b \bullet [\text{Alter}]$$

Im Folgenden werden die in Kapitel 3.3 beschriebenen signifikanten Zusammenhänge unter Verwendung der altersadjustierten Transitzeiten wiederholt.

#### 3.5.1 Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie

Die Abhängigkeit dieses Parameters von der Diagnose ist statistisch nicht mehr signifikant ( $p=0,0986$ ); die insgesamt eher geringen Unterschiede der Rohwerte wurden aber wegen der fehlenden Signifikanz der Paarvergleiche ohnehin als nicht verwertbar eingestuft.

### 3.5.2 Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader

Der Gruppenunterschied ist immer noch knapp signifikant ( $p=0,0268$ ), aber keiner der Paarvergleiche im post hoc-Test erfüllt dieses Kriterium. Auch hier ist insgesamt eine Zufälligkeit der gefundenen Unterschiede nicht mit hinreichender Sicherheit auszuschließen.

### 3.5.3 Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Lebervene

Der Gruppenunterschied bezüglich dieses Parameters bleibt hochsignifikant, im Paarvergleich unterscheiden sich die Kontrollen hochsignifikant von allen anderen Gruppen sowie die Patienten mit Metastasen von denen mit NHL und Leberbeteiligung (Tabelle 11). Im Wesentlichen zeigt sich hier keine Änderung durch Altersadjustierung (Abbildung 18, vgl. Abbildung 14 [Seite 39]).

Tabelle 11: Ergebnis der Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede bezüglich der Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Lebervene (altersadjustiert)

|                  | Zirrhose          | Kontrollen        | FNH    | Metastase     | NHL m. Leberbet. |
|------------------|-------------------|-------------------|--------|---------------|------------------|
| Zirrhose         |                   |                   |        |               |                  |
| Kontrollen       | <b>&lt;0,0001</b> |                   |        |               |                  |
| FNH              | 0,6138            | <b>&lt;0,0001</b> |        |               |                  |
| Metastase        | 0,0075            | <b>0,0002</b>     | 0,0164 |               |                  |
| NHL m. Leberbet. | 0,4061            | <b>&lt;0,0001</b> | 0,1722 | <b>0,0006</b> |                  |
| NHL o. Leberbet. | 0,1130            | <b>0,0003</b>     | 0,2208 | 0,4593        | 0,0211           |

Die signifikanten Paardifferenzen im Bonferroni-Dunn-Test sind **fett** unterlegt.

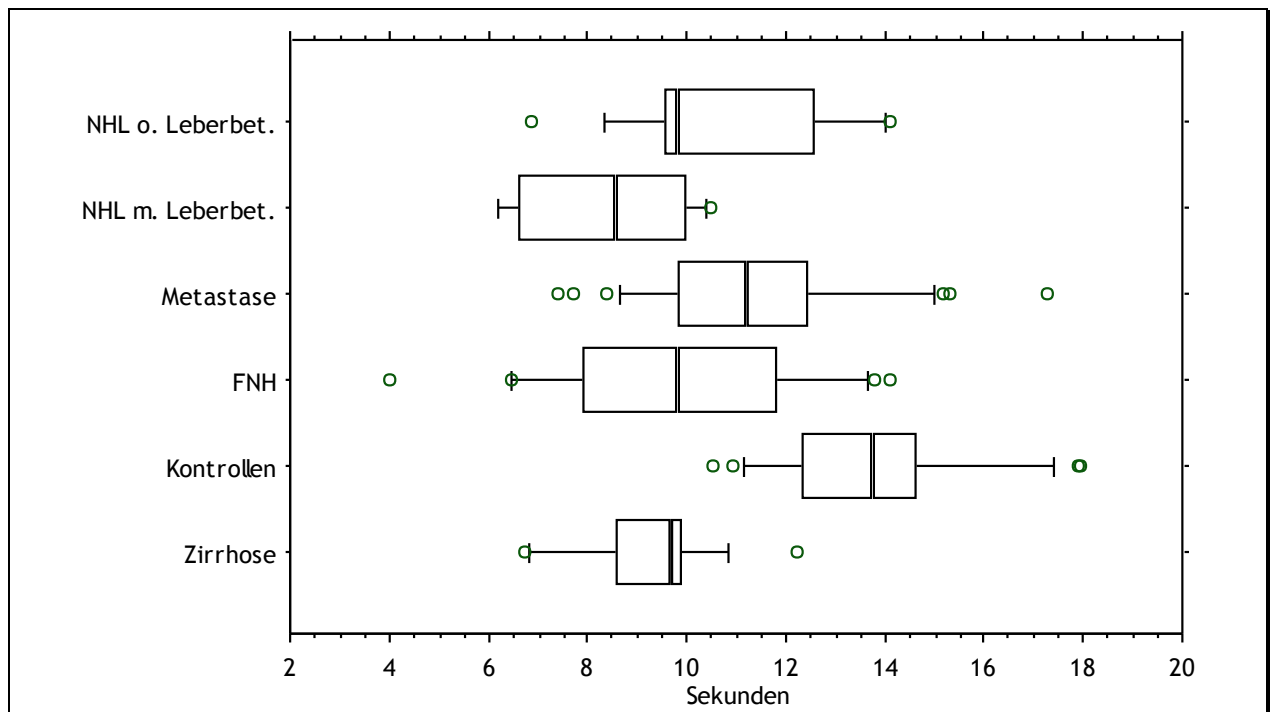


Abbildung 18: Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Leberarterie und in der Lebervene (altersadjustiert) in Abhängigkeit von der Diagnose. Zur Legende s. Seite 21

### 3.5.4 Zeitspanne zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene

Auch dieser Gruppenunterschied bleibt insgesamt hochsignifikant, und die gefundenen Zusammenhänge der Rohwerte (vgl. Kapitel 3.3.6 [Seite 40]) bleiben im Wesentlichen bestehen. Insbesondere ist die deutlich längere Zeit der Kontrollprobanden im Vergleich mit allen Patientengruppen gegenüber der Altersadjustierung unempfindlich, und die mit Abstand kürzeste Zeit ist auch hier – gegenüber den Kontrollen fast „überlappungsfrei“ – bei den Patienten mit einer Zirrhose zu sehen (Abbildung 19, Tabelle 12).

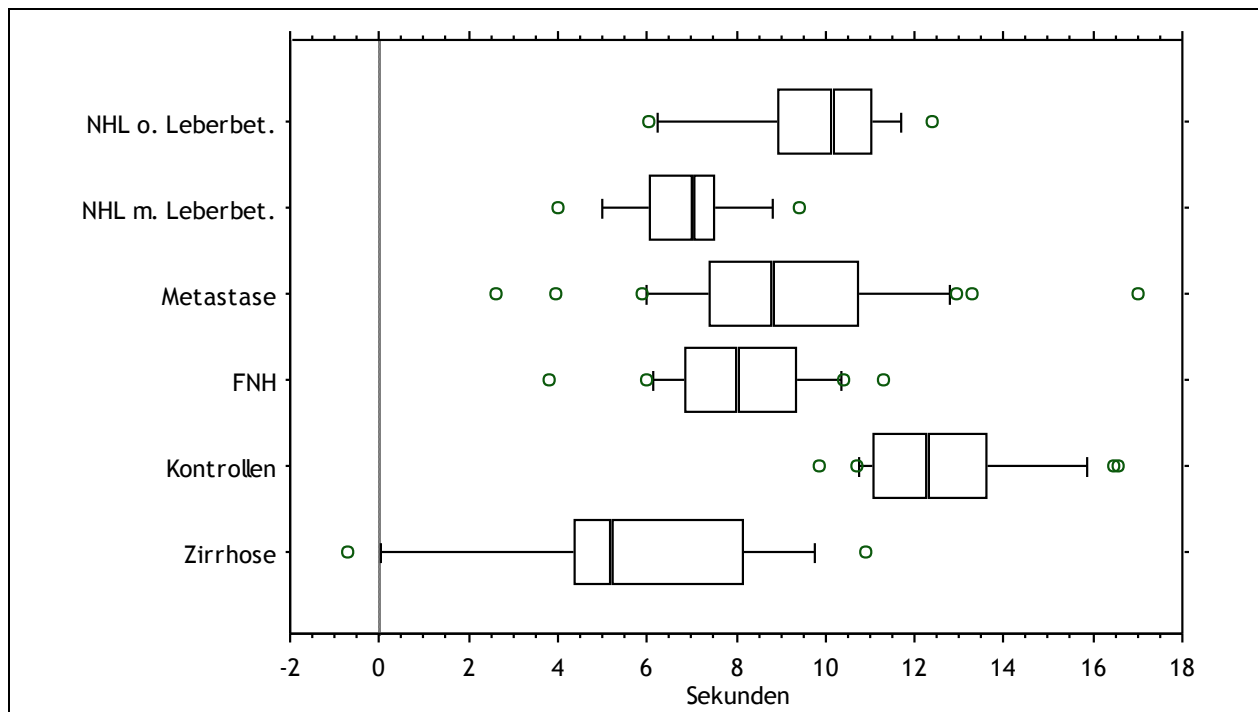


Abbildung 19: Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene (altersadjustiert) in Abhängigkeit von der Diagnose. Zur Legende s. Seite 21

Tabelle 12: Ergebnis der Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede bezüglich der Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Pfortader und in der Lebervene (altersadjustiert)

|                  | Zirrhose          | Kontrollen        | FNH    | Metastase | NHL m. Leberbet. |
|------------------|-------------------|-------------------|--------|-----------|------------------|
| Zirrhose         |                   |                   |        |           |                  |
| Kontrollen       | <b>&lt;0,0001</b> |                   |        |           |                  |
| FNH              | 0,0066            | <b>&lt;0,0001</b> |        |           |                  |
| Metastase        | <b>&lt;0,0001</b> | <b>&lt;0,0001</b> | 0,1876 |           |                  |
| NHL m. Leberbet. | 0,2308            | <b>&lt;0,0001</b> | 0,2126 | 0,0150    |                  |
| NHL o. Leberbet. | <b>0,0001</b>     | <b>0,0016</b>     | 0,0972 | 0,4821    | 0,0100           |

Die signifikanten Paardifferenzen im Bonferroni-Dunn-Test sind **fett** unterlegt.

### 3.6 Zusammenhang mit der Läsionsgröße

Bei den Patienten mit Metastasen und mit fokal-nodulärer Hyperplasie wurde zusätzlich der mögliche Einfluss der Läsionsgröße auf die Transitzeiten geprüft. Dabei fand sich eine signifikante, deutlich ausgeprägte Beziehung zwischen dem Durchmesser der Läsion einerseits und der Zeit bis zur Detektion in der Lebervene ( $p=0,0224$ ) sowie der Transitzeit zwischen A. und V. hepatica ( $p=0,0191$ ; [Abbildung 20]).

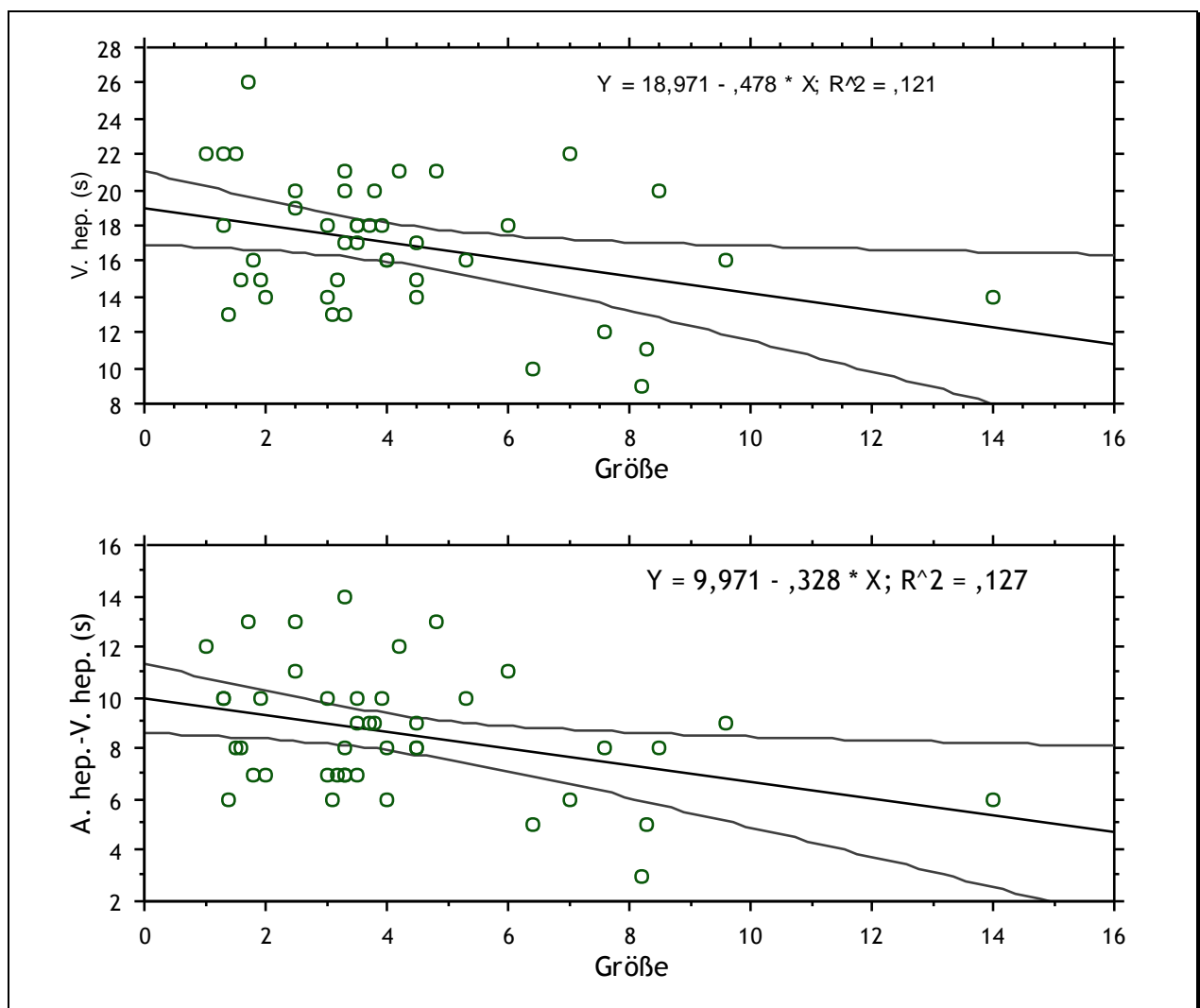


Abbildung 20: Größenabhängigkeit der Transitzeiten bei FNH und Metastasen

### 3.7 Zusammenfassende Bewertung

Es wird allgemein angenommen, dass die Kinetik und das Verteilungsmuster des Kontrastmittels sowohl von diffusen als auch von fokalen Leberschädigungen erheblich beeinflusst wird (z. B. ALBRECHT *et al.* 1999a, b, COSGROVE *et al.* 2002, ORDÉN *et al.* 2003, ZHOU *et al.* 2005). Bei dem gesunden Kontrollkollektiv ist nach der vorliegenden Untersuchung gegenüber Patienten mit einer Leberpathologie

- die Zeit bis zum Auftauchen des Kontrastmittels in der Lebervene verlängert;
- die Zeit zwischen der Detektion in der Leberarterie bzw. Pfortader und der Lebervene ebenfalls verlängert.

Dies gilt auch für Patienten mit NHL, bei denen keine Leberbeteiligung nachzuweisen war.

In Abhängigkeit von der Diagnose konnten typische Kontrastmittel-Kinetiken folgenden Patientengruppen zugeordnet werden:

- Transit Leberarterie-Lebervene: Beschleunigt besonders bei einem NHL mit Leberbeteiligung, aber auch bei FNH
- Transit Pfortader-Lebervene: Beschleunigt besonders bei Leberzirrhose

Bei Patienten mit FNH und Lebermetastasen ist die Transitzeit um so kürzer, je größer die Läsion ist.

Abbildung 21 zeigt zusammenfassend die zeitlichen Verläufe in der vorliegenden Untersuchung in schematischer Form. Dabei zeigt sich folgendes Verhalten:

- Bei Patienten mit Zirrhose ist im Vergleich zu den Kontrollen das Kontrastmittel in der Leberarterie gleich schnell, in der Pfortader erheblich später und in der Lebervene wesentlich früher zu detektieren. In etwas abgeschwächter Form findet sich diese Dynamik auch bei den Patienten mit Metastasen.
- Die beiden Patientengruppen mit NHL verhalten sich bis zur Pfortader identisch, danach ist die Zeit bis zur Detektion in der Lebervene bei Patienten mit Leber-

beteiligung bedeutend kürzer, aber auch bei den Patienten ohne Leberbeteiligung kürzer als bei den Kontrollen.

- Bei Patienten mit FNH wird das KM auf allen Ebenen früher detektiert als bei den anderen Gruppen.

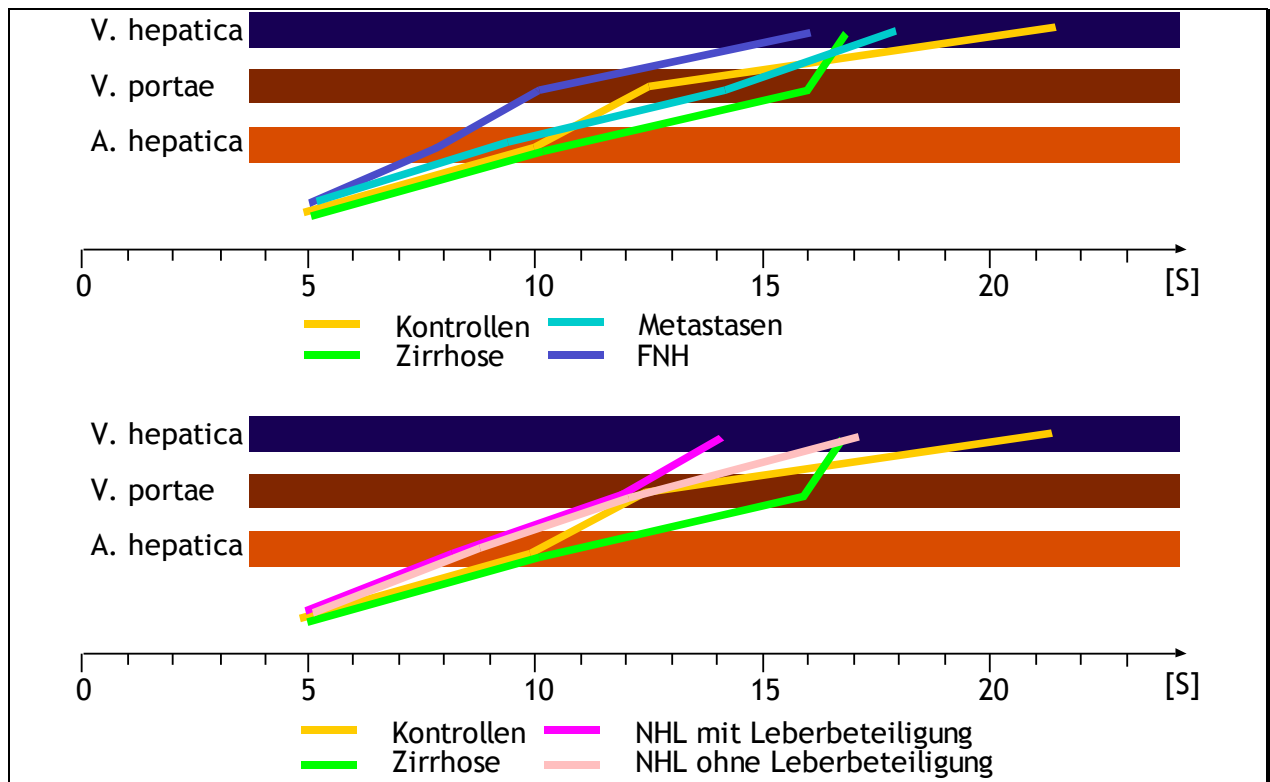


Abbildung 21: Schematisches Weg-Zeit-Diagramm der Kontrastmittel-Transitzeiten, aufgeteilt nach Diagnosen



## 4 Diskussion

Der diagnostische Wert verschiedener bildgebender Verfahren bei der Abklärung fokaler und diffuser Veränderungen der Leber kann anhand folgender Parameter gemessen werden:

1. Ihrer Sensitivität und Spezifität bei der *Detektion* von diffusen und umschriebenen Lebererkrankungen und
2. ihrer Fähigkeit zur *Artdiagnose* diffuser bzw. fokaler Lebererkrankungen und deren Genese.

Verglichen mit der kontrastmittelverstärkten Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT) oder Positronen-Emissions-Tomographie (PET) hat die B-Mode-Sonographie die niedrigste Sensitivität bezüglich der Detektion von Lebermetastasen gastrointestinaler Tumoren (KINKEL *et al.* 2002). Bei diffusen Lebererkrankungen sind Sensitivität und Spezifität bildgebender Verfahren generell auf indirekte Kriterien begrenzt, da sie auf zellulären Gewebeveränderungen basieren (SANFORD *et al.* 1985, MERGO *et al.* 1994, ROFSKY und FLEISHAKER 1995).

Ultraschall-Kontrastmittel erhöhen die Detektionsrate von Leberveränderungen erheblich. Wie auch bei anderen bildgebenden Verfahren verbessern Kontrastmittel bei der Ultraschalluntersuchung nicht nur die Detektionsrate, sondern auch die Möglichkeit zur Artdiagnose von Tumoren der Leber (WILSON *et al.* 2000, DIETRICH und BECKER 2002, KIM *et al.* 2002, QUAAIA *et al.* 2002, 2003, 2004, BARTOLOTTA *et al.* 2003, JANG *et al.* 2003, STROBEL *et al.* 2003, ALBRECHT *et al.* 2004a, BLEUZEN und TRANQUART 2004, RICCI *et al.* 2005).

Darüber hinaus kann die Kontrastmittel-Sonographie auch zur Darstellung der Durchblutungskinetik dienen, da sie als streng intravaskuläres Medium den Blutfluss in einem Organ als „Tracer“ sichtbar machen und damit – unmittelbar oder mittelbar - ergänzende Informationen über Organveränderungen liefern kann (LUCIDARME *et al.* 2001, 2003, ORDÉN *et al.* 2003, ZHOU *et al.* 2005).

Malignome der Leber verändern die Perfusionsverhältnisse regional im Bereich der Läsion, aber auch im gesamten Organ und öffnen auf diese Weise diagnostische Optionen für die Kontrastmittel-Sonographie: Bei malignen Tumoren der Leber wurden

durch verschiedene Techniken (Szintigraphie, CT oder Dopplersonographie) ein reduzierter Fluss in der Portalvene sowie ein korrespondierend verstärkter arterieller Einstrom in die Leber beschrieben. Zur Quantifizierung dieses Phänomens wurde der Hepatic Perfusion Index (RYPINS *et al.* 1981, SARPER *et al.* 1981, NOTT *et al.* 1987, WARREN *et al.* 1998, CUENOD *et al.* 2001, FUENTES *et al.* 2002) bzw. – von der Arbeitsgruppe Leen - der Doppler-Perfusions-Index, als Verhältnis des Flusses in der A. hepatica zum Gesamtblutfluss der Leber (LEEN *et al.* 1993a, b, 1995, 2000, LEEN 1999, OPPO *et al.* 2000), herangezogen.

BLOMLEY *et al.* (1998) sowie ALBRECHT *et al.* (1999a, b) publizierten Untersuchungen der Perfusionskinetik bei Patienten mit Lebermetastasen bzw. Leberzirrhose. In diesen Studien wurde ein im Schallfeld leicht zerstörbares Kontrastmittel (Levovist<sup>®</sup>, Schering, Berlin) verwendet, so dass die Ergebnisse nicht ohne weiteres mit denen der vorliegenden Untersuchung vergleichbar sind. In den beiden genannten Studien sowie in einer Untersuchung von BLOMLEY *et al.* (2003) wurde die Lautheit (loudness) des Signals von kontinuierlichen oder gepulsten Dopplersignalen analysiert; nach SCHWARZ *et al.* (1993) kann das Kontrastmittel nicht nur verlässlich detektiert werden, sondern seine Konzentration steht direkt mit der Lautheit des Signals in Zusammenhang.

In späteren Untersuchungen wurde Levovist<sup>®</sup> in Kombination mit einem Graustufenmodus der zweiten harmonischen Frequenz (Tissue Harmonic Imaging, THI) verwendet. Es wurde allerdings immer noch mit einem relativ hohen Schalldruck (MI zwischen 0,6 und 1,5) gearbeitet. Während BLOMLEY *et al.* (1998) und ALBRECHT *et al.* (1999a, b) den verstärkenden Effekt von Levovist<sup>®</sup> durch Messung der Lautheit mit gepulsten Dopplersignalen untersuchten, bewerteten BANG *et al.* (2001) die Kinetik qualitativ durch visuelle Beurteilung. BERNATIK *et al.* (2002) sowie SUGIMOTO *et al.* (2002) verwendeten ein spezielles vorinstalliertes Softwarepaket, das die Quantifizierung der Gefäßanreicherung ermöglichte; allen diesen Untersuchungen gemeinsam war allerdings der sendeseitig relativ hohe MI zwischen 0,6 und 1 (bzw. Schalldruck von 30 bis 60 dB).

Aufgrund der Affinität zum RES sind die Transitzeiten von Levovist<sup>®</sup> länger als die von SonoVue<sup>®</sup>, und die mit beiden Kontrastmitteln gemessenen Werte sind aus diesem Grund nicht miteinander vergleichbar.

Die vorliegende retrospektive Studie hatte zum Ziel, die Kinetik der KM-Anreicherung in der Leber bei verschiedenen Patientengruppen (Kontrollen sowie Patienten mit Leberzirrhose, FNH, Lebermetastasen und NHL mit bzw. ohne Lebermanifestation) mit einem Kontrastmittel der 2. Generation mit flexibler Hüllmembran und niedrigem Schalldruck zu untersuchen. Alle bisherigen Studien zur Kontrastmittelkinetik wurden

mit einer computerunterstützten Schallverstärkung durchgeführt, die zur Vermeidung rauschbedingter Schwankungen im Baseline-Niveau die Ankunft des Kontrastmittels als den Zeitpunkt definierten, an dem die Nulllinie signifikant (d. h. um 10 % des maximalen Enhancement-Wertes) überschritten wurde.

In dieser Studie wurde die Ankunftszeit des Kontrastmittels in den drei Lebergefäßen visuell mittels „Frame by Frame“-Auswertung des vorliegenden „cine-loops“ anhand der ins Bild eingebetteten Digitaluhr ermittelt.

Aufgrund des retrospektiven Charakters der Studie konnte keine gesunde *Kontrollgruppe* rekrutiert werden; als Kontrollen wurden daher die Loops von Patienten verwendet, bei denen sich im Lauf der Untersuchung lediglich geringfügige pathologische Veränderungen gezeigt hatten, bei denen ein Einfluss auf die Kinetik der Leberperfusion ausgeschlossen oder unwahrscheinlich ist (kleine Zysten oder Hämangiome mit weniger als 2 cm Durchmesser, zonale Mehrverfettung). Die Kontrollgruppe dürfte damit die Perfusionsverhältnisse von Gesunden ausreichend gut repräsentieren, und in der Tat waren die Werte in dieser Gruppe unterschiedlich zu allen anderen. Die Eignung dieser Patienten als Kontrollgruppe wird unterstrichen durch eine jüngste erschienene Studie von HOHMANN et al. (2009): Die hier an gesunden Freiwilligen gemessenen Transitzeiten entsprachen exakt denjenigen der in der vorliegenden Untersuchung als Kontrollen verwendeten Patienten.

Die *Untersuchungsbedingungen* wurden so gewählt, dass sie möglichst für alle Patienten konstant waren und die Transitzeiten nicht beeinflussten:

- Die Patienten wurden mindestens 2 Stunden, meist aber etwa 4 Stunden nach der letzten Mahlzeit untersucht. Die Untersuchung morgens nüchtern wird von einigen Autoren empfohlen (z. B. BERNATIK et al. 2002, SUGIMOTO et al. 2002), von den meisten anderen Arbeitsgruppen (u. a. GEBEL et al. 1998, UGGOWITZER et al. 1998, ALBRECHT et al. 1998, 1999b, 2000, 2003, BANG et al. 2001) aber als unnötig erachtet.
- Anders als in einigen der vorliegenden Arbeiten wurden die Patienten der vorliegenden Studie nicht aufgefordert, den Atem anzuhalten, da ein Anhalten des Atems über längere Zeit die Druckverhältnisse in der Pulmonalvene und dem rechten Vorhof verändert und so ein Einfluss auf die KM-Kinetik in den Lebergefäßen nicht auszuschließen ist.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Transitzeiten aufgrund der Auswertungsmethode in 1-Sekunden-Schritten gemessen wurden, war die *Streuung der Werte* innerhalb der einzelnen Gruppen relativ niedrig. Trotzdem wurden bei der statistischen

Auswertung durch den Bonferroni-Dunn-post hoc-Test strenge Maßstäbe angelegt, um die Interpretation von Scheinzusammenhängen zu vermeiden. Diese wurde in der Tendenz auch durch die relativ kleinen Untergruppen von Patienten vermieden: Während in großen Stichproben ein  $\alpha$ -Fehler oder „Fehler erster Art“ (obwohl die Nullhypothese in der Grundgesamtheit zutrifft, wird sie aufgrund des Stichprobenergebnisses verworfen) relativ wahrscheinlich ist, würde in der vorliegenden Arbeit sehr viel wahrscheinlicher ein  $\beta$ -Fehler oder „Fehler zweiter Art“ (obwohl die Nullhypothese in der Grundgesamtheit nicht zutrifft, wird sie aufgrund des Stichprobenergebnisses angenommen) auftreten. Weiter untermauert werden die Ergebnisse aus methodischer Sicht dadurch, dass bei einigen Parametern „überlappungsfreie“ Verteilungen beobachtet wurden, d. h. die kürzeste in der Kontrollgruppe beobachtete Transitzeit länger war als die längste beispielsweise bei Patienten mit Leberzirrhose.

Aufgrund dieser methodischen Vorüberlegungen scheint es gerechtfertigt, die gefundenen Zusammenhänge als systematisch anzunehmen und entsprechend zu diskutieren.

Ein deutlicher Zusammenhang zeigte sich dabei zunächst zwischen den gemessenen Detektionszeiten und dem Alter: Das Kontrastmittel kam mit steigendem Lebensalter später in den zuführenden Lebergefäßen an, die Transitzeiten durch die Leber dagegen wurden kürzer. Um sicherzugehen, dass keine Verfälschung der Ergebnisse durch die Gruppenunterschiede des Alters auftrat, wurde daher rechnerisch jeder Parameter altersadjustiert; die Auswertung dieser – fiktiven – Parameter bestätigte in den wesentlichen Punkten die der Rohwerte.

Da die Daten der vorliegenden Arbeit retrospektiv erhoben wurden, musste der *benigne Charakter* der so eingestuftten Veränderungen aus der Summe der zum Untersuchungszeitraum vorliegenden Daten sowie katamnestisch überprüft werden. Bei keinem dieser Patienten ergab die 11 bis 16 Monate nach der Studie durchgeführte B-Mode-Sonographie einen Anhalt für Malignität oder eine andere Diagnose als die zum Zeitpunkt der Studienuntersuchung.

Insgesamt scheinen die Ergebnisse unserer Untersuchung damit *unter methodischen Gesichtspunkten* interpretierbar.

Unter dieser Voraussetzung war die Transitzeit – insbesondere die Zeit zwischen der Detektion in der Pfortader und der Lebervene – bei allen Patientengruppen deutlich und signifikant kürzer als bei den Kontrollprobanden; dies gilt auch für Patienten mit NHL ohne darstellbare Leberbeteiligung.

Bei Patienten mit *Leberzirrhose* und *Lebermetastasen* war die KM-Detektion in der Pfortader verzögert, dafür aber – insbesondere bei der Zirrhose, bei der die Latenz zwischen der Detektion in der Portal- und Lebervene im Median nur 1 Sekunde betrug – die Transitzeit bedeutend verkürzt. Dieser Parameter war zugleich derjenige, der zwischen Kontrollen einerseits und den beiden genannten Patientengruppen andererseits am besten – für die Leberzirrhose zuverlässig– diskriminierte; bezüglich der Lebermetastasen entspricht dies der Beobachtung von HOHMANN et al. (2009).

Obwohl Volumenfluss und Detektionszeit wegen des Einflusses des Gefäßdurchmessers nicht unmittelbar korrelieren, dürfte ein reduzierter Flow in der Pfortader für das verzögerte Anfluten des Kontrastmittels bei Patienten mit Zirrhose und Lebermetastasen mit verantwortlich sein. Dieser stellt zusammen mit einem gesteigerten Fluss in der *A. hepatica* („arterial buffer response“) einen bekannten Kompensationsmechanismus der Perfusionsverhältnisse bei der Leberzirrhose dar (LAUTT 1985, RICHTER et al. 2000, 2001, NAKATA et al. 2002, ZIPPRICH et al. 2003) und wurde auch bei Patienten mit malignen Läsionen der Leber verschiedentlich beschrieben (LEEN et al. 1993a, b, 1995, LEEN 1999, JAKAB et al. 1996a, b, OPPO et al. 2000). Der in unserer Untersuchung gegenüber den Kontrollen deutlich verspätete Nachweis der Kontrastmittelbläschen in der Pfortader bei Patienten mit Leberzirrhose, der sich weniger ausgeprägt auch bei Patienten mit Lebermetastasen fand, ist als Ausdruck dieses Phänomens anzusehen.

Nach der vorliegenden Untersuchung ist die Zeit bis zur Detektion des Kontrastmittels in der Lebervene bei diesen beiden Patientengruppen bedeutend verkürzt; ein Vergleich dieser Werte mit denen anderer Studien ist allerdings aus methodischen Gründen nicht möglich, da die verwendeten Kontrastmittel, die Untersuchungs- und Berechnungsmethode erhebliche Unterschiede aufweisen. Durch eine hoch sensitive Untersuchungstechnik werden die Mikrobläschen früher nachgewiesen als bei Untersuchung mit höherem Schalldruck. Dieser Unterschied ist umso gravierender, je langsamer die KM-Konzentration ansteigt, manifestiert sich also insbesondere bei Untersuchungen im venösen System. Durch das hohe Shuntvolumen zwischen Pfortader und Lebervene bei Leberzirrhose (mit schnellem Anstieg der KM-Konzentration in der Lebervene) differieren die Detektionszeiten in der Lebervene daher zwischen den unterschiedlichen vorliegenden Studien nur relativ wenig. Im Zusammenhang mit der verzögerten Perfusion in der Pfortader ist dieses Shuntvolumen dafür verantwortlich, dass

die Transitzeit zwischen Portal- und Lebervene zur Charakterisierung der Perfusionskinetik bei der Leberzirrhose ein ausgesprochen aussagekräftiger und wertvoller Parameter ist. Für das verzögerte Anfluten des Kontrastmittels in der Portalvene könnte ein gesteigerter arteriolo-portalvenöser Shuntflow mit gesteigertem Fluss in der Leberarterie verantwortlich sein.

SUGIMOTO *et al.* (2002) berichteten in diesem Zusammenhang von Patienten, bei denen das KM in der Portal- und Lebervene gleichzeitig sichtbar wurde; in der vorliegenden Untersuchung fanden sich sogar zwei Patienten, bei denen das Kontrastmittel in der Lebervene *früher* als in der Pfortader sichtbar wurde (siehe Abbildung 15, Seite 40). Da sich die Zirrhose bei einem dieser beiden Patienten im CHILD-PUGH-Stadium A befand, ist ein Zusammenhang zwischen der Transitzeit und der Schwere der Leberzirrhose in unserer Untersuchung nicht unbedingt anzunehmen; es fand sich allerdings bei nicht signifikantem Unterschied in der Gruppe der Patienten im Stadium C mit durchschnittlich negativen Werten die kürzeste Transitzeit (siehe Tabelle 3, Seite 32). Unter anderem kommen als Erklärung für diese Inkonsistenz von klinischem Stadium und Transitzeit auch Unzulänglichkeiten der CHILD-PUGH-Stadieneinteilung in Frage.

Die Aussage von BLOMLEY *et al.* (2003) kann damit zwar nicht bestätigt werden, ihr ist, wie Tabelle 3 zeigt, aber auch nicht zu widersprechen: Die Autoren hatten bei 20 Patienten mit Levovist<sup>®</sup> und „pulse wave“-Dopplersonographie einen deutlichen Zusammenhang zwischen Transitzeit und Stadium gesehen. Hier kommt möglicherweise der Leberspezifität von Levovist<sup>®</sup> die entscheidende Rolle zu: Im RES bzw. den Sinusoiden reichert sich das Kontrastmittel aus dem Blut an; damit ist die Clearance zwischen Lebergesunden und –kranken sicher verändert. Insgesamt dürfte davon die Ankunftszeit in der Lebervene am stärksten beeinflusst sein. Auch die o. g. methodischen Aspekte des computergestützten vs. visuellen Nachweises der ersten Kontrastmittelbläschen kann hier eine Rolle spielen.

Ähnliche Mechanismen einer Beeinflussung der Durchblutungsverhältnisse, wie sie bei der Leberzirrhose bestehen, könnten für die veränderten Transitzeiten beim Vorliegen von *Lebermetastasen* verantwortlich sein. Nach der vorliegenden Untersuchung sind die Veränderungen in der Kinetik der Kontrastmittelverteilung ähnlich (spätere Detektion in der Pfortader, deutlich frühere in der Lebervene), wenn auch weniger ausgeprägt (siehe Abbildung 21, Seite 51). Auch dieser Befund steht in Einklang mit der Literatur (z. B. BERNATIK *et al.* 2002); wie in der vorliegenden Untersuchung ergab sich auch in der Studie von HOHMANN *et al.* (2009) mit dem Kontrastmittel BR1 eine arteriovenöse Transitzeit von 9 Sekunden als trennscharfer "cut-off-point".

Nach LEEN *et al.* könnte die verzögerte Anreicherung in der Pfortader als eine Art „steal“-Phänomen infolge der tumorbedingt verstärkten arteriellen Perfusion aufzufassen sein; in Frage kommt als Ursache aber auch ein Einfluss von Mediatorsubstanzen, die den Portalvenenfluss in Abhängigkeit vom arteriellen Stromvolumen modulieren (LEEN *et al.* 1993a, b, 1995, LEEN 1999). Auch bei diesen Patienten ist damit die Zeitdifferenz zwischen dem Nachweis des Kontrastmittels in der Pfortader und der Lebervene der diagnostisch empfindlichste Parameter der Kontrastmittelkinetik.

Auch bei den Patienten mit Lebermetastasen kommen als Ursache für die veränderte Durchblutungskinetik am ehesten Shunts zwischen Pfortader und Lebervene in Frage. In dieser Gruppe gibt es zwar ebenfalls keine statistisch signifikante und quantitativ schlüssige Korrelation der Transitzeit mit der Zahl bzw. Größe der Metastasen, wohl aber eine entsprechende Tendenz (s. Abbildung 16, Seite 42); in Anbetracht der relativ niedrigen Fallzahl ist dieser Befund mit der Vorstellung kürzerer Transitzeiten bei größeren Metastasen durchaus vereinbar.

Allerdings ist nach den Untersuchungen von LEEN *et al.* (1993a, b, 1995, LEEN 1999) davon auszugehen, dass Veränderungen der Hämodynamik bereits in einem Stadium zu beobachten sind, in dem die Metastasen im Nativ-CT und Ultraschall noch gar nicht nachweisbar sind, und nach BERNATIK *et al.* (2002) treten die Veränderungen auch in den Teilen der Leber auf, die metastasenfrei sind. Der Blutfluss im Kapillarbett und den Sinusoiden dürfte damit von Prozessen beeinflusst werden, die vom Tumor bereits in einem sehr frühen Stadium – vor seiner Nachweisbarkeit in der Bildgebung – initiiert werden (LEEN *et al.* 1993a, b, 1995, LEEN 1999).

Für die in der vorliegenden Untersuchung erstmalig beschriebene Veränderung der Perfusionskinetik der Leber beim *Non-Hodgkin-Lymphom*, die bemerkenswerterweise auch bei Patienten ohne Lebermanifestation zu beobachten war, gibt es bislang in der Literatur keine Vergleichsmöglichkeiten. Die Patienten mit NHL zeigten eine zwar weniger ausgeprägte, aber dennoch hochsignifikante Verkürzung der Transitzeit zwischen Portal- und Lebervene; bei Leberbeteiligung lag diese mit durchschnittlich  $2,2 \pm 1,2$  Sekunden noch deutlich niedriger als bei den Patienten mit Metastasen, Patienten mit NHL ohne Leberbeteiligung wiesen mit  $5,4 \pm 2,5$  Sekunden eine signifikant längere Transitzeit auf, die aber dennoch gegenüber den Kontrollen hochsignifikant verringert war. Eine Abhängigkeit vom Stadium des NHL fand sich nicht. Aufgrund dieser Befunde sind Shuntphänomene für die kürzeren Transitzeiten beim NHL eher nicht verantwortlich zu machen.

Aufgrund des reduzierten Allgemeinzustandes, der beeinträchtigten Leberfunktion und der fehlenden therapeutischen Konsequenzen wurde bei den Patienten mit NHL und

Leberbeteiligung auf eine Biopsie verzichtet; eine histologische Abklärung der Leberinfiltrate war daher nicht möglich. Nach der Chemotherapie und Antibiose zeigte sich bei den Patienten eine Abnahme der Zahl und/oder Größe der Leberherde, wobei allerdings konkomitante Mykosen retrospektiv nicht auszuschließen waren.

Bei Malignomen im Allgemeinen (WEIDNER *et al.* 1991, AHMAD *et al.* 2001, PAPAMICHAEL 2001, POON *et al.* 2001, PRALHAD *et al.* 2003, SHARMA *et al.* 2003) und auch bei malignen hämatologischen Erkrankungen (LIST 2001, RIBATTI *et al.* 2001, GILES 2002) spielen Angiogenesefaktoren eine bedeutende pathogenetische Rolle und stehen mit einer ungünstigen Prognose in Zusammenhang; dies ist auch für das NHL gezeigt worden (BERTOLINI *et al.* 1999, LIST 2001, PAZGAL *et al.* 2002, CRIVELLATO *et al.* 2003). Möglicherweise stellen solche Faktoren das fehlende Bindeglied zwischen soliden und hämatologischen Malignomen im Hinblick auf die von uns beobachteten Veränderungen der Leberperfusion dar.

Diese Annahme wird unterstützt durch unsere Beobachtung einer verkürzten Transitzeit bei der *fokalen nodulären Hyperplasie*: PARADIS *et al.* (2003) beschrieben bei dieser Erkrankung einen spezifischen Anstieg des Verhältnisses von Angiopoietin-1 zu Angiopoietin-2, das für die Formation hyperplastischer und dysplastischer Gefäße bei diesem Krankheitsbild (mit-)verantwortlich sein könnte. Angiopoietine wurden als Liganden des Tie-2-Rezeptors identifiziert, und ihnen wird eine bedeutende Rolle in der Reifung und Stabilisierung von Gefäßen während der Angiogenese zugeschrieben (MITSUHASHI *et al.* 2003).

Aufgrund der relativen Vielzahl untersuchter Diagnosen und der daran gemessenen geringen Zahl von Patienten pro Diagnosegruppe können Schlussfolgerungen aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung natürlich grundsätzlich nur mit Zurückhaltung gezogen werden. Die hohe Konsistenz der Ergebnisse und die Tatsache, dass die – nicht übermäßig zahlreichen – zum Vergleich vorliegenden Untersuchung die Ergebnisse zumindest qualitativ bestätigen, erlaubt aber trotzdem das Fazit, dass die Perfusionskinetik der Leber von verschiedenen benignen und malignen Erkrankungen beeinflusst wird.

Der Einfluss ist nicht spezifisch und in seinem pathogenetischen Hintergrund noch nicht vollständig verstanden. Dennoch ist die Bestimmung der Transitzeiten relativ trennscharf und könnte das Potential bieten, einfach und schnell z. B. Therapiefortschritte bei Patienten mit malignen Läsionen der Leber zu überwachen; dieses Potential setzten etwa ZHOU *et al.* (2005) erfolgreich in die klinische Praxis um, indem die



---

Normalisierung der Transitzeiten als Marker für eine erfolgreiche Therapie auch im Verlauf eingesetzt wird. Von besonderem Interesse sollten in zukünftigen Untersuchungen die Patienten mit einem NHL sein, da sich veränderte Transitzeiten hier auch bei nicht vorhandener Lebermanifestation zeigten. Diesbezüglich stellt sich die Frage ob – und in welchem Maße - sich die Transitzeiten unter erfolgreicher Therapie normalisieren und ob die eine erneute Veränderung mit der Entwicklung von Rezidiven korreliert. Interessant wären in diesem Zusammenhang auch Untersuchungen, die die Veränderung der Transitzeit zum Therapiefortschritt und zur Prognose nicht behandelter Patienten in Beziehung setzen.

Wie die Sonographie allgemein ist allerdings auch die kontrastverstärkte Sonographie stark vom Untersucher abhängig, und es ist für jeden Untersucher und jedes Zentrum ist eine Lernkurve zu berücksichtigen. Nach dieser anfänglichen Lernkurve die Kontrastmittelsonographie aussagekräftig und sicher; die diagnostische Wertigkeit der im Rahmen dieser Untersuchung leicht zu bestimmenden Transitzeiten ist dabei erheblich.

## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Untersuchung wurde geprüft, welche Informationen die Bestimmung der Transitzeiten der Leber in der Kontrastmittelsonographie für die klinische Diagnostik bei Patienten mit diffuser und bei Patienten mit fokaler Lebererkrankung liefert.

Dafür wurden die digital gespeicherten Filmsequenzen von 102 Patienten, die sich zwischen August 2002 und Dezember 2003 im Klinikum Hannover (Krankenhaus Siloah) einer Kontrastmittelsonographie mit SonoVue<sup>®</sup> unterzogen hatten, retrospektiv ausgewertet. Neben einer Kontrollgruppe von 19 Patienten mit kleinen Zysten, Hämangiomen oder einer zonalen Mehrverfettung wurde eine zweite Gruppe von 12 Patienten mit Leberzirrhose, eine dritte Gruppe von 17 Patienten mit einer fokalen nodulären Hyperplasie, eine vierte Gruppe 32 Patienten mit Lebermetastasen und eine fünfte Gruppe von 22 Patienten mit NHL (davon 10 mit und 12 ohne sonographisch nachgewiesene Leberbeteiligung) untersucht. Die Untersuchung erfolgte mittels Puls-Inversions-Technik im Real-Time-Mode, die Zeit bis zur Ankunft des Kontrastmittels in Leberarterie, Pfortader und Lebervene wurde visuell beurteilt. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Kruskal-Wallis-Test, dem Bonferroni-Dunn-post hoc-Test und der linearen Regression.

Es konnte nachgewiesen werden, dass das Verteilungsverhalten des Kontrastmittels von der Lebermorphologie und der Anwesenheit von Leberläsionen erheblich beeinflusst wird. Bei Patienten mit einer Leberpathologie ist gegenüber gesunden Kontrollen die Zeit bis zum Auftauchen des Kontrastmittels in der Lebervene verkürzt und die Zeit zwischen der Detektion in der Leberarterie bzw. Pfortader und der Lebervene ebenfalls verkürzt.

Der aussagekräftigste Parameter war die Zeit zwischen der Detektion des Kontrastmittels in der Portal- und der Lebervene. Bei Patienten mit einer Leberzirrhose und einem NHL mit Leberbeteiligung war diese am kürzesten, es folgten Patienten mit Lebermetastasen, FNH und NHL ohne Leberbeteiligung, die sich untereinander nur vereinzelt signifikant unterschieden.

Die klinischen Implikationen dieser Befunde werden diskutiert. Die Messung der Transitzeiten kann ohne zusätzlichen apparativen Aufwand im Rahmen der Kontrastmittelsonographie der Leber durchgeführt werden und liefert wertvolle Aufschlüsse in der Primär- und Verlaufsdagnostik von diffusen und fokalen Erkrankungen der Leber.

## 6 Literaturverzeichnis

Ahmad SA, Liu W, Jung YD, et al. Differential expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in colon carcinoma. A possible mechanism for the initiation of angiogenesis. *Cancer* 2001;92:1138-43.

Albrecht T, Urbank A, Mahler M, et al. Prolongation and optimization of Doppler enhancement with a microbubble US contrast agent by using continuous infusion: Preliminary experience. *Radiology* 1998;207:339-47.

Albrecht T, Blomley MJK, Cosgrove DO, et al. Non-invasive diagnosis of hepatic cirrhosis by transit-time analysis of an ultrasound contrast agent. *Lancet* 1999a;353:1579-83.

Albrecht T, Blomley MJK, Cosgrove DO, et al. Transit-time studies with Levovist in patients with and without hepatic cirrhosis: A promising new diagnostic tool. *Eur Radiol* 1999b;9:377-81.

Albrecht T, Blomley MJK, Heckemann RA, et al. Stimulierte akustische Emission mit dem Ultraschall-Kontrastmittel Levovist: Ein klinisch nutzbarer Kontrasteffekt mit leberspezifischen Eigenschaften. *Rofo* 2000;172:61-7.

Albrecht T, Hoffmann CW, Wolf KJ. Sonographie von Lebermetastasen mit leberspezifischem Kontrastmittel. *Radiologe* 2001;41:8-15.

Albrecht T, Blomley MJK, Burns PN, et al. Improved detection of hepatic metastases with pulse-inversion US during the liver-specific phase of SHU 508A: Multicenter study. *Radiology* 2003;227:361-70.

Albrecht T, Hohmann J, Oldenburg A, et al. Detection and characterisation of liver metastases. *Eur Radiol* 2004a;14 Suppl 8:P25-33.

Albrecht T, Blomley M, Bolondi L, et al. Guidelines for the use of contrast agents in ultrasound. *Ultraschall Med* 2004b;25:249-56.

- Bader W, Böhmer S, Otto W, et al. Texturanalyse: Ein neues Verfahren zur Beurteilung sonographisch darstellbarer Herdbefunde der Mamma. *Bildgebung* 1994;61: 284-90.
- Bang N, Nielsen MB, Rasmussen AN, et al. Hepatic vein transit time of an ultrasound contrast agent: Simplified procedure using pulse inversion imaging. *Br J Radiol* 2001;74:752-5.
- Bartolotta TV, Midiri M, Scialpi M, et al. Focal nodular hyperplasia in normal and fatty liver: A qualitative and quantitative evaluation with contrast-enhanced ultrasound. *Eur Radiol* 2003;14:583-91.
- Becher H, Burns PN: *Handbook of Contrast Echocardiography*. Frankfurt, New York: Springer Verlag, 2000.
- Beissert M, Jenett M, Keberle M, et al. Comparison of contrast harmonic imaging in B-mode with stimulated acoustic emission, conventional B-mode US and spiral CT in the detection of focal liver lesions. *Rofa* 2000;172:361-6.
- Bernatik T, Strobel D, Hahn EG, et al. Detection of liver metastases: Comparison of contrast-enhanced wide-band harmonic imaging with conventional ultrasonography. *J Ultrasound Med* 2001;20:509-15.
- Bernatik T, Strobel D, Häusler J, et al. Hepatische Transitzeit eines Echosignalverstärkers als Indikator einer Lebermetastasierung – erste klinische Ergebnisse. *Ultraschall Med* 2002;23:91-5.
- Bertolini F, Paolucci M, Peccatori F, et al. Angiogenic growth factors and endostatin in non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 1999;106:504-9.
- Bleuzen A, Tranquart F. Incidental liver lesions: diagnostic value of cadence contrast pulse sequencing (CPS) and SonoVue. *Eur Radiol* 2004;14 Suppl 8:P53-62.
- Blomley MJK, Albrecht T, Cosgrove DO, et al. Liver vascular transit time analyzed with dynamic hepatic venography with bolus injections of an US contrast agent: Early experience in seven patients with metastases. *Radiology* 1998;209:862-6.

- Blomley MJK, Lim AK, Harvey CJ, et al. Liver microbubble transit time compared with histology and Child-Pugh score in diffuse liver disease: A cross sectional study. *Gut* 2003;52:1188-93.
- Bolondi L, Correas JM, Lencioni R, et al. New perspectives for the use of contrast-enhanced liver ultrasound in clinical practice. *Dig Liver Dis* 2007;39:187-95.
- Burns PN, Wilson SR. Microbubble contrast for radiological imaging: 1. Principles. *Ultrasound Q* 2006;22:5-13.
- Cassano E, Rizzo S, Bozzini A, et al. Contrast enhanced ultrasound of breast cancer. *Cancer Imaging* 2006;31:4-6.
- Correas JM, Bridal L, Lesavre A, et al. Ultrasound contrast agents: properties, principles of action, tolerance, and artifacts. *Eur Radiol* 2001;11:1316-28.
- Cosgrove DO, Blomley MJK, Eckersley RJ, et al. Innovative Verfahren in der ultraschall-spezifischen Kontrastmittelbildgebung. *electromedica* 2002;70:163-6.
- Crivellato E, Nico B, Vacca A, et al. Beta-cell non-Hodgkin's lymphomas express heterogeneous patterns of neovascularization. *Haematologica* 2003;88:671-8.
- Cuenod CA, Leconte I, Siauve N, et al. Early changes in liver perfusion caused by occult metastases in rats: Detection with quantitative CT. *Radiology* 2001;218:556-61.
- Dietrich CF. Characterisation of focal liver lesions with contrast enhanced ultrasonography. *Eur J Radiol* 2004;51 Suppl:S9-17.
- Dietrich CF, Becker D. Signalverstärkte Sonographie verbessert Nachweis von Leber Raumforderungen. *Dtsch Ärztebl* 2002;99:A1666-72.
- Dussik KT. On the possibility of using ultrasound waves as a diagnostic aid. *Z Neurol Psychiatr* 1942;174:153-68.
- Fuentes MA, Keith CJ, Griffiths M, et al. Hepatic haemodynamics: Interrelationships between contrast enhancement and perfusion on CT and Doppler perfusion indices. *Br J Radiol* 2002;75:17-23.

- Gebel M, Caselitz M, Bowen-Davies PE, et al. A multicenter, prospective, open label, randomized, controlled phase IIIb study of SH U 508 A (Levovist®) for Doppler signal enhancement in the portal vascular system. *Ultraschall Med* 1998;19: 148-56.
- Giles FJ. The emerging role of angiogenesis inhibitors in hematologic malignancies. *Oncology* 2002;16:23-9.
- Gramiak R, Shah PM. Echocardiography of the aortic root. *Invest Radiol* 1968;3: 356-66.
- Harvey CJ, Blomley MJ, Eckersley RJ, et al. Pulse-inversion mode imaging of liver specific microbubbles: Improved detection of subcentimetre metastases. *Lancet* 2000;355:807-8.
- Hoffmann D (2005): Diagnostik des Leberherds. 40. Kongress der Ärztekammer Nordwürttemberg, 28.-30.1.2005, Stuttgart.  
<http://www.aerztekkammer-bw.de/25/15medizin05/A14/2.pdf>
- Hohmann J, Albrecht T, Oldenburg A, et al. Liver metastases in cancer: Detection with contrast-enhanced ultrasonography. *Abdom Imaging* 2004;29:669-81.
- Hohmann J, Müller C, Oldenburg A, et al. Hepatic transit time analysis using contrast-enhanced ultrasound with BR1: a prospective study comparing patients with liver metastases from colorectal cancer with healthy volunteers. *Ultrasound Med Biol*: 2009;Epub ahead of print.
- Jakab F, Rath Z, Schmal F, et al. Changes in hepatic hemodynamics due to primary liver tumours. *HPB Surg* 1996a;9:245-8.
- Jakab F, Sugar I, Rath Z, et al. The relationship between portal venous and hepatic arterial blood flow. I. Experimental liver transplantation. *HPB Surg* 1996b; 10:21-6.
- Jang HJ, Lim HK, Lee WJ, et al. Focal hepatic lesions: Evaluation with contrast-enhanced gray-scale harmonic US. *Korean J Radiol* 2003;4:91-100.

- 
- Kim JH, Kim TK, Kim BS, et al. Enhancement of hepatic hemangiomas with Levovist on coded harmonic angiographic ultrasonography. *J Ultrasound Med* 2002;21:141-8.
- Kinkel K, Lu Y, Both M, et al. Detection of hepatic metastases from cancers of the gastrointestinal tract by using noninvasive imaging methods (US, CT, MR imaging, PET): A meta-analysis. *Radiology* 2002;224:748-56.
- Lautt WW. Mechanism and role of intrinsic regulation of hepatic arterial blood flow: Hepatic arterial buffer response. *Am J Physiol* 1985;249:549-56.
- Leen E. The detection of occult liver metastases of colorectal carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1999;6:7-15.
- Leen E, Goldberg JA, Anderson JR, et al. Hepatic perfusion changes in patients with liver metastases: Comparison with those patients with cirrhosis. *Gut* 1993a;34:554-7.
- Leen E, Goldberg JA, Robertson J, et al. Early detection of occult colorectal hepatic metastases using duplex colour Doppler sonography. *Br J Surg* 1993b;80:1249-51.
- Leen E, Angerson WJ, Wotherspoon H, et al. Detection of colorectal liver metastases: Comparison of laparotomy, CT, US, and Doppler perfusion index and evaluation of postoperative follow-up results. *Radiology* 1995;195:113-6.
- Leen E, Goldberg JA, Angerson WJ, et al. Potential role of Doppler perfusion index in selection of patients with colorectal cancer for adjuvant chemotherapy. *Lancet* 2000;355:34-7.
- List AF. Vascular endothelial growth factor signaling pathway as an emerging target in hematologic malignancies. *Oncologist* 2001;6:24-31.
- Lucidarme O, Correas JM, Bridal SL, et al. Quantification of ultrasound contrast agent response: Comparison of continuous wave Doppler and power Doppler to backscattered radiofrequency data. *Ultrasound Med Biol* 2001;27:1379-86.

- Lucidarme O, Franchi-Abella S, Correas J-M, et al. Blood flow quantification with contrast-enhanced US: "Entrance in the section" phenomenon—phantom and rabbit study. *Radiology* 2003;228:473-9.
- Mergo PJ, Ros PR, Buetow PC, et al. Diffuse disease of the liver: Radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 1994;14:1291-307.
- Mitsubishi N, Shimizu H, Ohtsuka M, et al. Angiopoietins and Tie-2 expression in angiogenesis and proliferation of human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2003;37:1105-13.
- Morel DR, Schwieger I, Hohn L, et al. Human pharmacokinetics and safety evaluation of SonoVue™, a new contrast agent for ultrasound imaging. *Invest Radiol* 2000;35:80-5.
- Nakata M, Nakamura K, Koda Y, et al. Hemodynamics in the microvasculature of thioacetamide-induced cirrhotic rat livers. *Hepatogastroenterology* 2002;49:652-6.
- Nott DM, Grime JS, Yates J, et al. Changes in the hepatic perfusion index during the growth and development of experimental hepatic micrometastases. *Nucl Med Commun* 1987;8:995-1000.
- Oppo K, Leen E, Angerson WJ, et al. The effect of resecting the primary tumour on the Doppler Perfusion Index in patients with colorectal cancer. *Clin Radiol* 2000;55:791-3.
- Ordén M-R, Jurvelin JS, Kirkinen PP. Kinetics of a US contrast agent in benign and malignant adnexal tumors. *Radiology* 2003;226:405-10.
- Papamichael D. Prognostic role of angiogenesis in colorectal cancer. *Anticancer Res* 2001;21:4349-53.
- Paradis V, Bieche I, Dargere D, et al. A quantitative gene expression study suggests a role for angiopoietins in focal nodular hyperplasia. *Gastroenterology* 2003;124:651-9.



- Patton CA, Harris GR, Phillips RA. Output levels and bioeffects indices from diagnostic ultrasound exposure data reported to the FDA. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 1994;41:353-59.
- Pazgal I, Zimra Y, Tzabar C, et al. Expression of basic fibroblast growth factor is associated with poor outcome in non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Cancer* 2002;5: 1770-5.
- Peschl R. Differentialdiagnose fokaler Leberläsionen im Ultraschall mit Hilfe von BR1, einem Echosignalverstärker der zweiten Generation. Dissertation, Medizinische Universität Innsbruck 2003.
- Peschl R, Werle A, Mathis G. Differential diagnosis of focal liver lesions in signal-enhanced ultrasound using BR 1, a second-generation ultrasound signal enhancer. *Dig Dis* 2004;22:73-80.
- Poon RT, Fan ST, Wong J. Clinical implications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *J Clin Oncol* 2001;19:1207-25.
- Pralhad T, Madhusudan S, Rajendrakumar K. Concept, mechanisms and therapeutics of angiogenesis in cancer and other diseases. *J Pharm Pharmacol* 2003;55: 1045-53.
- Quaia E, Bertolotto M, Dalla Palma L. Characterization of liver hemangiomas with pulse inversion harmonic imaging. *Eur Radiol* 2002;12:537-44.
- Quaia E, Bertolotto M, Calderan L, et al. US characterization of focal hepatic lesions with intermittent high-acoustic-power mode and contrast material. *Acad Radiol* 2003;10:739-50.
- Quaia E, Calliada F, Bertolotto M, et al. Characterization of focal liver lesions with contrast-specific US modes and a sulfur hexafluoride-filled microbubble contrast agent: Diagnostic performance and confidence. *Radiology* 2004;232:420-30.
- Ribatti D, Vacca A, De Falco G, et al. Angiogenesis, angiogenic factor expression and hematological malignancies. *Anticancer Res* 2001;21:4333-9.

- Ricci P, Laghi A, Cantisani V, et al. Contrast-enhanced sonography with SonoVue: Enhancement patterns of benign focal liver lesions and correlation with dynamic gadobenate dimeglumine-enhanced MRI. *Am J Roentgenol* 2005;184:821-7.
- Richter S, Mücke I, Menger MD, et al. Impact of intrinsic blood flow regulation in cirrhosis: Maintenance of hepatic arterial buffer response. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;279:454-62.
- Richter S, Vollmar B, Mücke I, et al. Hepatic arteriolo-portal venular shunting guarantees maintenance of nutritional microvascular supply in hepatic arterial buffer response of rat livers. *J Physiol* 2001;15:193-201.
- Rofsky NM, Fleishaker H. CT and MRI of diffuse liver disease. *Semin Ultrasound CT MR* 1995;16:16-33.
- Rypins EB, Fajman W, Sarper R, et al. Radionuclide angiography of the liver and spleen. Noninvasive method for assessing the ratio of portal venous to total hepatic blood flow and portasystemic shunt patency. *Am J Surg* 1981;142:574-9.
- Sanford NL, Walsh P, Matis C, et al. Is ultrasonography useful in the assessment of diffuse parenchymal liver disease? *Gastroenterology* 1985;89:186-91.
- Sarper R, Fajman WA, Rypins EB, et al. A noninvasive method for measuring portal venous/total hepatic blood flow by hepatosplenic radionuclide angiography. *Radiology* 1981;141:179-84.
- Schneider M, Arditi M, Barrau MB, et al. BR1: A new ultrasonographic contrast agent based on sulfur hexafluoride-filled microbubbles. *Invest Radiol* 1995;30:451-7.
- Schneider M, Broillet A, Arditi M, et al. Doppler intensitometry with BR1, a sonographic contrast agent. *Acad Radiol* 1996;3:308-11.
- Schwarz KQ, Bezante GP, Chen X, et al. Quantitative echo contrast concentration measurement by Doppler sonography. *Ultrasound Med Biol* 1993;19:289-97.
- Sharma RA, Dalglish AG, Steward WP, et al. Angiogenesis and the immune response as targets for the prevention and treatment of colorectal cancer (review). *Oncol Rep* 2003;10:1625-31.

- 
- Solbiati L, Cova L, Ierace T, et al. Liver cancer imaging: The need for accurate detection of intrahepatic disease spread. *J Comput Assist Tomogr* 1999;23: 29-37.
- Solbiati L, Tonolini M, Cova L. Monitoring RF ablation. *Eur Radiol* 2004a;14 Suppl 8: P34-42.
- Solbiati L, Ierace T, Tonolini M, et al. Guidance and monitoring of radiofrequency liver tumor ablation with contrast-enhanced ultrasound. *Eur J Radiol* 2004b;51 Suppl: S19-23.
- Strobel D, Raeker S, Martus P, et al. Phase inversion harmonic imaging versus contrast-enhanced power Doppler sonography for the characterization of focal liver lesions. *Int J Colorectal Dis* 2003;18:63-72.
- Sugimoto H, Kaneko T, Hirota M, et al. Earlier hepatic vein transit-time measured by contrast ultrasonography reflects intrahepatic hemodynamic changes accompanying cirrhosis. *J Hepatol* 2002;37:578-83.
- Uggowitz M, Kugler C, Gröll R, et al. Sonographic evaluation of focal nodular hyperplasias (FNH) of the liver with a transpulmonary galactose-based contrast agent (Levovist). *Br J Radiol* 1998;71:1026-32.
- van Beers BE, Materne R, Annet L, et al. Capillarization of the sinusoids in liver fibrosis: Noninvasive assessment with contrast-enhanced MRI in the rabbit. *Magn Reson Med* 2003;49:692-9.
- Warren HW, Gallagher H, Hemingway DM, et al. Prospective assessment of the hepatic perfusion index in patients with colorectal cancer. *Br J Surg* 1998;85:1708-12.
- Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis – correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
- Wilson SR, Burns PN. Liver mass evaluation with ultrasound: the impact of microbubble contrast agents and pulse inversion imaging. *Semin Liver Dis* 2001;21:147-59.

---

Wilson SR, Burns PN, Muradali D, et al. Harmonic hepatic US with microbubble contrast agent: Initial experience showing improved characterization of hemangioma, hepatocellular carcinoma, and metastasis. *Radiology* 2000;215:153-61.

Zhou X, Strobel D, Haensler J, et al. Hepatic transit time: indicator of the therapeutic response to radiofrequency ablation of liver tumours. *Br J Radiol* 2005;78:433-6.

Zipprich A, Steudel N, Behrmann C, et al. Functional significance of hepatic arterial flow reserve in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2003;37:385-92.

## 7 Anhang

### 7.1 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| ABBILDUNG 1: LOGIQ 7 DER FA. GENERAL ELECTRIC.....  | 12 |
| ABBILDUNG 2: ANGABE DES MECHANISCHEN INDEX (MI) IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TIEFE DES FOKUSPUNKTS FÜR EINEN AKUSTISCHEN OUTPUT VON 10, 12 BZW. 14 %.....  | 15 |
| ABBILDUNG 3: ENHANCEMENT IN DER NÄHE DER V. CAVA (KREIS).....   | 17 |
| ABBILDUNG 4A: FRÜHESTE DETEKTION VON KONTRASTMITTELBLÄSCHEN IN DER LEBERARTERIE (OBEN, NACH 8 SEKUNDEN) BZW. DER PFORTADER (UNTEN, NACH 11 SEKUNDEN) BEI EINEM GESUNDEN.....                      | 18 |
| ABBILDUNG 5: ALTER DER PATIENTEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DIAGNOSE. ZUR LEGENDE S. SEITE 31  | 23 |
| ABBILDUNG 6: SCHEMATISCHES WEG-ZEIT-DIAGRAMM DER KONTRASTMITTEL-TRANSITZEITEN, MITTELWERTE ALLER PATIENTEN .....  | 24 |
| ABBILDUNG 7A: FRÜHESTE DETEKTION VON KONTRASTMITTELBLÄSCHEN IN DER LEBERARTERIE (OBEN, NACH 15 SEKUNDEN) BZW. DER PFORTADER (UNTEN, NACH 18 SEKUNDEN) BEI EINEM PATIENTEN MIT LEBERMETASTASE..... | 25 |
| ABBILDUNG 8A: FRÜHESTE DETEKTION VON KONTRASTMITTELBLÄSCHEN IN DER LEBERARTERIE (OBEN, NACH 9 SEKUNDEN) BZW. DER PFORTADER (UNTEN, NACH 11 SEKUNDEN) BEI EINEM PATIENTEN MIT FNH.....             | 27 |
| ABBILDUNG 9A: FRÜHESTE DETEKTION VON KONTRASTMITTELBLÄSCHEN IN DER LEBERARTERIE (OBEN, NACH 9 SEKUNDEN) BZW. DER PFORTADER (UNTEN, NACH 17 SEKUNDEN) BEI EINEM PATIENTEN MIT LEBERZIRRHOSE .....  | 29 |
| ABBILDUNG 10: ZEIT BIS ZUR DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERARTERIE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DIAGNOSE. ZUR LEGENDE S. SEITE 31 .....  | 33 |
| ABBILDUNG 11: ZEIT BIS ZUR DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER PFORTADER IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DIAGNOSE. ZUR LEGENDE S. SEITE 31 .....   | 34 |
| ABBILDUNG 12: ZEIT BIS ZUR DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERVENE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DIAGNOSE. ZUR LEGENDE S. SEITE 31 .....   | 36 |
| ABBILDUNG 13: ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERARTERIE UND IN DER PFORTADER IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DIAGNOSE. ZUR LEGENDE S. SEITE 31                                  | 37 |
| ABBILDUNG 14: ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERARTERIE UND IN DER LEBERVENE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DIAGNOSE. ZUR LEGENDE S. SEITE 31                                  | 39 |
| ABBILDUNG 15: ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER PFORTADER UND IN DER LEBERVENE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DIAGNOSE. ZUR LEGENDE S. SEITE 31                                     | 40 |

|   |    |
|---|----|
| ABBILDUNG 16: TRANSITZEIT ZWISCHEN PORTAL- UND LEBERVENE BEI PATIENTEN MIT LEBERMETASTASEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER GRÖÖÖE (N. SIGNIFIKANT).....   | 42 |
| ABBILDUNG 17A: ..... REGRESSION ZWISCHEN ALTER UND ZEIT BIS ZUR DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERARTERIE .....   | 43 |
| ABBILDUNG 18: ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERARTERIE UND IN DER LEBERVENE (ALTERSADJUSTIERT) IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DIAGNOSE. ZUR LEGENDE S. SEITE 31 .....           | 47 |
| ABBILDUNG 19: ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER PFORTADER UND IN DER LEBERVENE (ALTERSADJUSTIERT) IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DIAGNOSE. ZUR LEGENDE S. SEITE 31                    | 48 |
| ABBILDUNG 20: GRÖÖÖENABHÄNGIGKEIT DER TRANSITZEITEN BEI FNH UND METASTASEN....  | 49 |
| ABBILDUNG 21: SCHEMATISCHES WEG-ZEIT-DIAGRAMM DER KONTRASTMITTEL-TRANSITZEITEN, AUFGETEILT NACH DIAGNOSEN.....  | 51 |
|   |    |
| TABELLE 1: ZUSAMMENSETZUNG DES PATIENTENKOLLEKTIVS .....  | 9  |
| TABELLE 2: ERGEBNIS DER SIGNIFIKANZPRÜFUNG DER GRUPPENUNTERSCHIEDE BEZÜGLICH DES ALTERS DER PATIENTEN .....   | 23 |
| TABELLE 3: TRANSITZEIT ZWISCHEN PORTAL- UND LEBERVENE BEI PATIENTEN MIT LEBERZIRRHOSE IN ABHÄNGIGKEIT VOM CHILD-PUGH-STADIUM (N. SIGNIFIKANT) .....   | 32 |
| TABELLE 4: ERGEBNIS DER SIGNIFIKANZPRÜFUNG DER GRUPPENUNTERSCHIEDE BEZÜGLICH DER ZEIT BIS ZUR DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERARTERIE .....   | 33 |
| TABELLE 5: ERGEBNIS DER SIGNIFIKANZPRÜFUNG DER GRUPPENUNTERSCHIEDE BEZÜGLICH DER ZEIT BIS ZUR DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER PFORTADER .....  | 35 |
| TABELLE 6: ERGEBNIS DER SIGNIFIKANZPRÜFUNG DER GRUPPENUNTERSCHIEDE BEZÜGLICH DER ZEIT BIS ZUR DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER PFORTADER .....  | 36 |
| TABELLE 7: ERGEBNIS DER SIGNIFIKANZPRÜFUNG DER GRUPPENUNTERSCHIEDE BEZÜGLICH DER ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERARTERIE UND IN DER PFORTADER .....                     | 38 |
| TABELLE 8: ERGEBNIS DER SIGNIFIKANZPRÜFUNG DER GRUPPENUNTERSCHIEDE BEZÜGLICH DER ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERARTERIE UND IN DER LEBERVENE .....                     | 39 |
| TABELLE 9: ERGEBNIS DER SIGNIFIKANZPRÜFUNG DER GRUPPENUNTERSCHIEDE BEZÜGLICH DER ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER PFORTADER UND IN DER LEBERVENE .....                        | 41 |
| TABELLE 10: ERGEBNISSE DER LINEAREN REGRESSION DER TRANSITZEITEN MIT DEM ALTER  | 43 |
| TABELLE 11: ERGEBNIS DER SIGNIFIKANZPRÜFUNG DER GRUPPENUNTERSCHIEDE BEZÜGLICH DER ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER LEBERARTERIE UND IN DER LEBERVENE (ALTERSADJUSTIERT) ..... | 46 |

|  |    |
|--|----|
| TABELLE 12: ERGEBNIS DER SIGNIFIKANZPRÜFUNG DER GRUPPENUNTERSCHIEDE BEZÜGLICH DER ZEIT ZWISCHEN DER DETEKTION DES KONTRASTMITTELS IN DER PFORTADER UND IN DER LEBERVENE (ALTERSADJUSTIERT) ..... | 48 |
| TABELLE 13: DESKRIPTIVE AUSWERTUNG DER MESSWERTE, GESAMTGRUPPE .....   | 74 |
| TABELLE 14: DESKRIPTIVE AUSWERTUNG DER MESSWERTE, AUFGETEILT NACH DIAGNOSEN  | 74 |

## 7.2 Tabellarium

Tabelle 13: Deskriptive Auswertung der Messwerte, Gesamtgruppe

|                         | Mittelwert | Std.-Abw. | Me-<br>dian | Minimum | Maximum | # k. A. |
|-------------------------|------------|-----------|-------------|---------|---------|---------|
| Zeit bis...             | 9,0        | 2,7       | 8,0         | 4,0     | 20,0    | 0       |
| ...A. hep. (s)          |            |           |             |         |         |         |
| ...V. port. (s)         | 12,9       | 3,7       | 12,0        | 6,0     | 26,0    | 0       |
| ...V. hep. (s)          | 17,6       | 4,0       | 17,0        | 9,0     | 26,0    | 1       |
| Zeit zwischen ...       | 4,0        | 2,2       | 4,0         | ,0      | 13,0    | 0       |
| ...A. hep.-V. port. (s) |            |           |             |         |         |         |
| ...A. hep.-V. hep. (s)  | 8,7        | 2,8       | 8,0         | 3,0     | 16,0    | 1       |
| ...V. port.-V. hep (s)  | 4,9        | 3,4       | 4,0         | -6,0    | 13,0    | 1       |
| Läsionsgröße (cm)       | 4,1        | 2,6       | 3,5         | 1,0     | 14,0    | 58      |

Tabelle 14: Deskriptive Auswertung der Messwerte, aufgeteilt nach Diagnosen

|                            | Mittelwert | Std.-Abw. | Median | Minimum | Maxi-<br>mum | # k. A. |
|----------------------------|------------|-----------|--------|---------|--------------|---------|
| A. hep. (s), Gesamtgruppe  | 9,0        | 2,7       | 8,0    | 4,0     | 20,0         | 0       |
| Zirrhose                   | 9,9        | 2,7       | 9,5    | 6,0     | 14,0         | 0       |
| Kontrollen                 | 9,7        | 2,3       | 9,0    | 7,0     | 15,0         | 0       |
| FNH                        | 7,2        | 1,9       | 7,0    | 4,0     | 12,0         | 0       |
| Metastase                  | 9,5        | 3,1       | 8,5    | 6,0     | 20,0         | 0       |
| NHL m. Leberbeteiligung    | 8,2        | 1,8       | 8,0    | 6,0     | 11,0         | 0       |
| NHL o. Leberbeteiligung    | 9,0        | 3,2       | 8,5    | 4,0     | 13,0         | 0       |
| V. port. (s), Gesamtgruppe | 12,9       | 3,7       | 12,0   | 6,0     | 26,0         | 0       |
| Zirrhose                   | 15,8       | 4,4       | 16,0   | 6,0     | 24,0         | 0       |
| Kontrollen                 | 12,5       | 2,5       | 12,0   | 9,0     | 18,0         | 0       |
| FNH                        | 10,1       | 2,8       | 11,0   | 6,0     | 14,0         | 0       |

|                                  | Mittelwert | Std.-Abw. | Median | Minimum | Maximum | # k. A. |
|----------------------------------|------------|-----------|--------|---------|---------|---------|
| Metastase                        | 14,0       | 4,2       | 14,0   | 7,0     | 26,0    | 0       |
| NHL m. Leberbeteiligung          | 11,9       | 1,8       | 12,0   | 9,0     | 15,0    | 0       |
| NHL o. Leberbeteiligung          | 12,1       | 3,1       | 12,0   | 6,0     | 17,0    | 0       |
| V. hep. (s), Gesamtgruppe        | 17,6       | 4,0       | 17,0   | 9,0     | 26,0    | 1       |
| Zirrhose                         | 16,6       | 3,3       | 17,0   | 10,0    | 23,0    | 0       |
| Kontrollen                       | 21,6       | 2,7       | 21,0   | 17,0    | 26,0    | 0       |
| FNH                              | 15,4       | 3,6       | 16,0   | 9,0     | 21,0    | 0       |
| Metastase                        | 17,8       | 3,2       | 18,0   | 13,0    | 26,0    | 1       |
| NHL m. Leberbeteiligung          | 14,1       | 2,1       | 14,0   | 11,0    | 17,0    | 0       |
| NHL o. Leberbeteiligung          | 17,5       | 4,5       | 17,5   | 9,0     | 24,0    | 0       |
| A. hep.-V. port. (s), Ges.gr.    | 4,0        | 2,2       | 4,0    | ,0      | 13,0    | 0       |
| Zirrhose                         | 5,8        | 3,1       | 6,0    | ,0      | 11,0    | 0       |
| Kontrollen                       | 2,8        | ,9        | 3,0    | ,0      | 4,0     | 0       |
| FNH                              | 3,8        | 2,9       | 3,0    | 1,0     | 13,0    | 0       |
| Metastase                        | 4,5        | 2,0       | 5,0    | ,0      | 8,0     | 0       |
| NHL m. Leberbeteiligung          | 3,7        | 1,1       | 4,0    | 2,0     | 5,0     | 0       |
| NHL o. Leberbeteiligung          | 3,1        | 1,6       | 3,0    | 1,0     | 6,0     | 0       |
| A. hep.-V. hep. (s), Ges.gr.     | 8,7        | 2,8       | 8,0    | 3,0     | 16,0    | 1       |
| Zirrhose                         | 6,7        | 1,5       | 7,0    | 4,0     | 9,0     | 0       |
| Kontrollen                       | 11,9       | 2,1       | 12,0   | 9,0     | 16,0    | 0       |
| FNH                              | 8,2        | 2,8       | 8,0    | 3,0     | 13,0    | 0       |
| Metastase                        | 8,6        | 2,3       | 8,0    | 5,0     | 14,0    | 1       |
| NHL m. Leberbeteiligung          | 5,9        | 1,6       | 6,0    | 4,0     | 8,0     | 0       |
| NHL o. Leberbeteiligung          | 8,5        | 2,6       | 7,0    | 5,0     | 13,0    | 0       |
| V. port.-V. hep (s), Ges.gr.     | 4,9        | 3,4       | 4,0    | -6,0    | 13,0    | 1       |
| Zirrhose                         | ,8         | 3,5       | 1,0    | -6,0    | 5,0     | 0       |
| Kontrollen                       | 9,1        | 2,0       | 9,0    | 6,0     | 13,0    | 0       |
| FNH                              | 5,5        | 1,9       | 5,0    | 2,0     | 9,0     | 0       |
| Metastase                        | 4,2        | 2,7       | 4,0    | -1,0    | 11,0    | 1       |
| NHL m. Leberbeteiligung          | 2,2        | 1,2       | 2,0    | ,0      | 4,0     | 0       |
| NHL o. Leberbeteiligung          | 5,4        | 2,5       | 5,5    | 1,0     | 10,0    | 0       |
| A. hep. (adj.), Ges.gr.          | 5,9        | 2,6       | 5,6    | 1,3     | 15,7    | 1       |
| Zirrhose                         | 6,4        | 2,5       | 6,4    | 2,3     | 10,1    | 0       |
| Kontrollen                       | 7,0        | 2,1       | 6,7    | 4,8     | 12,4    | 0       |
| FNH                              | 5,3        | 2,1       | 5,1    | 1,6     | 10,3    | 0       |
| Metastase                        | 5,9        | 3,0       | 5,1    | 1,6     | 15,7    | 0       |
| NHL m. Leberbeteiligung          | 4,7        | 1,9       | 5,3    | 1,3     | 7,1     | 0       |
| NHL o. Leberbeteiligung          | 5,3        | 2,8       | 4,5    | 1,5     | 9,7     | 1       |
| V. port. (adj.), Ges.gr.         | 7,8        | 3,4       | 8,1    | -1,6E-2 | 19,0    | 1       |
| Zirrhose                         | 10,1       | 4,1       | 10,5   | -1,6E-2 | 17,7    | 0       |
| Kontrollen                       | 8,2        | 2,0       | 8,2    | 5,1     | 12,0    | 0       |
| FNH                              | 7,0        | 3,0       | 8,0    | 2,1     | 11,2    | 0       |
| Metastase                        | 8,1        | 4,2       | 8,2    | 1,7     | 19,0    | 0       |
| NHL m. Leberbeteiligung          | 6,3        | 2,0       | 6,8    | 2,4     | 8,4     | 0       |
| NHL o. Leberbeteiligung          | 6,3        | 2,9       | 6,8    | 2,0     | 10,6    | 1       |
| A. hep.-V. hep. (adj.), Ges.gr.  | 10,9       | 2,7       | 10,3   | 4,0     | 17,9    | 2       |
| Zirrhose                         | 9,3        | 1,5       | 9,7    | 6,8     | 12,2    | 0       |
| Kontrollen                       | 13,9       | 2,1       | 13,8   | 10,5    | 17,9    | 0       |
| FNH                              | 9,7        | 2,8       | 9,8    | 4,0     | 14,1    | 0       |
| Metastase                        | 11,3       | 2,3       | 11,2   | 7,4     | 17,3    | 1       |
| NHL m. Leberbeteiligung          | 8,5        | 1,7       | 8,6    | 6,2     | 10,5    | 0       |
| NHL o. Leberbeteiligung          | 10,7       | 2,2       | 9,8    | 6,8     | 14,1    | 1       |
| V. port.-V. hep. (adj.), Ges.gr. | 9,0        | 3,2       | 9,0    | -,7     | 17,0    | 2       |
| Zirrhose                         | 5,6        | 3,4       | 5,2    | -,7     | 10,9    | 0       |
| Kontrollen                       | 12,7       | 1,9       | 12,3   | 9,8     | 16,6    | 0       |
| FNH                              | 8,1        | 1,8       | 8,0    | 3,8     | 11,3    | 0       |
| Metastase                        | 9,1        | 2,8       | 8,8    | 2,6     | 17,0    | 1       |
| NHL m. Leberbeteiligung          | 6,9        | 1,5       | 7,0    | 4,0     | 9,4     | 0       |



---

|                         | Mittelwert | Std.-Abw. | Median | Minimum | Maximum | # k. A. |
|-------------------------|------------|-----------|--------|---------|---------|---------|
| NHL o. Leberbeteiligung | 9,7        | 2,0       | 10,2   | 6,1     | 12,4    | 1       |
| Größe, Ges.gr.          | 4,1        | 2,6       | 3,5    | 1,0     | 14,0    | 58      |
| FNH                     | 5,1        | 2,5       | 4,0    | 1,9     | 9,6     | 0       |
| Metastase               | 3,5        | 2,5       | 3,3    | 1,0     | 14,0    | 5       |

## 8 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. T. Albrecht für die Vergabe des Themas und die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Enz-Rüdiger von Leitner, in dessen Klinik die für die Arbeit erforderlichen Untersuchungen durchgeführt werden konnten.

Herrn Dr. med. Hans-Peter Weskott bin ich zu besonderem Dank verpflichtet, da er mein Vorhaben von Beginn an mit großer Hingabe und viel Engagement unterstützt und mir unzählige wertvolle Hinweise gegeben hat.

## 9 Lebenslauf

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."



## 10 Erklärung

Ich, Martin Kolditz, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Leber-Transitzeiten eines Ultraschall-Kontrastmittels (SonoVue®) bei fokalen und nicht-fokalen Läsionen der Leber“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Datum

Unterschrift