

Aus der Klinik für Strahlenheilkunde, Campus Virchow Klinikum
der Medizinischen Fakultät Charité-Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Thema

**Die Magnetresonanztomographie des hepatozellulären Karzinoms in Zirrhose mit
hepatozytenspezifischem Kontrastmittel Gd-EOB-DTPA und
Korrelation mit dem zytometrisch bestimmten DNA-Index**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dipl.-Med. Siegbert Kobi
aus Malchow

Gutachter/in:

1. Priv.-Doz. Dr. med. R. Röttgen

2. Prof. Dr. med.R-J. Schröder

3. Priv.-Doz. Dr. med. E.Lopez Hänninen

Datum der Promotion:

05.06.2011

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1	
Abkürzungsverzeichnis	3	
Abbildungsverzeichnis	7	
Tabellenverzeichnis	10	
1	Einleitung	12
2	Grundlagen	16
2.1	Medizinische und biologische Grundlagen	16
2.1.1	Chirurgische Epidemiologie und Ätiologie	16
2.1.2	Pathogenese	18
2.1.3	Pathologie des HCC	20
2.1.4	Fibrolamelläre Karzinom	23
2.2	TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung des HCC	23
2.3	Prognosefaktoren	27
2.4	Klinische Symptomatologie	30
2.5	Diagnostik und Staging	31
2.5.1	Tumormarker	31
2.5.2	Ultraschalldiagnostik	32
2.5.3	Computertomographie	33
2.5.4	Magnetresonanztomographie	34
2.5.4.1	Nativdiagnostik des HCC in der MRT	35
2.5.4.2	Kontrastmittelverstärkte Diagnostik des HCC in der MRT	37
2.5.4.3	Superparamagnetische Kontrastmittel	39
2.5.5	Primovist®	41
2.5.5.1	Pharmakokinetik von Primovist®	42
2.5.5.2	Sicherheit und Verträglichkeit von Primovist®	42
2.5.5.3	Dosierung und Darreichungsform von Primovist®	42
2.5.5.4	Bildgebendes Prinzip von Primovist®	42
2.6	Angiographie	43
2.7	Positronenemissionstomographie	43
2.8	Staging-Laparoskopie	43
3	Mikroskopische Diagnostik	45
3.1	Die Bedeutung der statischen DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie	46
3.2	Biologischer Hintergrund der DNA-Zytometrie	47
3.3	Untersuchungsmaterial	49
3.3.1	Vorbereitung des Untersuchungsmaterials für die DNA-Zytophotometrie	49
3.3.1.1	Isolation von Zellen	49
3.3.1.2	Fixierung	49
3.3.1.3	Färben	50

3.4	Messtechnik	50
3.5	Die diagnostische Interpretation	50
3.6	Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Diagnostik	51
3.6.1	Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie des Mammakarzinoms	52
3.6.2	Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie des Prostata-, Harnblasen- und Nierenzellkarzinoms	53
3.6.3	Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie des Gallengangs- und hepatozellulären Karzinoms	53
3.6.4	Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie von Ergüssen, Weichteil- und gastrointestinalen Tumoren	54
4	Therapieziele und Indikationsstellung	55
4.1	Hepatozelluläres Karzinom in Zirrhose-Resektion	56
4.2	Transplantation	58
5	Hypothese der vorliegenden Arbeit	60
6	Patienten und Methode	62
6.1	MR-Sequenzen und Tumorcharakteristika	62
6.2	Auswertung der MRT-Bilder	67
6.3	Präparation des paraffineingebetteten Archivmaterials für die DNA-Zytophotometrie	68
6.3.1	Schneiden und Dehydrieren	68
6.3.2	Enzymatische Zellseparation	68
6.3.3	Präparation der Pepsin-Lösung	69
6.4	Statistische Auswertung	73
7	Ergebnisse	75
8	Diskussion	105
9	Zusammenfassung	114
10	Ergebnistabellen	115
	Literaturverzeichnis	123
	Danksagung	132
	Erklärung	133

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent (1 von 100)
AC	Asymmetriekoeffizient
adj.	adjustiert
AFP	alpha-Fetoprotein
art.	arteriell
AU	arbitrary units
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BCLC	Barcelona Clinic Liver Cancer
c	haploider Chromosomensatz
Ca	Karzinom
CCC	cholangiozelluläres Karzinom
CLIP	Cancer of the Liver Italien Programm
CT	Computertomographie
DGVS	Deutsche Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten
DI	DNA-Index
DNA	Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid)
DNA-PG	DNA-Ploidiegrad
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
dyn.	dynamisch
EASL	European Association for the Study of the Liver
ECOG	Eastern Cooperative Onkology Group
FNAB	Feinnadelaspirationsbiopsie
FDG-PET	Fluor-Deoxyglukose Positronenemissionstomographie
FLC	Fibrolamelläres Karzinom
FNH	Fokal noduläre Hyperplasie
FNP	Feinnadelpunktion

FOV	field of view
FSE	fast spin echo
FSGE	fast spoiled gradient echo
G	Grading
Gd	Gadolinium
Gd-BOPTA	Gadolinium-Benzyloxypropinyltetraacetat
Gd-DTPA	Gadolinium-Diethylentriaminpentaacetat
Gd-EOB-DTPA	Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethylentriaminpentaacetat
GE-PACS	General electrics picture archiving and communication system
GTP	γ -Glutamyltransferase
g/dl	Gramm pro Deziliter
h	Stunde
Hb _s -AG	Hepatitis-B-S-Antigen
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCC	hepatozelluläres Karzinom
HCL	Salzsäure
HCV	Hepatitis-C-Virus
I	normierte Signalintensität – Quotient der SI aus Tumor und Restleber
I (T1)	normierte Signalintensität – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der nativen T1-Wichtung ohne Fettsättigung
I (T1 FS)	normierte Signalintensität – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der nativen T1-Wichtung mit Fettsättigung
I (T2 FS)	normierte Signalintensität – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der nativen T2-Wichtung mit Fettsättigung
I (art.)	normierte Signalintensität – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der arteriellen Phase, ca. 20 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung
I (ven.)	normierte Signalintensität – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der venösen Phase, ca. 50 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung

I (spätvenös)	normierte Signalintensität – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der spätvenösen Kontrastphase (sog. Post-KM-Phase), ca. 20 min nach i.v.-KM-Applikation in der fettgesättigten T1-Wichtung
IOD	integrierte optische Dichte
IOUS	intraoperative Sonographie
i. v.	intravenös
KM	Kontrastmittel
k. S.	keine Signifikanz
LITT	laserinduzierte Thermotheapie
LTX	Lebertransplantation
M	Fernmetastasen
M	molar
ml/kg	Milliliter pro Kilogramm
mmol/kg	Millimol pro Kilogramm
Max.	Maximum
mg	Milligramm
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
min	Minute
Min.	Minimum
Mn-DPDP	Mangan-Dipyroxyldiphosphat
MR	Magnetresonanz
MRT	Magnetresonanztomographie
MSCT	Mehrzeilencomputertomographie
MW	Mittelwert
µm	Mikrometer
n	Anzahl
ng/ml	Nanogramm pro Milliliter
N	Nodus

N	normal
OLT _X	orthotope Lebertransplantation
P	statistische Signifikanz
PEI	perkutane Ethanolinjektion
PET	Positronenemissionstomographie
PTT	partielle Thromboplastinzeit
r ²	Bestimmtheitsmaß
RFA	Radiofrequenzablation
ROI	region of interest
rpm	revolutions per minute
S.	Signifikanz
SD	Standardabweichung
s	Sekunde
SI	Signalintensität
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
T	Tumor (Primärtumor)
TE	Echozeit
TR	Repetitionszeit
TACE	Transarterielle Chemoembolisation
TZW	Thromboplastinzeit
UICC	Union internationale contre le cancer
US	Ultraschall
V.	Vena
Vv.	Venae
ven.	venös
v ER	varianter Östrogenrezeptor
VIP	vasoaktives intestinales Peptid

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	An der Pathogenese des HCC beteiligte Faktoren	20
Abb. 2:	HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert) in der nativen T1-Wichtung ohne Fettsättigung	63
Abb. 3:	HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert) in der nativen T1-Wichtung mit Fettsättigung	63
Abb. 4:	HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert) in der nativen T2-Wichtung mit Fettsättigung	64
Abb. 5:	HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert) in der arteriellen Phase, ca. 20 s nach Beginn der intravenösen Kontrastmittelgabe in der dynamischen Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung	65
Abb. 6:	HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert) in der venösen Phase, ca. 50 s nach intravenöser Kontrastmittelgabe in der dynamischen Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung	65
Abb. 7:	HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert) in der späten Kontrastphase, ca. 20 min nach Gabe von Gd-EOB-DTPA in der fettgesättigten T1-Wichtung	66
Abb. 8:	Histologisches Präparat eines HCC nach vollständiger Präparation des paraffineingebetteten Archivmaterials und Feulgen-Färbung	70
Abb. 9:	Arbeitsplatz mit Messmonitor für die interaktive DNA-Bildzytometrie	71
Abb. 10:	DNA-Histogramm mit hypodiploider Stammlinie bei 1,81c DI 0,9	71
Abb. 11:	DNA-Histogramm mit aneuploid-tetraploider Stammlinie bei 5,27 (Polyploidie) DI 2,6	72
Abb. 12:	DNA-Histogramm mit aneuploider Stammlinie bei 3.21 DI 1,60	72
Abb. 13:	Beispiel für ein Kastendiagramm	73
Abb. 14:	Geschlechtsbezogene Altersverteilung der HCC-Patienten	78
Abb. 15:	Geschlechtsbezogene Verteilung der Zirrhoseursache der HCC-Patienten	78
Abb. 16:	Verteilung des Tumordifferenzierungsgrades (Grading) der HCC-Patienten	79
Abb. 17:	Verteilung der DNA-Ploidie	79
Abb. 18:	DNA-Ploidie vs. Tumorgrad (Grading) G1	80
Abb. 19:	DNA-Ploidie vs. Tumorgrad (Grading) G2	80
Abb. 20:	DNA-Ploidie vs. Tumorgrad (Grading) G3	81
Abb. 21:	Verteilung der normierten Signalintensitäten aller Wichtungen	82

Abb. 22:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen T1-Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad	83
Abb. 23:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T1-Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad	83
Abb. 24:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T2-Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad	84
Abb. 25:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. art. Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad	84
Abb. 26:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. ven. Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad	85
Abb. 27:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der T1-KM-Spät-Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad	85
Abb. 28:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen T1-Wichtung über dem Tumorgrad	86
Abb. 29:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T1-Wichtung über dem Tumorgrad	87
Abb. 30:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T2-Wichtung über dem Tumorgrad	87
Abb. 31:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. art. Wichtung über dem Tumorgrad	88
Abb. 32:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in dyn. ven. Wichtung über dem Tumorgrad	88
Abb. 33:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der T1-KM-Spät-Wichtung über dem Tumorgrad	89
Abb. 34:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen T1-Wichtung über den DNA-Indexgruppen	90
Abb. 35:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T1-Wichtung über den DNA-Indexgruppen	90
Abb. 36:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T2-Wichtung über den DNA-Indexgruppen	91
Abb. 37:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. art. Wichtung über den DNA-Indexgruppen	91
Abb. 38:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. ven. Wichtung über den DNA-Indexgruppen	92

Abb. 39:	Verteilung der normierten Signalintensitäten in der T1-KM-Spät-Wichtung über den DNA-Indexgruppen	92
Abb. 40:	Der arteriell/venöse Asymmetriekoeffizient AC_1 , berechnet nach Gleichung 2, wurde gegen den DNA-Ploidiegrad aufgetragen	96
Abb. 41:	Der arteriell/venöse Asymmetriekoeffizient AC_1 , berechnet nach Gleichung 2, wurde gegen den Tumorgrad aufgetragen	97
Abb. 42:	Der arteriell/venöse Asymmetriekoeffizient AC_1 , berechnet nach Gleichung 2, wurde gegen die Zirrhoseursache aufgetragen	97
Abb. 43:	Der nativ/spätvenöse Asymmetriekoeffizient AC_2 , berechnet nach Gleichung 3, wurde gegen den DNA Ploidiegrad aufgetragen	98
Abb. 44:	Der nativ/spätvenöse Asymmetriekoeffizient AC_2 , berechnet nach Gleichung 3, wurde gegen den Tumorgrad aufgetragen	98
Abb. 45:	Der nativ/spätvenöse Asymmetriekoeffizient AC_2 , berechnet nach Gleichung 3, wurde gegen die Zirrhoseursache aufgetragen	99
Abb. 46:	Verteilung der normierten SI-I (T1) in Abhängigkeit vom DNA-Index	99
Abb. 47:	Verteilung der normierten SI-I (T1 FS) in Abhängigkeit vom DNA-Index	100
Abb. 48:	Verteilung der normierten SI-I (T2 FS) in Abhängigkeit vom DNA-Index.	100
Abb. 49:	Verteilung der normierten SI-I (art.) in Abhängigkeit vom DNA-Index.	101
Abb. 50:	Verteilung der normierten SI-I (ven.) in Abhängigkeit vom DNA-Index	101
Abb. 51:	Verteilung der normierten SI-I (spätvenös.) in Abhängigkeit von DNA-Index	102
Abb. 52:	Der Asymmetriekoeffizient AC_1 (arteriell/venös) wurde gegen den DNA-Index aufgetragen	103
Abb. 53:	Der Asymmetriekoeffizient AC_2 (nativ/spätvenös) wurde gegen den DNA-Index aufgetragen	103

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Alterskorrigierte Inzidenzraten (Personen pro 100000 Einwohner) des HCC	16
Tab. 2:	Histologische Klassifikation der malignen Neoplasien der Leber	22
Tab. 3:	TNM-Klassifikation des HCC	24
Tab. 4:	Stadieneinteilung des HCC	24
Tab. 5:	Child-Pugh-Klassifikation der Leberzirrhose	26
Tab. 6:	Stadieneinteilung des hepatozellulären Karzinoms nach Okuda	26
Tab. 7:	CLIP-Stadieneinteilung	26
Tab. 8:	Symptomatik primärer Lebertumoren	30
Tab. 9:	Vertreter leberspezifischer MR-Kontrastmittel	37
Tab. 10:	MR-Kriterien des hepatozellulären Karzinoms	40
Tab. 11:	Behandlungsalgorithmus beim HCC in Abhängigkeit von einer vorbestehenden Leberschädigung und vom Ausmaß des Tumors	55
Tab. 12:	Indexmittelwerte in den verschiedenen Tumorgradgruppen	81
Tab. 13:	Übersicht über die Mittelwerte der normierten Signalintensitäten aller Wichtungen	81
Tab. 14:	Betrag von Korrelationskoeffizient und mögliche Interpretation	93
Tab. 15:	Korrelationen der normierten Signalintensitäten aller Wichtungen	93
Tab. 16:	Regressionsanalyse-Modell 1 (Methode Einschluss)	94
Tab. 17:	Regressionsanalyse-Modell 2 (Methode Einschluss)	94
Tab. 18:	Regressionsanalyse-Model 3 (Methode Einschluss)	94
Tab. 19:	Regressionsanalyse-Model 4 (Methode Schrittweise)	95
Tab. 20:	Asymmetriekoeffizienten AC_1 und AC_2 vs. DNA-Ploidie, Tumorgrad und Zirrhoseursache	95
Tab. 21:	Korrelationsanalyse nach Spearman und Pearson für die Asymmetriekoeffizienten AC_1 und AC_2 vs. DNA-Index	102

**Die Magnetresonanztomographie des hepatozellulären Karzinoms in Zirrhose
mit hepatozytenspezifischem Kontrastmittel Gd-EOB-DTPA
und Korrelation mit dem zytometrisch bestimmten DNA-Index**

1 Einleitung

Primäre Lebertumoren sind weltweit die vierthäufigste maligne Tumorentität. Das hepatozelluläre Karzinom (HCC) ist dabei der mit Abstand häufigste histologische Typ mit steigender Inzidenz auch in den westlichen Ländern. Der prozentuale Anteil des hepatozellulären Karzinoms an den primären malignen Lebertumoren beträgt ca. 80 %, gefolgt von den cholangiozellulären Karzinomen. (1) In ca. 80-90 % der Fälle entsteht das HCC auf dem Boden einer Leberzirrhose, die typischerweise einen makronodulären postnekrotischen, gelegentlich auch einen mikronodulären Aspekt aufweist. Es ist bisher unklar, ob der zirrhotische Umbau an sich oder aber die zur Zirrhose führenden Noxen für die Entstehung eines HCC verantwortlich sind. Bei bestehender Zirrhose sind jedoch Risikofaktoren bekannt, die die Entstehung eines HCC begünstigen. Dazu gehören die chronische Hepatitis-B, -C und -D, hereditäre Lebererkrankungen wie zum Beispiel die Hämochromatose und der alpha-1-Antitrypsinmangel sowie chemische Karzinogene (Aflatoxin B1, 4-Aminobiphenyl, Benzpyrene u. a.). (2)

In den westlichen Ländern stellt die alkoholinduzierte Hepatopathie die häufigste HCC-Ursache dar.

Unbehandelt ist die Prognose eines HCC in Zirrhose außerordentlich ungünstig. Für die klinische Praxis gilt, dass jeder Patient mit einer chronischen Hepatopathie bzw. Leberzirrhose ein erhöhtes Risiko besitzt, ein HCC zu entwickeln. Dabei korreliert die Höhe des Risikos im Wesentlichen mit drei Faktoren:

1. der Ätiologie,
2. der Dauer und
3. der Aktivität der Hepatopathie.

Das höchste HCC-Risiko haben Zirrhosepatienten mit einer chronischen Hepatitis-C, einer chronischen Hepatitis-B, einer Hämochromatose sowie Patienten mit einer alkoholinduzierten Leberzirrhose. So finden sich hier inzidentielle HCC bei 2-60 % der zirrhotischen Lebern. Bei Patienten mit einer primär biliären Leberzirrhose bzw. einem Morbus Wilson besteht dagegen ein deutlich niedrigeres Risiko für die Entstehung eines HCC. (3)

Eine Optimierung der Behandlungsstrategie setzt eine möglichst komplette und präzise Diagnostik voraus. Der genauen Differenzierung und Charakterisierung eines Lebertumors kommt eine entscheidende, ja therapiebestimmende Rolle zu. (5)

Neben der Artdiagnostik sind für den Chirurgen v. a. die Lage und die Ausdehnung eines Tumors in der Leber von Bedeutung. Hierbei spielen die bildgebenden Untersuchungen für die HCC-Diagnostik eine zentrale Rolle. Die Diagnostik erfolgt in diesem Zusammenhang mittels Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT). (2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12)

Für die bildgebende Evaluation des HCC ist die Kaskade der Karzinogenese auf dem Boden einer Zirrhose wichtig. Dabei findet sich ein fließender Übergang von regenerativen in dysplastische Knoten. In einem mehrphasigen Vorgang („multistep carcinogenesis“) soll dann die Umwandlung des dysplastischen Knotens in das Frühstadium des HCC oder des soliden Karzinoms in Abhängigkeit vom Differenzierungsgrad erfolgen. Dabei gilt es zu beachten, dass die Kaskade keinem imperativen Verlauf unterliegt, d. h., nicht jeder Regeneratknoten entwickelt sich zu einem HCC. Umgekehrt kann ein HCC auch in normalem Leberparenchym detektiert werden. (13, 14)

Die Computertomographie besitzt seit Jahren einen zentralen Stellenwert in der präoperativen Diagnostik von unklaren Raumforderungen der Leber. Aufgrund der größeren Qualitätskonstanz und Erfahrungen ist die biphasische Spiral-CT gegenüber der MRT lange Zeit das bedeutendere Screeningverfahren bei in der Sonographie vorbestehendem Tumorverdacht gewesen. Diesbezüglich hat sich jedoch ein Wandel zugunsten der MRT vollzogen. (10, 15)

Die MRT mit Kontrastmittel (KM) an Magnetresonanz-Hochfeldsystemen stellt derzeit das optimale bildgebende Verfahren zur Detektion und Differentialdiagnose des hepatozellulären Karzinoms dar. (10, 13, 15) Die bildgebende Detektion in der MRT beruht auf der Analyse der Signalintensität und der Morphologie in den T1- und T2-gewichteten Sequenztechniken. Eine eindeutige Verbesserung der diagnostischen Ergebnisse konnte durch den Einsatz extrazellulärer wie auch gewebspezifischer, superparamagnetischer oder hepatobiliärer Kontrastmittel erzielt werden. (13)

Dabei ist Primovist® das erste T1-Kontrastmittel, das die Eigenschaften eines extrazellulären mit denen eines leberspezifischen Kontrastmittels vereint. So ist es möglich, Aufnahmen sowohl in der dynamischen Phase als auch in der Anreicherungsphase zu akquirieren. Schon wenige Minuten nach der Injektion ist eine deutliche Anreicherung in den Hepatozyten festzustellen, die eine klare Abgrenzung der Läsion vom gesunden Gewebe ermöglicht. Mit der Einführung des paramagnetischen Primovist® wird zum ersten Mal ein hochspezifisches Leberkontrastmittel verfügbar, das eine hohe diagnostische Sicherheit in der Detektion von Raumforderungen mit der bekannten und klinisch erprobten Performance gadoliniumhaltiger Kontrastmittel bei der Klassifizierung und der Charakterisierung von Leberläsionen verbindet. (16)

Für eine präzise Diagnostik mit genauer Differenzierung und Charakterisierung einer Leberläsion im Rahmen optimaler Behandlungsstrategien könnte auch der DNA-Zytometrie mit Eingang in die onkologische Diagnostik eine therapiebestimmende Rolle zukommen.

Die Indikationen für die Messung des Zellkern-DNA-Gehaltes in Zellen und Geweben im Rahmen der Tumordiagnostik sind neben

- der Identifizierung obligater Präkanzerosen unter den Dysplasien (Dignitätsdiagnose)
- auch eine objektive und valide Gradierung der malignen Potenz verschiedener Tumoren (Malignitätsgrading).

Das Prinzip der photometrischen DNA-Messung beruht auf der Quantifizierung des DNA-Gehaltes in Zellkernen und ist seit Jahrzehnten bekannt. (17)

Das z. B. mit der Feinnadelpunktion (FNP) im Rahmen zytologischer sowie insbesondere DNA-zytometrischer Untersuchungen gewonnene Material (prä- bzw. intraoperativ, Aszites oder Tumorgewebe) könnte wichtige zusätzliche Informationen zur Charakterisierung und insbesondere zum biologischen Verhalten verschiedener Tumorentitäten geben. Diese können dann wiederum richtungweisend für die therapeutische Tumorstrategie sein oder als Prognosefaktoren dienen.

So konnten die DNA-Ploidie bzw. der DNA-Index bei verschiedenen malignen Tumorentitäten nach Resektion als auch beim HCC in Zirrhose nach Lebertransplantation (LTX) als wichtige Prognoseparameter identifiziert werden. (17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27)

Bezogen auf das HCC seien an dieser Stelle die Untersuchungen von Jonas und Al Abadi et al. angeführt. Diese Arbeitsgruppe konnte bei Patienten nach Lebertransplantation aufgrund eines HCC in Zirrhose die DNA-Ploidie als wertvollen Prognosefaktor identifizieren. Der Vorhersagewert der DNA-Ploidie ist dabei dem des Tumorstadiums sowie weiteren Prognosefaktoren überlegen. Aneuploidie bei Patienten mit Lebertransplantation wegen eines HCC wies dabei auf eine schlechtere Prognose hin, wohingegen diploide und polyploide Tumoren der LTX-Patienten eine gute Prognose zeigten. (28)

In einer anderen Studie konnten Jonas et al. bei Patienten nach Lebertransplantation aufgrund eines HCC in Zirrhose in einer multivarianten Analyse die Gefäßinvasion und den DNA-Index als Prognoseparameter verifizieren. (24)

In der Regel können zur Dignität eines intrahepatischen Tumors hinreichend sichere Aussagen aufgrund bildmorphologischer Kriterien gemacht werden, so dass die histologische Sicherung des Verdachts eines HCC vor geplanter Operation generell nicht erforderlich ist.

Bei Diskrepanz der Befunde bildgebender Verfahren wie auch der Laborparameter kann die Indikation zur perkutanen Biopsie in Erwägung gezogen werden. Diese erfolgt in der Regel Ultraschall- oder CT-gesteuert bzw. bei MR-positiven Befunden mittels offener oder geschlossener MR-gesteuerter Biopsie. Sie kann aber auch als intraoperative Biopsie im Rahmen einer Laparoskopie bzw. Laparotomie durchgeführt werden.

Der Stellenwert der DNA-Zytometrie in der Onkologie ist eher noch gering. Der Vorteil der DNA-Zytometrie besteht jedoch darin, dass es mit dieser Methode möglich ist, eine objektive, reproduzierbare prognostische Aussage und Entscheidungshilfe über Therapiemodalitäten abzugeben. Damit besitzt der Behandelnde dem Patienten gegenüber auch eine objektive Begründung für einen Therapieverzicht. Weiterhin ist es möglich, vor allem die Patienten zu identifizieren, bei denen eine adjuvante Therapie erforderlich ist, obgleich die üblichen konventionellen Bewertungskriterien eine solche Therapie nicht notwendig erscheinen lassen. (17, 29)

Man findet in der Literatur keine Studien, die beim HCC in Zirrhose einen möglichen Zusammenhang zwischen der Bildgebung insbesondere mittels MRT unter Einsatz hepatobiliärer Kontrastmittel, der histopathologischen Tumordifferenzierung und den Parametern der DNA-Zytometrie wie DNA-Ploidie und DNA-Index untersucht haben.

Es bleibt aber festzustellen, dass neue Entwicklungen in der Diagnostik von Lebertumoren, bessere Kenntnis der intrahepatischen Leberanatomie, präzisere und umfassendere chirurgische Behandlungsstrategien gemeinsam mit einer interdisziplinären Zusammenarbeit zu einer kontinuierlichen Verbesserung der Prognose von Patienten mit einem HCC geführt haben. (4)

2 Grundlagen

2.1 Medizinische und biologische Grundlagen

2.1.1 Chirurgische Epidemiologie und Ätiologie

Das HCC stellt weltweit mit jährlich über einer Millionen Neuerkrankungen und darüber hinaus mit über einer Millionen Todesfällen den häufigsten malignen soliden Lebertumor dar. Eine Reihe von Malignomen hat in den letzten Jahrzehnten an Häufigkeit zugenommen. Dieser Trend gilt auch für das HCC. (15) In ca. 70-90 % der Fälle entsteht das HCC auf dem Boden einer Leberzirrhose. (30) Das HCC ist bei Männern zwei- bis viermal häufiger als bei Frauen. Es stellt weltweit den fünfthäufigsten malignen Tumor bei Männern und den achthäufigsten bei Frauen dar. (1, 15, 30) Die Inzidenz des HCC unter allen primären malignen Lebertumoren wird mit ca. 80-85 % angegeben. (15) Derzeit geht man von 4000-6000 Neuerkrankungen/Jahr im Bundesgebiet aus. Der Altersgipfel liegt im Westen bei 60 bis 70 Jahren, in den Ländern mit hoher Inzidenz ein bis zwei Jahrzehnte früher, was auf den hohen Durchseuchungsgrad mit Hepatitis-B in Asien und Afrika zurückzuführen ist. (30)

Neue Studien zeigen weltweit eine weitere Zunahme der Erkrankungshäufigkeit – in Japan und den USA um 70 % über zehn Jahre –, wofür vor allem die zunehmende Verbreitung von Hepatitis-C-Virus-Infektionen verantwortlich gemacht wird. (31) Die geographische Verbreitung differiert dabei je nach Vorkommen der Hauptrisikofaktoren Hepatitis-B, Hepatitis-C, Aflatoxinexposition und Alkoholkonsum erheblich. Die relative Häufigkeit ist in endemischen Gebieten wie Asien (z. B. Südchina) und Südafrika achtmal so hoch wie in Europa oder den USA. (1) Die Rate der jährlichen Neuerkrankungen liegt für das HCC in Taiwan, wo Hepatitis-B-Virus-Infektionen endemisch sind, bei 150/100000, in Gegenden mit einer niedrigen Hepatitis-B-Inzidenz wie Europa, Nordamerika und Australien bei etwa ein bis drei pro 100000. (15) Eine Zusammenfassung der alterskorrigierten Inzidenzraten gibt die Tab. 1 wieder. (1)

Region	Männer	Frauen
Europa	1,6-7,9	0,8-2,7
Asien	2,1-34,4	0,7-11,6
Afrika	10,5-11,3	3,0-30,8
Nord-/Mittelamerika	2,8-5,1	1,4-2,2
Südamerika	3,8-9,2	2,5-8,3

Tab. 1: Alterskorrigierte Inzidenzraten (Personen pro 100000 Einwohner) des HCC

Die Mortalität schwankt zwischen 1,9/100000 in den Bereichen mit der niedrigsten Inzidenz in den USA und bis zu 150/100000 in Teilen Asiens. (1)

Der wichtigste ätiologische Faktor des HCC bleibt die chronische Infektion mit dem Hepatitis-B-Virus. Die HBV-Durchseuchung ist in den Entwicklungsländern deutlich höher als in den Industrienationen. Schätzungen gehen von einem ca. 20-mal höheren relativen Risiko der HBV-Infektion in Asien und Afrika im Vergleich zu Europa oder den USA aus. (1) Etwa 80-90 % der Patienten mit einem HCC in Asien sind HB_s-AG-positiv, im Gegensatz zu Nordeuropa und Amerika (20-25 %). (30)

Virussträger entwickeln fast 100-mal häufiger ein HCC als Nichtinfizierte. (1)

Neben der chronischen Virushepatitis-B sind auch die chronische Hepatitis-C- und -D mit der Entwicklung eines HCC assoziiert. Die Hepatitis-C zeigt eine geographische Prävalenz in den intermediären Risikogebieten Japan und Mittelmeerraum. 60 bis 80 % der HCC-Patienten weisen hier HCV-Antikörper auf gegenüber 10 bis 40 % in Niedrigrisikogebieten. (30) Die Grundlage hierfür scheint die Entstehung einer Leberzirrhose zu sein. Dies gilt auch für Leberzirrhosen anderer Genese. So stellen ebenso hereditäre metabolische Lebererkrankungen, die mit der Entstehung einer Zirrhose verbunden sind, wie die Hämochromatose, der Morbus Wilson, ein alpha-1-Antitrypsinmangel, die Tyrosinämie, Porphyrie und Glykogenosen ein erhöhtes Risiko dar. Chemische Karzinogene wie die Aflatoxine, die durch belastete Nahrungsmittel aufgenommen werden, sind ebenfalls wie das in den Jahren 1930 bis 1950 verwendete Röntgenkontrastmittel Thorotrast als Risikofaktoren identifiziert worden. Statistisch positive Zusammenhänge werden außerdem für Steroidhormone (orale Kontrazeptiva), erhöhten Fleischkonsum und Erkrankungen an einem Diabetes mellitus mitgeteilt. (1, 3, 32) In den westlichen Ländern dagegen bildet die alkoholinduzierte chronische Hepatopathie die häufigste Ursache für ein HCC auf dem Boden einer Leberzirrhose. (30)

Alle Patienten mit einer chronischen Hepatopathie bzw. einer Leberzirrhose haben ein erhöhtes Risiko ein HCC zu entwickeln. Dieses Risiko korreliert mit der Ätiologie, der Dauer sowie der Aktivität der Hepatopathie und verteilt sich wie folgt:

- chronische Hepatitis-C → ca. 60 % Lebenszeitrisiko
- chronische Hepatitis-B → ca. 50 % Lebenszeitrisiko
- Hämochromatose → ca. 40 % Lebenszeitrisiko
- alkoholinduzierte Leberzirrhose → ca. 30 % Lebenszeitrisiko

Ein niedriges Risiko haben Patienten mit einer Leberzirrhose bedingt durch eine primäre biliäre Zirrhose bzw. einen M. Wilson (< 10 Lebenszeitrisiko). (3, 32)

2.1.2 Pathogenese

Die morphologischen Veränderungen in der Hepatokarzinogenese sind inzwischen hinreichend charakterisiert. Als prämaligne Läsionen wurden dysplastische Foci ($\leq 0,1$ cm) und dysplastische Knoten (0,1 cm bis max. 2,0 cm) definiert, die der HCC-Entwicklung vorausgehen. Darüber hinaus werden HCC mit einem Durchmesser von kleiner 2,0 cm als sogenannte frühe HCC von vollentwickelten HCC unterschieden. Frühe HCC sind typischerweise hoch differenziert, haben eine vergleichsweise geringe Proliferation und zeigen meist keine Angioinvasivität. (31)

Die pathogenetischen Faktoren für das HCC sind abhängig von geographischen Besonderheiten, mit denen eine unterschiedliche Inzidenz einhergeht. Für die Entwicklung des HCC wird ein in mehreren Schritten ablaufender Prozess, der der Adenom-Karzinom-Sequenz des kolorektalen Karzinoms nicht unähnlich ist, angenommen.

Chronische Hepatitiden und die Leberzirrhose sind die Hauptrisikofaktoren für die Entstehung eines HCC. (13, 14, 15)

Weltweit spiegelt die lokale Inzidenz des HCC die geographische Häufigkeit von viralen Hepatitiden wider. Hierbei müssen allerdings lange Latenzzeiten berücksichtigt werden, die zwischen Virusinfektion und Diagnose eines HCC liegen. Die Latenzzeiten zwischen Virusinfektion und Diagnose eines HCC betragen etwa 30 bis 60 Jahre für die chronische Infektion mit dem Hepatitis-B-Virus und ca. 20 bis 30 Jahre für die chronische Infektion mit dem Hepatitis-C-Virus. (15) Wenn man sich vergegenwärtigt, dass z. B. 40 % aller HCC-Patienten an einer chronischen HBV-Infektion leiden und das Risiko einer HCC-Entwicklung bei chronischen HBV-Infektionen 100-fach gegenüber nichtinfizierten Personen erhöht ist, so wird auch die besondere Bedeutung langfristiger primärer Präventionsstrategien (Immunisierung) ersichtlich. Die chronischen Hepatitiden erhöhen dabei über eine persistierende Zellschädigung und Regeneration (Proliferation) das HCC-Risiko. (31)

Grundsätzlich stellen alle chronischen Lebererkrankungen mit hoher Aktivität und langer Dauer und somit alle chronisch aktiven Hepatitiden und die Leberzirrhose Risikofaktoren für die Entstehung eines HCC dar. Das Risiko wird durch das Vorliegen von Kofaktoren, wie z. B. einer viralen Hepatitis und zusätzlichem Alkoholabusus oder einer zusätzlichen Karzinogenexposition, erhöht. (15) In etwa 80 bis 90 % der Fälle tritt ein HCC in einer Leberzirrhose auf, so dass die Leberzirrhose als Präkanzerose angesehen wird. (33) Die Bedeutung der Leberzirrhose für die Entstehung eines HCC ist offenbar abhängig von der jeweiligen Ätiologie. So wird die Rate an

jährlichen Neuerkrankungen bei Patienten mit einer Leberzirrhose auf etwa 5,0 % bei einer HCV-Infektion gegenüber 0,5 % bei einer HBV-Infektion geschätzt. (34) Eine Doppelinfection mit dem HBV und dem HCV erhöht zusätzlich das Tumorrisiko. Anders als bei Patienten mit einer HBV-Infektion kommt es bei einer HCV-Infektion nur selten zum Auftreten eines HCC vor der Entwicklung einer Leberzirrhose. (15)

Die molekulare Pathogenese bleibt für die meisten HCC aufgrund ihrer genetischen Heterogenität mit einer Vielzahl verschiedener chromosomaler Veränderungen unklar. (15, 35)

In der westlichen Welt ist die äthyltoxische Leberzirrhose eine der häufigsten Ursachen eines HCC. Im selektionierten Patientengut von Transplantationszentren beträgt der Anteil von HCC in einer äthyltoxischen Leberzirrhose an allen HCC in Zirrhose etwa 20 %. In einer älteren französischen Studie von 1976 bis 1983 lag bei 92 % der Patienten mit einem HCC in Zirrhose ein exzessiver Alkoholkonsum vor. (36) Ein regelmäßiger Alkoholkonsum steht nicht nur im Zusammenhang mit der Entwicklung eines HCC, sondern wurde auch mit einer erhöhten Inzidenz von Oropharynx- und Ösophaguskarzinomen in Zusammenhang gebracht. Trotzdem gilt ein direkter karzinogener Einfluss auf Hepatozyten derzeit als unwahrscheinlich, während die Bedeutung von Alkohol als Kokarzinogen vor allem mit dem Hepatitis-B- und dem Hepatitis-C-Virus, aber auch mit anderen Hepatotoxinen und Nikotinabusus gut belegt ist. Wesentlicher Risikofaktor ist auch hier die Leberzirrhose als Präkanzerose. (15)

HCC sind genetisch sehr heterogen und weisen oft starke chromosomale Veränderungen wie Polyploidie, Allelverlust Amplifikationen und Translokationen auf. (14, 35) Die maligne Transformation stellt die Folge einer chronischen Leberschädigung dar, welche in Abb. 1 veranschaulicht wird. Der im Rahmen dieser chronischen Leberschädigung und Regeneration erhöhte Hepatozytturnover verbunden mit oxidativen Schäden an der DNA kann zu genetischen Veränderungen wie chromosomalen Rearrangements, Aktivierung von Onkogenen und Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen – möglicherweise in Kooperation mit defekten DNA-Reparaturmechanismen und Telomeraseaktivierung – führen. Chronische Virushepatitiden, Alkohol und Stoffwechselerkrankungen (Hämochromatose, alpha-1-Antitrypsinmangel) führen so zum HCC. Das HBV und eventuell auch HCV-Infektionen können auch über direkte onkogene Mechanismen an der HCC-Entwicklung beteiligt sein. (14, 15)

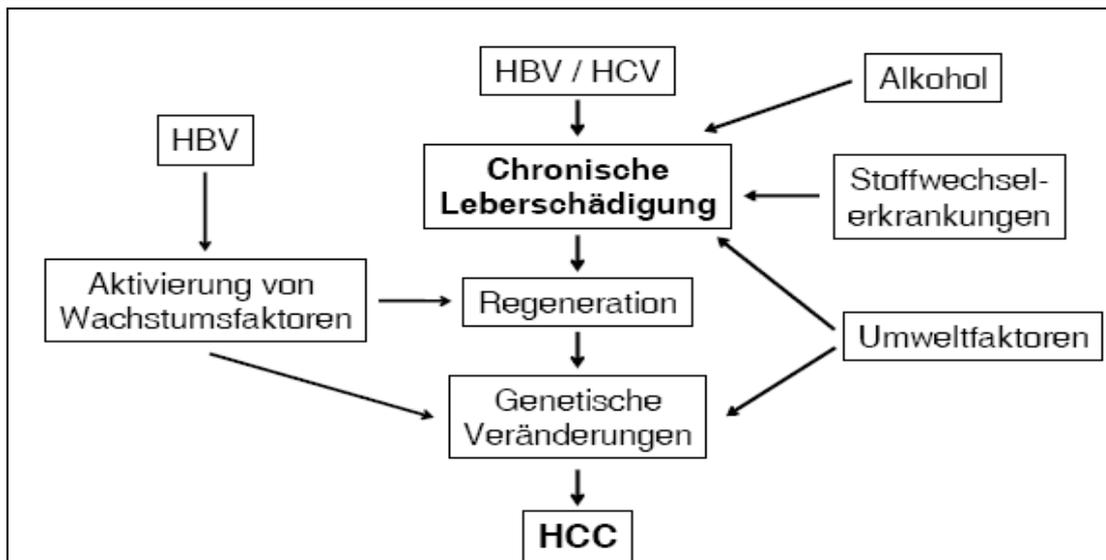


Abb. 1: An der Pathogenese des HCC beteiligte Faktoren

Eine ganze Reihe chemischer Karzinogene sind für die Hepatokarzinogenese von Bedeutung. Belegt werden konnte dies sowohl epidemiologisch als auch molekularbiologisch für Aflatoxin B, das Mykotoxin der Schimmelpilze, *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus*. Eine Korrelation zwischen der Aufnahme kontaminierter Nahrungsmittel und dem Auftreten eines HCC wurde in den tropischen Regionen Westafrikas und Südostasiens gezeigt. So waren in Kenia, Mosambik und Uganda bzw. Thailand, auf den Philippinen und in den südchinesischen Küstenregionen bis zu 50 % der untersuchten Nahrungsmittelproben mit Aflatoxinen kontaminiert. (37) Diese Kontamination wird durch die Feuchtigkeit in den Monsunmonaten begünstigt, in denen sich ein Schimmelpilzschleier über die Reisernte legt. (14, 15, 31)

2.1.3 Pathologie des HCC

Das hepatozelluläre Karzinom entsteht in den meisten Fällen in einem zirrhotisch umgebauten Organ. Eine schrittweise Entwicklung von adenomatösen Regeneratknoten über dysplastische Knoten zum manifesten HCC wurde hierbei als These postuliert („multistep carcinogenesis“). Dafür spricht, dass die Mehrzahl der kleinen HCC (< 2,0 cm) gut differenziert sind, die Häufigkeit der entdifferenzierten Tumoren mit der Größe zunimmt und schlecht differenzierte Karzinomanteile im äußeren Randbereich besser differenzierter Tumormanifestationen nachzuweisen sind. (1, 13, 14, 31)

Dabei sind das Knoten bildende Wachstum in präformierten Zirrhoseknoten und die Tendenz, intrahepatisch zu metastasieren, für das HCC charakteristisch.

Zu berücksichtigen ist, dass eine Unterscheidung zwischen intrahepatischer Metastase und metachron multizentrischen Primär- bzw. Rezidivtumor oft nicht möglich ist.

Intrahepatische Metastasen werden durch Pendelblut in der zirrhotischen Leber erklärt. Die häufigsten Orte einer Fernmetastasierung stellen die Lunge mit einer Häufigkeit von bis zu 25 % und der Knochen mit 5-20 % dar. Diese Metastasierungen setzen den Einbruch in die Pfortader und die Lebervenen voraus. (1)

Die makroskopische Einteilung des HCC erfolgt aufgrund seiner Wachstumsformen in 4 Typen:

1. infiltrierender/diffuser,
2. verdrängend wachsender,
3. multifokaler und
4. pendikulärer Typ.

Der infiltrierende Typ – auch als diffuses HCC bezeichnet – ist gegenüber dem Leberparenchym meist unscharf abgegrenzt, häufig mit einer Leberzirrhose assoziiert und macht ca. die Hälfte der Fälle in Europa und Nordamerika aus. Bedeutsam sind die höhere Rate an vaskulären Infiltrationen, die auch bei kleineren Tumoren auftritt, sowie die makroskopisch oft nur unzureichend beurteilbare Radikalität bei mikroskopischer Schnitttrandinfiltration nach Resektion.

Der verdrängend wachsende Typ – auch expansives HCC bezeichnet – ist insbesondere in Japan und Südafrika mit einer Rate von 40 % der HCC anzutreffen. Im Verlauf der Tumorprogression können auch Satellitenknoten beobachtet werden. Die Abgrenzung zum umliegenden Gewebe ist günstiger, häufig ist das HCC von einer fibrösen Kapsel umgeben, wobei die Gefäße in der Regel nur verdrängt und nicht infiltriert werden.

Das multifokale HCC tritt in Europa und in Nordamerika bei etwa 20 % der Fälle auf, während es in den übrigen Regionen eher selten ist. Diese Tumoren können hinsichtlich primärer und sekundärer Genese nicht unterschieden werden. Sie besitzen keine Kapsel. Die Prognose ist schlecht.

Der pendikuläre oder gestielte Typ ist mit der Leber auch bei fortgeschrittener Größe nur durch eine schmale Parenchymbrücke und häufig nur durch eine Gefäßbrücke verbunden. Dieser Typ, der daher ohne Parenchymverlust resektabel ist, besitzt eine gute Prognose.

Wichtig ist, dass in etwa 25 % der Fälle Mischtypen oder auch Wachstumsformen bestehen, die keinem Muster zugeordnet werden können. Die Relevanz der makroskopischen Klassifikationsansätze ist aufgrund von Sekundärphänomenen in Form von Blutungen, Nekrosen und vaskulären Tumorausbreitungen erschwert und umstritten.

Gelegentlich ist im makroskopischen Aufschnitt des HCC eine gelb-grüne Färbung der Tumorknoten erkennbar. Sie ist für das HCC pathognomonisch, da die Tumorzellen zwar Galle bilden, aber nicht ableiten können. (15, 38)

Das normale Lebergewebe setzt sich aus epithelialen und mesenchymalen Zellen zusammen. Sowohl gut- als auch bösartige herdförmige Leberveränderungen entwickeln sich durch Proliferation epithelialer Zellen, die entweder vom Hepatozyten oder vom Gallengangsepithel ausgehen. Die Tab. 2 gibt eine Übersicht über die histologische Klassifikation der malignen Neoplasien der Leber. (1)

Hepatozellulär	Hepatozelluläres Karzinom Fibrolamelläres Karzinom
Cholangiozellulär	Cholangiokarzinom Zystadenokarzinom
Mesenchymal	Hämangiosarkom Epitheloides Hämangioendotheliom Kaposi-Sarkom Sarkome unterschiedlichen Ursprungs

Tab. 2: Histologische Klassifikation der malignen Neoplasien der Leber

Der häufigste histologische Wachstumstyp ist das trabekuläre HCC, das ein sinusoidales Muster mit einer Endothelschicht an der sinusoidalen Oberfläche sowie mehrschichtigen Zellplatten aufweist. Kupffer-Zellen fehlen in der Regel immer, Retikulin ist – falls überhaupt – nur spärlich vorhanden. (41) Spärliches Retikulin ist ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal zwischen hochdifferenzierten HCC einerseits und Regeneratknoten andererseits, in denen das Retikulinmuster normal ist.

In einigen Tumoren oder auch nur in Anteilen von HCC liegt ein azinäres Wachstumsmuster vor, das durch die pseudoglanduläre Anordnung von Zellen um kleine biliäre Canaliculi herum zustande kommt. (15, 38)

Die Abgrenzung des HCC vom CCC wird durch die bei beiden auftretenden mikronodulären Strukturen erschwert. Daher ist bei der Beurteilung der hepato- und cholangiozellulären Differenzierung der immunhistologische Nachweis verschiedener Zytokeratine und kanalikulärer Strukturen von Bedeutung. (1)

Die Einteilung der histopathologischen Differenzierung in die Grade II bis IV erfolgte 1954 durch Edmondson und Steiner. Während ein Grad I-HCC, also ein hochdifferenziertes, dem

normalen Leberparenchym gleicht, weist ein schlecht differenziertes Grad IV-HCC häufig einen sarkomähnlichen Aspekt auf, indem die neoplastischen Hepatozyten eine spindelförmige Gestalt annehmen und der trabekuläre Aufbau verloren geht. Die meisten HCC werden als Grad II-Tumoren klassifiziert, wobei allerdings ein Tumor Regionen unterschiedlicher histopathologischer Differenzierungsgrade enthalten kann. (15, 38, 39)

2.1.4 Fibrolamelläre Karzinom

Das fibrolamelläre Karzinom (FLC) ist eine Sonderform des HCC. Es gilt als Subtyp des HCC und macht etwa nur 1 bis 2 % aller HCC aus. Das FLC entsteht überwiegend in der nichtzirrhotischen Leber. Histologisch ist es durch säulenartig angeordnete polygonale Tumorzellen gekennzeichnet, die durch Kollagenlamellen gebildet werden. Des Weiteren enthalten die Tumorzellen im Zytoplasma große Mengen an pathologisch veränderten Mitochondrien, welche für die Azidophilie des Zytoplasmas und den „onkozytären“ Aspekt dieser Zellen verantwortlich sind. (1, 15) Der Gesamtanteil fibrolamellärer Karzinome an allen HCC sowie die Assoziation mit einer Leberzirrhose, die Häufigkeit eines Hepatitis-B-seropositiven Befundes und ein erhöhter alpha-Fetoprotein-Spiegel liegt jeweils nur bei etwa 5 %. Fibrolamelläre Karzinome treten bei jüngeren Patienten mit einem Häufigkeitsgipfel im dritten Lebensjahrzehnt auf. Beide Geschlechter sind etwa gleich häufig betroffen. Das FLC wächst expansiv und erreicht oft eine erhebliche Größe (Durchmesser > 10,0 cm). Er ist aber wegen seiner guten Abgrenzung gegenüber dem übrigen Leberparenchym und der häufig fehlenden Assoziation mit einer Leberzirrhose trotzdem gut resektabel. Die Prognose ist in der Regel günstiger als bei den übrigen HCC. (15)

2.2 TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung des HCC

Frühere retrospektive Studien zu Prognosefaktoren sind häufig nicht mehr repräsentativ für die HCC, die mit den gegenwärtigen diagnostischen Methoden nachgewiesen und mit dem derzeitigen therapeutischen Standard behandelt werden. Des Weiteren werden heute häufig kleine HCC im Rahmen von Vorsorgeuntersuchungen nachgewiesen. Die Erkenntnisse aus der Therapie dieser Karzinome sind auch in neuere Klassifikationen eingegangen. (15)

Die Tab. 3 und 4 zeigen die Einteilung des hepatozellulären Karzinoms nach der TNM-Klassifikation der UICC mit den entsprechenden Stadien. (40)

Primärtumor (T)	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
T1	Solitärer Tumor ohne Gefäßinvasion
T2	Solitärer Tumor mit Gefäßinvasion oder multiple Tumoren, keiner mehr als 5,0 cm in größter Ausdehnung
T3	Multiple Tumoren mehr als 5,0 cm in größter Ausdehnung oder Tumoren mit Befall eines größeren Astes der V. porta oder der Vv. hepaticae
T4	Tumor(en) mit direkter Invasion von Nachbarorganen ausgenommen Gallenblase oder Tumore (en) mit Perforation des viszeralen Peritoneums
Regionäre Lymphknoten (N)	
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen
Fernmetastasen (M)	
MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tab. 3: TNM-Klassifikation des HCC

Stadium	T-Kategorie	N-Kategorie	M-Kategorie
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
IIIA	T3	N0	M0
IIIB	T4	N0	M0
IIIC	Jedes T	N1	M0
IV	Jedes T	Jedes N	M1

Tab. 4: Stadieneinteilung des HCC

Die TNM-Klassifikation maligner Lebertumoren und somit auch des HCC hat sich für das T-Stadium in der 6. Auflage grundlegend geändert. (15, 40) Eine Gefäßinfiltration als wesentlicher prognostischer Parameter findet hier Berücksichtigung. Solitärtumoren werden nicht mehr nach ihrer Größe unterschieden, sondern nur nach Fehlen oder Vorliegen einer

Gefäßinvasion und dann als T1- bzw. T2-Tumor klassifiziert. Die Gefäßinvasion kommt oft bildgebend nicht zur Darstellung und kann meist erst während der histopathologischen Aufarbeitung beurteilt werden. Dies betrifft insbesondere kleine Tumoren, wo häufig nur eine mikroskopische Infiltration vorliegt. Der Befall eines größeren Astes der V. portae oder der Vv. hepaticae führt zur Klassifikation als T3-Tumor. Tumoren mit direkter Invasion von Nachbarschaftsorganen, ausgenommen der Gallenblase, oder Tumoren mit Perforation des viszeralen Peritoneums werden als T4-Tumoren klassifiziert.

Insbesondere beim HCC werden Tumorgröße und Multizentrität ebenfalls als prognostische Faktoren beschrieben. Multiple Tumoren mit einem maximalen Einzeldurchmesser von $< 5,0$ cm werden als T2-Tumoren klassifiziert, multiple Tumoren mit einem Einzeldurchmesser von $> 5,0$ cm als T3-Tumoren. Ein maximaler Knotendurchmesser von $5,0$ cm sowie eine Anzahl von bis zu drei Tumorknoten mit einem Knotendurchmesser bis $3,0$ cm werden beim HCC von vielen Transplantationszentren als Grenzbereiche für ein noch zu akzeptierendes Tumorausmaß angesehen. Sie gelten als Surrogatmarker für die vor einer histopathologischen Begutachtung prätherapeutisch nicht erfassbaren mikroskopischen Gefäßinfiltration. Da der prädiktive Wert dieser Surrogatmarker nicht bei 100% liegt, es also auch große und multiple Tumoren ohne Gefäßinfiltration gibt und umgekehrt bei kleinen HCC eine Gefäßinfiltration vorliegen kann, ist der derzeitige Stand der Diagnostik und damit auch der prätherapeutischen Selektion unbefriedigend. Die Einteilung von solitären bzw. multiplen Tumoren innerhalb der TNM-Klassifikation ist methodologisch nicht einheitlich. Die Unterscheidung erfolgt bei Solitärtumoren durch einen nur histopathologischen meist jedoch nicht in der prätherapeutischen Diagnostik erfassbaren Parameter in T1- bzw. T2-Tumoren, bei multiplen Tumoren hingegen aufgrund der Tumorgröße, also einem prätherapeutisch erfassbaren, aber hinsichtlich seiner prognostischen Relevanz ungenaueren Parameter in T2- bzw. T3-Tumoren. (1, 15, 40)

Ansätze, sowohl das Tumorstadium eines HCC als auch Leberfunktionsparameter in neuen prognostischen Stadieneinteilungen zusammenzufassen, wurden mit der Barcelona Clinic Liver Cancer-Klassifikation (BCLC) und der Cancer of the Liver Italian Program-Stadieneinteilung (CLIP) unternommen. (1, 15, 42, 43) Eine solche Einteilung hatten bereits Okuda et al. vorgeschlagen. Sie war jedoch lediglich für die prognostische Bewertung fortgeschrittener HCC-Stadien geeignet, da die Tumorausdehnung nur hinsichtlich eines mehr oder weniger als 50% -igen Befalles der Leber differenziert wurde. (1, 14, 15, 42, 43)

Die Okuda-Klassifikation orientiert sich neben der Tumorgröße an der Klinik und berücksichtigt die zugrunde liegende Leberfunktion mit.

Die Einschätzung der Leberfunktion bei bestehender Zirrhose erfolgt nach der in Tab. 5 aufgeführten Child-Pugh-Klassifikation. (1, 14, 15, 44)

Parameter	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte	Stadien
Aszites	fehlend	gering	ausgeprägt	Child-PughA: bis 6 Punkte
Serumbilirubin (in mg/dl)	< 2	2-3	> 3	Child-PughB: 7-9 Punkte
TZW (in %)	> 50	30-50	< 30	Child-PughC: > 9 Punkte
Serumalbumin (in g/dl)	> 3,5	2,8-3,5	< 2,8	

Tab. 5: Child-Pugh-Klassifikation der Leberzirrhose

Kriterien	Stadien
Tumorgröße > 50 % des Lebervolumens	I kein Kriterium
Aszites	II bis zwei Kriterien
Albumin < 3 g/dl	III mehr als zwei Kriterien
Bilirubin > 3 mg/dl	

Tab. 6: Stadieneinteilung des hepatozellulären Karzinoms nach Okuda

Die CLIP-Stadieneinteilung unterscheidet zusätzlich das solitäre vom multilokulären HCC, berücksichtigt den Serum-AFP-Spiegel sowie die Entwicklung einer Pfortaderthrombose. Mehrere Studien konnten nicht nur die prognostische Relevanz der CLIP-Stadieneinteilung belegen, sondern auch ihre Überlegenheit gegenüber einer Einteilung nach Okuda-Stadien und der TNM-Klassifikation früherer Auflagen. (14, 15, 32)

CLIP (Cancer of the Liver Italian Program)-Scoring-System des hepatozellulären Karzinoms			
Punkte	0	1	2
Child-Pugh-Stadium	A	B	C
Morphologie/ Ausdehnung (eine gemeinsame Kategorie)	Solitär < 50 %	Multilokulär < 50 %	Infiltrativ > 50 %
AFP (ng/ml)	< 400	> 400	
Pfortaderthrombose	Nein	Ja	

Tab. 7: CLIP-Stadieneinteilung

Die BCLC-Klassifikation beschreibt vier Stadien A, B, C und D als frühes, intermediäres und fortgeschrittenes HCC bzw. als Endstadium. Berücksichtigung finden Tumorkriterien, der Allgemeinzustand entsprechend dem Performance-Status der ECOG, das Okuda-Stadium und Angaben zur Leberfunktion, die im Wesentlichen dem Child-Pugh-Stadium entsprechen. Hieraus leitete die Gruppe aus Barcelona Therapieempfehlungen ab:

- Radikales Vorgehen (Lebertransplantation, Leberteilektomie) und Verfahren zur In-Situ-Ablation (RFA, PEI) im Frühstadium A
- Transarterielle Chemoembolisation (TACE) im Intermediärstadium B
- Kontrollierte Studien zu neuen Substanzen oder Therapieformen im fortgeschrittenen Stadium C
- Alleinige symptomatische Therapie im Endstadium D (14, 15, 32)

2.3 Prognosefaktoren

Die Prognose des HCC ist schlecht. Unbehandelt hängt die Überlebenszeit vor allem von der Tumorgroße und der Leberfunktion ab. Entsprechend dem Schweregrad der Leberzirrhose, klassifiziert nach Child-Pugh (Tab. 5), kann die Grunderkrankung lebenslimitierend sein und nicht das HCC. Bei fortgeschrittenen Tumoren beträgt die mittlere Überlebenszeit dennoch selten mehr als ein halbes Jahr. Nur wenig mehr als 100 % aller Patienten – praktisch alle mit Okuda-II-Stadium – überleben unbehandelt länger als ein Jahr.

Bessere Überlebenszeiten haben Patienten mit Tumoren von weniger als 5,0 cm Durchmesser und operierte Patienten. Bei kleinen Tumoren überleben im Child-Pugh-Stadium B/C etwa ein Drittel und im Stadium A mehr als 80 % der Patienten zwei Jahre. Die 5-Jahres-Überlebensrate nach Operation wurde von etwa 10 auf 40 % gesteigert. Obwohl das HCC durch verbesserte diagnostische Möglichkeiten in den letzten Jahren früher erkannt wird, sind die Tumoren nur in ungefähr einem Drittel operabel. (1)

Bei der Betrachtung von Prognosefaktoren muss zum einen zwischen der größeren Gruppe der nicht chirurgisch therapierbaren Patienten und zum anderen zwischen denen, die einer Leberteilektomie bzw. Hepatektomie mit orthotoper Lebertransplantation zugeführt werden können, unterschieden werden. Wichtigster Prognosefaktor bei Inoperabilität ist die anatomische Ausdehnung eines Leberzellkarzinoms, wie sie in der TNM-Klassifikation oder anderen Klassifikationen erfasst wird.

Viele Studien klassifizieren nicht nach TNM-Stadium, sondern getrennt nach einzelnen Parametern wie Tumorgroße- und -multiplizität, Invasion von Gefäßen oder Vorhandensein von Metastasen. Dies ist für die Vergleichbarkeit von Studien wichtig. Nach multivarianten Analysen

sind das Alter, das Vorbestehen einer Leberzirrhose, Aszites und erhöhtes Bilirubin, Blutharnstoff und GTP weitere Einflussgrößen. Nach univarianten Analysen fließen außerdem noch das Geschlecht, der Allgemeinzustand und verschiedene andere Laborparameter in die Prognose mit ein. Hepatozelluläre Karzinome auf dem Boden einer chronischen Hepatitis-C-Infektion sind häufiger mit einer Leberzirrhose und mit einer schlechteren Prognose verbunden als solche, die aufgrund einer Hepatitis-B-Infektion entstehen. Auch im Fall einer extrahepatischen Metastasierung eines HCC wird die Prognose weitgehend durch die hepatische Tumormanifestation bestimmt. Ein Knochenbefall beeinflusst z. B. nur selten den individuellen Krankheitsverlauf, auch wenn sich die Prognose für die Lebenserwartung statistisch weiter verschlechtert. Dies scheint jedoch darauf zurückzuführen zu sein, dass der Tumor zugleich in der Leber entsprechend fortgeschritten ist. (1)

Bei operierten HCC-Patienten sind die wichtigsten prädiktiven Faktoren für das Überleben die Höhe des AFP im Serum, die Tumorgröße, die Anzahl der Tumoren, eine begleitende Leberzirrhose, das Lebensalter, die chirurgische Resektabilität und ein Tumoreinbruch in das Pfortadersystem.

Patienten, deren Tumor im Gesunden reseziert werden konnte oder die bei Tumoren von weniger als 5,0 cm orthotop transplantiert wurden, haben signifikant bessere Überlebenszeiten aufgewiesen als Patienten, bei denen ein operativer Eingriff nicht mehr möglich ist. (1)

Die univariante Analyse von Patientenvariablen zeigte, dass erhöhte Werte für AFP, Bilirubin oder alkalischer Phosphatase, eine verlängerte PTT, eine Pfortaderthrombose sowie ein varianter Östrogenrezeptor im HCC eine ungünstige Prognose der HCC-Patienten erwarten lassen. Die multivariante Analyse dieser Variablen ergab, dass Bilirubin und der v ER im HCC unabhängige prognostische Faktoren sind. (3, 45)

Weiterhin muss beim HCC berücksichtigt werden, ob zusätzlich eine Leberzirrhose vorliegt und welches therapeutische Verfahren gewählt wird. So besitzt die Gefäßinfiltration in multivarianten Analysen offenbar nur nach Lebertransplantation eine signifikante Bedeutung, nicht jedoch nach Leberteileresektion. (15, 25, 46)

Andere prognostische Parameter nach Resektion bei Patienten mit HCC sind die Diagnose im Rahmen von Vorsorgeuntersuchungen und – als ungünstige Faktoren – das Vorliegen einer Leberzirrhose, ein erhöhter AFP-Spiegel (die Zäsuren liegen zwischen 400 und 2000 mg/ml), Satellitenknoten, das Fehlen einer Kapsel, ein erhöhtes Kern-Zytoplasma-Verhältnis, DNA-Aneuploidie, fortgeschrittenes Alter und männliches Geschlecht. Jonas et al. konnten bei Patienten nach Lebertransplantation aufgrund eines HCC die DNA-Ploidie als wertvollen Prognosefaktor identifizieren. Der Vorhersagewert der DNA-Ploidie ist dabei dem des

Tumorstadiums sowie weiteren Prognosefaktoren überlegen. Aneuploidie bei Patienten mit Lebertransplantation wegen eines HCC wies dabei auf eine schlechtere Prognose hin, hingegen deuteten diploide und polyploide Tumoren der LTX-Patienten auf eine gute Prognose. (15, 28, 47)

Die gleiche Arbeitsgruppe konnte in univarianten Analysen den DNA-Index, die Gefäßinvasion, die Einhaltung der Mailänder Kriterien und das histopathologische Tumorgrading als prognostische Parameter nach Lebertransplantation identifizieren. In multivarianten Analysen konnten der DNA-Index und die Gefäßinvasion als Prognoseparameter identifiziert werden. (24)

Die Leberzirrhose stellt für sich einen ungünstigen prognostischen Faktor dar. Dafür sind drei Faktoren bedeutsam:

1. Eine Leberzirrhose gilt als Präkanzerose, so dass nach erfolgreicher Resektion oder lokaler ablativer Therapie das Risiko eines De-novo-HCC weiterhin bestehen bleibt.

In einer multivarianten Analyse zur Identifikation von Risikofaktoren für ein intrahepatisches Rezidiv nach kurativer Resektion eines HCC, die an 244 Patienten in Hongkong durchgeführt wurde, waren das Child-Pugh-Stadium der Zirrhose und der Serum-Albuminspiegel als Einzelparameter unabhängige signifikante Variablen. (48) Eine ältere Studie berichtete nach 47 Resektionen beim HCC in Zirrhose eine De-novo-HCC Rate von 55 %. (49)

2. Etwa die Hälfte der Patienten mit einem HCC in Zirrhose verstirbt am HCC bzw. an tumorassoziierten Komplikationen. Die restlichen Todesfälle ereignen sich im Rahmen einer Progression bzw. akuten Dekompensation der Zirrhose.

Dieses Risiko ist abhängig vom Zirrhosestadium und bedeutsam sowohl für die Beurteilung des Spontanverlaufes eines HCC in Zirrhose als auch bei allen Therapieformen außer der Lebertransplantation. Nur so kann simultan eine Therapie der Leberzirrhose und häufig auch der primären Grunderkrankung durchgeführt wird.

3. Die therapeutischen Möglichkeiten sind vor allem in Hinsicht auf das Ausmaß des Parenchymverlustes bei einer Leberteilektomie, aber auch bei lokal ablativen Verfahren (gegenüber den Patienten ohne Leberzirrhose) deutlich eingeschränkt.

Letalitäts- und Morbiditätsraten liegen bei Leberzirrhose höher und sind v. a. durch eine strenge Selektion d. h. durch Ausschluss von Patienten günstig zu beeinflussen.

Molekulare Marker sind als Prognosefaktoren bei primären malignen Lebertumoren eine Option für die Zukunft. Derzeit sind die Literaturdaten und die klinischen Studien noch nicht

ausreichend, um neuen Parametern, DNA-Untersuchungen, Onkogenen, Tumorsuppressorgenen, Adhäsionsmolekülen oder Proliferationsmarkern eine klinische Bedeutung zuzubilligen. (1)
Zusammenfassend bleiben als entscheidende prognostische Faktoren für den klinischen Verlauf des HCC die anatomische Tumorausbreitung und die Radikalität der Resektion. Dies unterstreicht die hohe klinische Bedeutung bildgebender Verfahren.

2.4 Klinische Symptomatologie

Das HCC ist ein lange Zeit asymptomatischer Tumor, wenn nicht gleichzeitig eine chronische Lebererkrankung vorliegt, die zur weiteren Diagnostik Anlass gibt. Die Verbindung mit einer chronischen Lebererkrankung ist beim HCC häufig, so dass v. a. das HCC in Zirrhose aufgrund von Screeninguntersuchungen auch in frühen Stadien nachgewiesen werden kann. (8, 9, 50) Ein HCC ohne eine assoziierte Lebererkrankung wird jedoch erst in späten fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert. Symptome bei primären Lebertumoren, die nicht als Zufallsbefund entdeckt wurden, sind in der Tab. 8 aufgeführt. (15)

Symptom	(%)
Druckgefühl, Oberbauchbeschwerden	50-70
Gewichtsverlust	40-70
Inappetenz, Leistungsknick	25-50
Appetitlosigkeit, Anorexie	25-40
Ikterus	20-60
Hepatomegalie	15-40
Fieber	10-30
Ödeme	5-20
Aszites	2-10

Tab. 8: Symptomatik primärer Lebertumoren

Beim Auftreten klinischer Symptome ist ein HCC bereits weit fortgeschritten. Kleine und zunächst asymptomatische Tumoren in einer vorbestehenden Lebererkrankung können aber auch durch eine Dekompensation dieser Lebererkrankung auffällig werden.

Zeichen der Dekompensation, die Anlass zur weiteren diagnostischen Abklärung geben sollten, sind Aszites, Blutungen aus Ösophagusvarizen, Symptome einer hepatischen Enzephalopathie und gelegentlich auch Fieber unklarer Genese. (1, 15)

Beim HCC können darüber hinaus paraneoplastische Syndrome wie Hyperkalzämie, Pubertas präcox, Gynäkomastie, Hypertriglycerid- und -cholesterinämie sowie Hypoglykämie auftreten. Die Hypoglykämie ist dabei durch den erhöhten Energieverbrauch des Tumors sowie durch die Sekretion des „insulin-like growth factor II“ bedingt. Andere paraneoplastische Syndrome können hervorgerufen werden durch die Bildung von gastrointestinalen Peptiden (wässrige Durchfälle durch das vasoaktive intestinale peptid-VIP), durch erhöhte Sekretion von Erythropoietin (Erythrozytose) oder infolge vermehrter Bildung von Angiotensinogen (arterielle Hypertonie). (15)

2.5 Diagnostik und Staging

Neben der Anamnese und dem klinischen Untersuchungsbefund sowie der Feststellung des Child-Pugh-Status gehören zur obligaten Diagnostik eine Laboruntersuchung mit Bestimmung des Tumormarkers AFP und der Hepatitisserologie, die Sonographie des Abdomens und eine Röntgenuntersuchung des Thorax in zwei Ebenen. Neben der Artdiagnostik sind für den Chirurgen v. a. auch die Lage und die Ausdehnung eines Tumors in der Leber von Bedeutung. Hier erfolgt die Diagnostik mittels Computertomographie oder Magnetresonanztomographie. (14, 15)

2.5.1 Tumormarker

Das alpha-1-Fetoprotein ist der klinisch bedeutsamste Tumormarker in der Diagnostik des HCC. Die Serumkonzentrationen des AFP und die Rate der Patienten, die überhaupt eine erhöhte Serumkonzentration aufweisen, sind von der geographischen Region abhängig. In Populationen mit einer hohen Inzidenz des HCC liegt die Sensitivität der AFP-Bestimmung bei 80-90 % gegenüber einer Sensitivität von 50-70 % in Populationen mit einer niedrigen Inzidenz. Des Weiteren ist die AFP-Produktion eines HCC abhängig vom Alter des Patienten. Es konnte gezeigt werden, dass die Serumkonzentrationen bei jüngeren Patienten höhere Werte erreichen. In Regionen mit hoher HCC-Inzidenz wurden bei jüngeren Patienten mittlere AFP-Serumspiegel von 60000-80000 ng/ml beschrieben gegenüber mittleren Serumspiegeln um 3000 ng/ml in Regionen mit niedriger Inzidenz. AFP-Serumkonzentrationen von > 20 ng/ml gelten als erhöht, Konzentrationen von > 500 ng/ml als diagnostisch. Serumspiegel < 500 ng/ml können aber ebenso durch eine Reihe benigner Lebererkrankungen wie z. B. einer akuten oder chronischen Hepatitis sowie einer Leberzirrhose hervorgerufen werden. (14, 15)

Falsch positive Ergebnisse in Hinsicht auf die Diagnose eines HCC können bei Patienten mit Tumoren endodermalen Ursprungs, undifferenzierten Teratokarzinomen oder embryonalzelligen

Hoden- oder Ovarialkarzinomen auftreten. Zudem kommen erhöhte AFP-Werte auch in der Schwangerschaft vor. (14,15) Die Spezifität des AFP als Serummarker wird insgesamt mit 90 % angegeben, wenn gleichzeitig der Grenzwert für eine Erhöhung bei 20 ng/ml festgesetzt wird. (51) Eine Steigerung der Spezifität ohne gleichzeitige Absenkung der Sensitivität wird durch die Identifizierung und den Nachweis von AFP-Isoformen angestrebt. (52, 53)

Die Rate AFP-negativer Befunde liegt bei Patienten mit einem HCC in Regionen mit einer niedrigen Inzidenz bei ca. 30-50 %. Unterschiede hinsichtlich tumorbiologischer Parameter oder der Überlebenszeit wurden beim Vergleich AFP-negativer und AFP-positiver HCC nicht nachgewiesen. Allerdings weisen kleine asymptomatische HCC deutlich geringere AFP-Spiegel auf als symptomatische Tumoren. (14, 15, 51, 52, 53)

2.5.2 Ultraschalldiagnostik

Die Vorteile der Ultraschalldiagnostik liegen in der schnellen Verfügbarkeit, der Sicherheit und der Kosteneffektivität. Die Sonographie ist damit als regelmäßige Screeninguntersuchung zur HCC-Früherkennung weit verbreitet. Nachteile stellen die fehlende Standardisierung sowie die untersucherabhängige Sensitivität und Spezifität dar. Auch kleine Herde können normalerweise gut mit dieser bildgebenden Untersuchung erkannt werden. Die Methodik besitzt jedoch spezielle, zumeist anatomisch bedingte Nachteile – so bei der Diagnostik im Bereich des subdiaphragmalen linken und des herznahen rechten Leberlappens. Dies gilt auch für den Nachweis kleiner HCC in einer vorbestehenden Zirrhose. Dabei muss jede fokale Läsion in einer zirrhotischen Leber bis zum Beweis des Gegenteiles als HCC angesehen werden. (14, 15)

Die Sensitivität der Sonographie für das HCC wird mit 80 % angegeben. Die transabdominelle Ultraschalldiagnostik wird durch Farb-Doppler-Verfahren, den kontrastverstärkten Ultraschall und die intraoperative Sonographie (IOUS) ergänzt. Die Sensitivität kann durch eine IOUS um 10 % angehoben werden. Andere Autoren geben die Spezifität und Sensitivität für das HCC mit einem Durchmesser von < 3,0 cm mit jeweils über 90 % an. (54)

Die dynamische kontrastverstärkte Dopplersonographie mit intraarterieller Infusion von CO₂-Mikrobläschen und die intravenös verstärkte Farb-Doppler-Sonographie können den arteriellen und portal-venösen Blutfluss in Tumorknoten darstellen und die Abgrenzung zwischen HCC- und einem benignen Knoten erleichtern. (1, 15, 55)

2.5.3 Computertomographie

Die Computertomographie besitzt einen zentralen Stellenwert in der Diagnostik von unklaren Raumforderungen der Leber und gilt seit langem als das bedeutendste Screeningverfahren bei in der Ultraschalldiagnostik vorbestehendem Tumorverdacht.

Die Spezifität der computertomographischen Abklärung eines Malignoms der Leber liegt bei etwa 70-90 %. Die Spiral-CT mit ultraschnellen Sequenzen führt zu einer Sensitivität von etwa 90 % auch in der Darstellung kleiner HCC. Diese Sensitivitäts- und Spezifitätsraten sind vergleichbar mit denen, die für die Ultraschalldiagnostik durch einen Untersucher mit großer Erfahrung angegeben werden. Dennoch hat die Spiral-CT für den Chirurgen große Vorteile:

1. Die Befunde sind jederzeit reproduzierbar und nachvollziehbar.
2. Die Größe, Anzahl und Lokalisation der Raumforderung können zur individuellen Leberanatomie ins Verhältnis gesetzt werden.
3. Die Aussagen zu Erkrankungen des Leberparenchyms im Sinne von Fettleber oder einer Zirrhose sind möglich.
4. Die extrahepatischen Tumormanifestationen können zusätzlich erfasst werden.

Wesentlich für die Reproduzierbarkeit sind gerade in der biphasischen Spiral-CT Injektionsprotokolle für die intravenöse Kontrastmittel-Applikation, durch die die arterielle klar von der portalen Perfusionsphase abgegrenzt wird. Aufgrund der pathologischen arteriellen Vaskularisierung des HCC kommt es in etwa 80 % der Fälle in der frühen arteriellen Perfusionsphase zu einer umschriebenen Kontrastmittel-Aufnahme. Die portale Perfusionsphase zeigt dann eine Auswaschung. Regeneratknoten in einer zirrhotisch umgebauten Leber werden dagegen hauptsächlich portal-venös perfundiert, so dass sie in der arteriellen Perfusionsphase eher hypodens erscheinen. Kleine HCC mit einem Durchmesser $< 1,0$ cm weisen ein ähnliches Perfusionsmuster auf wie Regeneratknoten und können daher ebenfalls in der frühen arteriellen Phase hypodens erscheinen. Die diagnostische Sicherheit ist bei diesen Herden also deutlich geringer als bei größeren HCC. (15)

Mit der Einführung der Mehrzeilencomputertomographie (MSCT) in Zusammenhang mit schnellen Röhrenrotationen im Subsekundenbereich (0,5-0,8 s) steht ein Verfahren zur Verfügung, dass im Vergleich zur konventionellen Spiral-CT eine mehrfach schnellere und dünnschichtigere Volumenabtastung (Untersuchung des gesamten Leberparenchyms in 10 s) ermöglicht. Folglich ist die Evaluation der Leber in einer frühen und späten arteriellen Phase wie auch in der portalvenösen Phase möglich. (13) Die MSCT führte in Protokollen, die erstmals

auch eine doppelte arterielle Untersuchungsphase zur Diagnostik des HCC empfehlen, zu einer höheren Sensitivität bei gleichzeitig weniger falsch-positiven Befunden. (56) Andere Studien hingegen konnten eine Verbesserung der Diagnostik des HCC durch Verwendung einer früh- und spärarteriellen Phase nicht bestätigen. (57) Über die kontrastmittelverstärkte CT hinaus werden immer häufiger kombinierte diagnostische Verfahren wie beispielsweise die Positronenemissionstomographie und die Computertomographie oder die arterielle Portographie und die hepatische Arteriographie eingesetzt, welche insbesondere für spezielle Fragestellungen wertvolle und auch therapiebestimmende Informationen liefern. (58, 59)

Fujishima et al. untersuchten an 137 Patienten mit hepatozellulärem Karzinom auf dem Boden einer chronischen Hepatitisinfektion die diagnostischen Möglichkeiten der CT kombiniert mit der arteriellen Portographie und hepatischer Arteriographie gegenüber der alleinigen dynamischen CT-Untersuchung. Die kombinierte Untersuchungstechnik aus CT und arterieller Portographie oder CT und hepatischer Arteriographie detektierte in 33 von 137 (24 %) Patienten zusätzliche HCC-Läsionen. Insbesondere bei fortgeschrittenem HCC als auch bei HCC-Rezidiven waren die kombinierten Untersuchungsmethoden der reinen dynamischen CT überlegen. (58)

Die Bedeutung der CT in der Umfelddiagnostik wird ebenso bei der Abklärung thorakaler Raumforderungen deutlich. Die CT-Thorax erfolgt in der Regel bei unklarem Röntgenbefund. Von der DGVS wird die Ansicht vertreten, dass die CT-Untersuchung des Thorax obligat zur Abklärung primärer Leberkarzinome zählt. (15)

2.5.4 Magnetresonanztomographie

Die Computertomographie besitzt seit Jahren einen zentralen Stellenwert in der präoperativen Abklärung eines unklaren Leberherdes. Aufgrund der größeren Qualitätskonstanz und Erfahrungen ist die biphasische Spiral-CT gegenüber der MRT lange Zeit das bedeutendere Screeningverfahren bei in der Sonographie vorbestehendem Tumorverdacht gewesen. Diesbezüglich scheint sich jedoch ein Wandel zugunsten der MRT zu vollziehen. (15)

Die besonderen Vorteile der MRT liegen in der Bildgebung ohne Strahlenexposition und im Einsatz von Kontrastmitteln ohne Nephrotizität.

In einer vergleichenden Untersuchungsstudie der dynamischen MRT vs. Spiral-CT von Oi et al. konnten für Läsionen < 1,0 cm Detektionsraten für das MRT von 55 % gegenüber dem arteriell gewichteten Spiral-CT mit 34 % gefunden werden. Bei Läsionen > 2,0 cm lagen die Detektionsraten für die dynamische MRT deutlich über 80 %. (13, 60)

Die Diagnose eines HCC kann entsprechend den EASL-Kriterien auch beim Vorliegen normaler Leberwerte gestellt werden, wenn ein Tumorknoten in zwei bildgebenden Verfahren (Ultraschall, CT, MRT) dargestellt und insbesondere wenn in einer Leberzirrhose eine Kontrastmittel-Verstärkung mittels Spiral-CT oder dynamischer KM-unterstützter MRT nachgewiesen wird. (43) Ein AFP-Spiegel > 400 ng/ml sowie der Tumornachweis in zwei bildgebenden Verfahren bedeutet ebenfalls eine sehr hohe diagnostische Wahrscheinlichkeit. Bei Anwendung dieser Kriterien kommt man ohne Biopsie zu einer diagnostischen Sicherheit von 99,6 %. (61) Sensitivität und Spezifität betragen in dieser Studie 100 bzw. 98,9 %, positiver und negativer prädiktiver Wert 99,3 bzw. 100 %. Weiterhin wurde festgelegt, dass bei Knotenbildungen $> 2,0$ cm eine biopsische Klärung nicht obligat notwendig ist. (13, 15, 43)

2.5.4.1 Nativdiagnostik des HCC in der MRT

Für die bildgebende Evaluation des HCC ist die Kaskade der Karzinogenese auf dem Boden einer Zirrhose wichtig. Dabei findet sich ein fließender Übergang von regenerativen Knoten in dysplastische. In einem mehrphasigen Vorgang soll dann die Umwandlung des dysplastischen Knotens in das Frühstadium des HCC oder des soliden Karzinoms in Abhängigkeit vom Differenzierungsgrad erfolgen. In diesem Zusammenhang gilt es zu beachten, dass die Kaskade keinem imperativen Verlauf unterliegt, d. h., nicht jeder Regeneratknoten entwickelt sich zu einem HCC. Umgekehrt kann ein HCC auch in einem normalen Leberparenchym detektiert werden. (13, 14)

Für die bildgebende Diagnostik ist die Kenntnis der Charakteristika des HCC wie die Tendenz zur Hämorrhagie, zur Nekrotisierung und zum multizentrischen Wachstum mit Schwellung wesentlich. Weiterhin müssen die vaskulären Affektionen dieser Tumorentität wie die Invasion subsegmentaler oder segmentaler Äste der V. portae oder auch der hepatischen Venen erfasst werden. Die Wachstumsformen des HCC werden differenziert in eine noduläre, eine massive und eine diffus infiltrative Form. Wesentlich ist dabei die differente Vaskularisation abhängig vom Entwicklungsstadium innerhalb der Karzinogenese. So zeigen Regeneratknoten im Übergang zu den dysplastischen Knotenbildungen eine Zunahme der arteriellen Perfusion bei Reduktion der portalen Perfusion. Diese erfährt eine weitere Steigerung in Richtung des soliden HCC. (13)

Die native MR-Diagnostik des HCC beruht auf der Analyse der klassischen Kriterien wie der soliden Tumormasse, der diffus parenchymatösen Manifestation sowie der multinodulären Infiltration. Die Analyse der Umgebungsstrukturen erleichtert die Abgrenzung zirrhotischer Umbauvorgänge gegenüber dem solitär lokalisierten HCC. Das Signalverhalten in der nativen

MRT beeinflusst entscheidend die Differentialdiagnose. Die Signalcharakteristika beruhen auf pathologischen Faktoren wie ausgeprägter Fibrose, Ausbildung einer Tumornekrose, Menge des eingelagerten Fettgewebes als auch Einblutungen in der akuten, subakuten oder chronischen Phase. (13) Grundsätzlich ist die Tumor-Signalintensität in der T1-Wichtung niedriger und in der T2-Wichtung höher. Neben T1- und T2-gewichteten Sequenzen werden heute auch Turbo-Spino- und Gradientensequenzen mit und ohne Fettsättigung angewendet. (1)

Hohe Signalintensitäten in der T1-gewichteten Sequenz eines HCC beruhen dabei pathologisch auf dem Vorliegen einer Steatosis hepatis, einer erhöhten Konzentration an intrazellulärem Glykogen, einer hämorrhagischen Nekrose oder einer Ablagerung von Kupfer. Dieses Signalverhalten wird bei anderen differentialdiagnostisch wichtigen Läsionen wie den Regenerat- oder dysplastischen Knoten selten beobachtet. Ursächlich dafür ist ein im Vergleich zum zirrhotisch umgebauten Leberparenchym erhöhter Fett- und Glykogengehalt insbesondere in gut differenzierten HCC-Formationen. Diese Komponenten werden dabei in partiell funktionstüchtigen Hepatozyten freigesetzt. Im Unterschied zum HCC imponieren Regeneratknoten in der Regel durch einen Signalverlust in den T1-gewichteten Sequenzen durch die Akkumulation von Eisen. Liegt eine diffus kleinflächige Regeneration in einer Leberzirrhose vor, beobachtet man häufig ein stark variables Signalverhalten der Knoten in den T1-gewichteten Sequenzen. In zahlreichen Untersuchungen konnten minimale Zonen von Dysplasien und darüber hinaus hochdifferenzierte HCC-Formationen in größeren Regeneratknoten nachgewiesen werden. (8, 9) Die Formierung eines hyperintensiven Knotens in einem hypointensen Regeneratknoten in der T1-gewichteten Sequenz ist in diesem Zusammenhang so spezifisch für das Vorliegen eines HCC, dass hier eine chirurgische Resektion auch im Falle einer negativen Biopsie erfolgen sollte. (13)

In den T2-gewichteten Sequenzen weisen die HCC-Formationen charakteristischerweise eine erhöhte Signalintensität auf. Sie können damit von sekundären Infiltrationen wie Metastasen nicht spezifisch differenziert werden, wenn auch die Metastasen im Vergleich zu den lebereigenen Tumoren in der Regel eine deutlich höhere Signalintensität aufweisen. Typisch für das HCC ist die sog. Mosaikstruktur. Intratumoral hypointense Areale stellen sich mit linearer Konfiguration dar. Größere Läsionen zeigen sich im Vergleich zu den kleineren inhomogen. Treten zusätzliche Perfusionsdefekte bei einer portalen Okklusion auf, finden sich weitere charakteristische Veränderungen mit diffuser geographischer Signalanhebung. Manchmal kann man in der T2-gewichteten Sequenz überdies Kalzifikationen mit einer niedrigen Signalintensität detektieren. Zur Differenzierung von Hämorrhagien gegenüber der Steatosis empfiehlt sich der Einsatz von fettunterdrückten Sequenzen. Hämorrhagien können dabei in der Regel nicht

vollständig unterdrückt werden. Das morphologische Kriterium einer Enkapsulierung findet sich bei westlichen Patienten im Vergleich zu Asiaten seltener. Der Kapselsaum kommt dann in den T1- und T2-gewichteten Sequenzen mit signalarmer Textur zur Darstellung. (13)

2.5.4.2 Kontrastmittelverstärkte Diagnostik des HCC in der MRT

Beim Einsatz von MR-Kontrastmitteln für die Detektion des HCC muss man prinzipiell zwischen positiven paramagnetischen und negativen superparamagnetischen Kontrastmitteln differenzieren. Die Tab. 9 zeigt derzeit klinisch eingesetzte leberspezifische MR-Kontrastmittel. (1)

Prinzip	Chemische Stoffklasse	Name
Retikuloendothelial	Eisenoxid (AMI-25) Eisenoxid (SHU-555A)	Endoderm, Feridex Resovist
Hepatobiliär	Gd-EOB-DTPA Gd-BOPTA Mn-DPDP	Primovist, Eovist MultiHance Teslascan

Tab. 9: Vertreter leberspezifischer MR-Kontrastmittel

Positive Kontrastmittel sind charakterisiert durch die Induktion einer Steigerung der Signalintensität des hepatozellulären Karzinoms in den T1-gewichteten MR-Sequenzen. Zu der Gruppe der positiven Kontrastmittel zählen Chelate mit zentralem Gadolinium- bzw. Mangan-Atom. Es handelt sich jeweils um paramagnetische Kontrastmittel. Extrazelluläre Kontrastmittel wie z. B. Gadolinium-Diethylentriaminpentaacetat-Gd-DTPA (Magnevist) verteilen sich im extrazellulären Raum nach intravenöser Applikation vergleichbar dem Verhalten jodierter Kontrastmittel. Aufgrund der erhöhten Permeabilität des hepatozellulären Karzinoms mit einer Vergrößerung des extrazellulären Raumes kommt es in den statischen Post-Kontrastaufnahmen in der Equilibriumphase zu einer Maskierung der fokalen HCC-Infiltration, die aufgrund einer Kontrastreduzierung von HCC zum umliegendem Lebergewebe resultiert. Daher empfiehlt sich obligat die Untersuchung mittels einer dynamischen MR-Technik nach intravenöser Applikation des Kontrastmittels. Obligat sollten dabei in Atemstillstandstechnik eine arterielle, eine portalvenöse und eine venöse Phase angefertigt werden. Wesentlich ist die früharterielle Hypervaskularisation des hepatozellulären Karzinoms, so dass den Aufnahmen in der ersten Minute nach Applikation des Kontrastmittels eine hohe Bedeutung bei der Detektion des HCC und der Erfassung der Multifokalität zukommt. In der Literatur werden für den Einsatz der dynamischen MRT mit extrazellulären Kontrastmitteln Sensitivitäten bis 94 % und Spezifitäten bis 96 % angegeben. (13, 60, 61)

Für die bessere Darstellung von Leberläsionen mit der MRT zeichnete sich in einer an 41 Patienten retrospektiv durchgeführten Studie Mangafodipir Trisodium aus. Die Gabe von Mangofodipir verbesserte die Differenzierung von Adenomen und HCC gegenüber benignen, sog. nichtchirurgischen Läsionen wie Regeneratknoten oder der fokal nodulären Hyperplasie signifikant. (10)

Eine andere beschriebene Art zur Signalverstärkung und Kontrastierung von T2-gewichteten fast-spin-echo-MRT findet sich in der Gadolinium verstärkten gradient-recall-echo-Darstellung. Durch die Kombination beider Techniken konnten signifikant mehr Leberläsionen präoperativ korrekt identifiziert werden. (63)

Im Rahmen der MRT wird intensiv die Anwendung von leberspezifischen Kontrastmitteln untersucht. In der klinischen Prüfung befinden sich Eisenoxide und hepatobiliär verstoffwechelte Substanzen. Es gibt zahlreiche klinische Untersuchungen für die Nutzbarkeit der hepatobiliären Kontrastmittel Mangan-Dipyroxyldiphosphat (Mn-DPDP), Gadolinium-Benzylxypropinyltetraacetat (Gd-BOPTA) und Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethyltriaminpentaacetat (Gd-EOB-DTPA). Dabei handelt es sich um Verbindungen, die intrazellulär von den Hepatozyten aufgenommen werden. Die Detektionsrate wird sowohl gegenüber T1- als auch T2-gewichteten Nativaufnahmen gesteigert und die Abgrenzbarkeit der Tumoren verbessert. Die besten Ergebnisse in der Tumordetektion erzielt die Verwendung T1-gewichteter Gradientenechosequenzen 30 min und 120 min nach Kontrastmittelgabe. Eine Anreicherung deutet im Übrigen auf einen hepatozellulären Ursprung eines Tumors (Adenom, FNH, Regeneratknoten, HCC) hin. Die Unterscheidung zwischen Regeneratknoten und HCC in einer zirrhotischer Leber bleibt jedoch problematisch. (1)

Hepatobiliäre Kontrastmittel wie Gd-BOPTA (MultiHance®), Mn-DPDA (Teslacan®) wie auch Gd-EOB-DTPA (Primovist®, Eovist®) basieren auf der spezifischen Kontrastierung von Hepatozyten. Über spezifische Transportmechanismen kommt es zur intrazellulären Aufnahme des Kontrastmittels und im weiteren Verlauf zu einer Sezernierung in die Galle. Für alle Substanzen gilt in unterschiedlichem Umfang eine Elimination sowohl hepatobiliär als auch renal. Nach i.v.-Applikation dieser Substanzen kommt es zu einer Erhöhung der Signalintensität des normalen Lebergewebes in der frühen Perfusionsphase bei Gd-BOPTA wie auch bei Gd-EOB-DTPA und zu einer deutlichen Hypervaskularisation des hepatozellulären Karzinoms und damit zu einer Hyperintensität. Mittels dynamischer Techniken können dabei auch kleine Läsionen ($\leq 5,0$ cm) in einer frühen arteriellen Hypervaskularisation spezifisch erfasst werden. Dynamisch erweist sich mittels dieser Techniken die Differenzierung des HCC von einem Dysplasieknoten bzw. komplexen Regeneratveränderungen als schwierig. Spätaufnahmen in der

hepatobiliären Phase erlauben in begrenztem Umfang eine weitere Differenzierung gegenüber anderen fokalen Leberläsionen wie Metastasen, der FNH und dem Leberzelladenom. Diese hepatobiliäre Phase bringt bei Einsatz hochaufgelöster T1-gewichteter Sequenzen eine sehr hohe Treffsicherheit zur Detektion fokaler Läsionen. Zusammenfassend liegt für die hepatobiliären Kontrastmittel der Vorteil in der möglichen Kombination der diagnostischen Parameter aus einer extrazellulären Perfusionsphase und einer hepatobiliären Parenchymphase. (13)

2.5.4.3 Superparamagnetische Kontrastmittel

Per definitionem gelten die superparamagnetischen Kontrastmittel (Eisenoxide), sog. negative Kontrastmittel, als retikuloendotheliale Kontrastmittel und stellen eine spezifische Kontrastmitteltechnik für den Einsatz in der MRT dar.

In T2-gewichteten Spinoecho- oder Gradientenechosequenzen führt die Aufnahme der Substanz durch die Kupfferschen Sternzellen zu einer Signalreduktion des Leberparenchyms oder auch von Tumorformationen, die ebenfalls über ein intaktes Kupffersches Zellsystem (wie z. B. in Knochenmark, Milz und Lymphknoten) verfügen. Retikuloendotheliale Kontrastmittel kommen v. a. in der Diagnostik von Lebermetastasen zum Einsatz, hepatobiliäre Kontrastmittel sind zusätzlich hilfreich in der Differentialdiagnostik HCC und benigner Lebertumoren. (15) Bloodpool- und Perfusionseffekte dieser Kontrastmittel können auch in T1-gewichteten Sequenzen dokumentiert werden. Zwei Substanzen stehen derzeit intravenös applizierend zur Verfügung: AMI-25 (Endorem®) sowie SHU555A (Resovist®). Im Unterschied der beiden Substanzen kann das neue Kontrastmittel Resovist® intravenös im Bolus injiziert werden und ist durch eine deutlich geringere Nebenwirkungsrate charakterisiert. Mittels der Bolus-Applikationstechnik kann sowohl mit T1- als auch T2-gewichteten Gradientenechosequenzen die Dynamik der Kontrastmittelaufnahme analysiert und dabei die Differentialdiagnose fokaler Leberläsionen verbessert werden. Die hohe diagnostische Sicherheit der superparamagnetisch verstärkten MRT basiert auf der präzisen Differenzierung von Regeneratknoten gegenüber dysplastischen Herden, Adenomen und dem hepatozellulären Karzinom. Während Regeneratknoten eine relevante Kontrastmittelaufnahme der superparamagnetischen Substanzen aufweisen, ist dies beim HCC in der Regel nicht der Fall. In klinischen Studien konnte eine deutliche Verbesserung der Tumordetektion durch den Einsatz von Ferritverbindungen im Vergleich zur Nativuntersuchung nachgewiesen werden. (1) Mittels Einsatz dieser Substanzen können derzeit Sensitivitäten von bis zu 86 % und eine Spezifität bis zu 93 % zur Detektion des HCC > 10 mm erzielt werden. (8, 50) Damit sind diese Daten den Ergebnissen der bislang als

Goldstandard betrachteten invasiven CTAP vergleichbar und erlauben somit den Ersatz dieser Techniken. Parallel können mittels der superparamagnetisch verstärkten MR-Angiographie auch die Lagebeziehungen der Tumorformation zu den großen Lebervenen, den Pfortaderästen sowie weiteren vaskulären Leitstrukturen erfasst werden. (13) In der Tab. 10 sind die bildgebenden MR-Kriterien für das HCC zusammengefasst. (13)

Bildgebung mit	HCC
MRT	Nativ: T1-hypointens T2-hyperintens Gadolinium: arterielle Anreicherung, Gefäßinvasion Superparamagnetic Iron Oxid: initialer Signalanstieg

Tab. 10: MR-Kriterien des hepatozellulären Karzinoms

In der Diagnostik des kleinen HCC in Zirrhose liegt die Sensitivität der dynamischen MRT höher als die der Spiral-CT. (12) Trotzdem ist die MRT kein Verfahren, das ein tumorbeweisendes Signalverhalten akquiriert. Die typische arterielle Hypervaskularisierung fehlt bei frühen HCC häufig. Gerade die sichere Differenzierung zwischen kleinen, hochdifferenzierten HCC und dysplastischen oder Regeneratknoten sowie Adenomen ist schwierig und bislang nicht in größeren Studien mit histologischer Evaluierung bewiesen worden. Besonders schwierig ist die diagnostische Abklärung suspekter intrahepatischer Raumforderungen mit einem Durchmesser < 1,0 cm. Pathologische Studien haben gezeigt, dass diesbezüglich in etwa 50 % der Fälle eine maligne Transformation vorliegt. Im praktischen Vorgehen ist es dann ratsam, den Tumorausschluss zusätzlich durch eine Biopsie zu führen oder ergänzend die Größenkonstanz der Raumforderung in einem Intervall zwischen sechs Wochen und drei Monaten zu dokumentieren. (2, 15)

Insgesamt kann man sagen, dass die MRT mit Kontrastmittel an MR-Hochfeldsystemen derzeit das optimale bildgebende Verfahren zur Detektion und Differentialdiagnose des hepatozellulären Karzinoms darstellt. (10, 15) Die bildgebende Detektion in der MRT beruht auf der Analyse der Signalintensität und der Morphologie in den T1- und T2-gewichteten Sequenztechniken. Eine eindeutige Verbesserung der diagnostischen Ergebnisse konnte durch den Einsatz extrazellulärer wie auch gewebspezifischer, superparamagnetischer oder hepatobiliärer Kontrastmittel erzielt werden. (13)

2.5.5 Primovist®

Innerhalb der letzten Jahre machte die Magnetresonanztomographie fokaler Leberläsionen durch die Anwendung von extrazellulären und leberspezifischen Kontrastmitteln erhebliche Fortschritte.

In der Leber existieren mit den Kupfferschen Sternzellen und den Hepatozyten gleich zwei potentielle Ziele für Kontrastmittel. Eine Reihe von leberspezifischen Kontrastmitteln ist auf dem Markt erschienen, die sich in einem der beiden Zelltypen anreichern und auf diese Weise die Detektion von Leberläsionen verbessern.

Primovist® ist das erste T1-Kontrastmittel, das die Eigenschaften der extrazellulären Kontrastmittel mit denen eines hochspezifischen Leberkontrastmittels vereint. Dadurch ist die Messung der Kontrastmitteldynamik in der Anflutungs- und Verteilungsphase möglich. Bereits wenige Minuten nach der Applikation zeigt sich eine starke Anreicherung in den Hepatozyten. Sie erlaubt eine deutliche Abgrenzung des gesunden Lebergewebes von den verschiedenen Läsionen. (1, 13, 15, 16)

Für die Bildgebung ergeben sich daraus folgende Charakteristika:

- Primovist® ist ein Gd-haltiges leberspezifisches Kontrastmittel für die T1-gewichtete Leberdiagnostik.
- Primovist® besitzt eine sehr hohe T1-Relaxivität.
- Primovist® wird mit den üblichen T1-gewichteten Sequenzen verwendet, wie sie auch in der Leberbildgebung mit extrazellulären Kontrastmitteln herangezogen werden.
- Primovist® hat sich spätestens 20 min nach i.v.-Gabe in den Hepatozyten angereichert (hepatobiliäre Phase), was zu einer deutlichen Signalsteigerung im Leberparenchym führt.
- Primovist® wird nicht von Leberläsionen ohne Hepatozyten – z. B. Tumormetastasen – aufgenommen, die sich in der hepatobiliären Phase dunkel abgrenzen.
- Primovist® bewirkt mindestens zwei Stunden eine deutliche Signalverstärkung in der Leber und erlaubt so Untersuchungen zu späteren Zeitpunkten.
- Primovist® ermöglicht in Verbindung mit den in der Anflutungs- und Verteilungsphase (dynamische Phase) gewonnenen Informationen eine deutlich verbesserte Charakterisierung verschiedener Läsionen.
- Primovist® beeinflusst die T2-gewichteten Sequenzen nicht, wodurch diese auch im Anschluss an die dynamische Untersuchung durchgeführt werden können.

- Primovist® führt zu einer Verbesserung der Detektion und Charakterisierung von kleinen Leberläsionen (< 1,0 cm).
- Primovist® erreicht darüber hinaus bei eingeschränkter Leberzellfunktion (Leberzirrhose) trotz reduzierter Kontrastmittelaufnahme eine Signalverstärkung.
- Primovist® erleichtert die Differenzierung von Gefäßen und Leberläsionen. Aufgrund der Ausscheidung über die Galle besteht die Möglichkeit die Gallenwege darzustellen.
- Primovist® ist sehr gut verträglich. (16)

2.5.5.1 Pharmakokinetik von Primovist®

Primovist® wird zu 50 % über die Galle ausgeschieden. Konkurrierend dazu erfolgt die Ausscheidung zu 50 % über die Niere. Es wird in der Regel bei Leber- und Niereninsuffizienz problemlos eliminiert, da sich die beiden genannten Ausscheidungswege ersetzen können. Primovist® wird nicht metabolisiert und damit unverändert ausgeschieden. (16)

2.5.5.2 Sicherheit und Verträglichkeit von Primovist®

Primovist® besitzt eine niedrige Osmolarität und Viskosität und ist daher lokal gut verträglich. Dies gilt ebenso für die systemische Verträglichkeit. (16)

2.5.5.3 Dosierung und Darreichungsform von Primovist®

Primovist® wird in der empfohlenen Dosis von 0,1 ml/kg (entspricht 0,025 mmol/kg) appliziert, was zu einem geringen Applikationsvolumen führt. Die Verabreichung erfolgt als Bolus intravenös. Damit sind dynamische Untersuchungen in der Anflutungs- und Verteilungsphase möglich. (16)

2.5.5.4 Bildgebendes Prinzip von Primovist®

Primovist® ist ein gadoliniumhaltiges Kontrastmittel für die T1-gewichtete Bildgebung der Leber. Im Unterschied zu anderen gadoliniumhaltigen Kontrastmitteln reichert sich Primovist® zu einem hohen Anteil in den Hepatozyten an. Dadurch stellen sich die meisten malignen Leberläsionen, die keine intakten Hepatozyten enthalten, dunkel gegenüber dem durch Primovist® aufgehellten Leberparenchym dar. Zusätzlich zu den oben genannten Differenzierungsmöglichkeiten lässt sich Primovist® auch für die T1-gewichtete dynamische Untersuchung während der Anflutungs- und Verteilungsphase nutzen. (1, 13, 15, 16)

2.6 Angiographie

Durch die technischen Fortschritte bei den Schnittbildverfahren hat die intraarterielle digitale selektive Arteriographie ihre Bedeutung für den Nachweis und die Charakterisierung von herdförmigen Leberveränderungen verloren und ist nur noch selten indiziert. (1) Nachteile dieses Verfahrens sind die Invasivität und die damit verbundene Morbidität. Die hervorragende Raumauflösung der Viszeralarterien – insbesondere mit der Gefäßdarstellung der Leber – wird zunehmend auch in Gefäß- und dreidimensionalen Rekonstruktionen aus CT- oder MRT-Datensätzen erreicht. Funktionelle Stenosen, beispielsweise des Truncus coeliacus oder Steal-Syndrome, z. B. über die Milzarterie, werden im Rahmen der Evaluation vor Lebertransplantationen häufig noch mittels Angiographie nachgewiesen bzw. ausgeschlossen. Kleine periphere Tumorknoten, die im hypervaskulären HCC zunächst als Schimmer erscheinen, können mittels DSA gut dargestellt werden. Zusätzlich kann man intraarteriell Lipiodol applizieren – eine ölige Substanz –, die im HCC konzentriert und retiniert wird. Dieses Verfahren wird v. a. im Rahmen einer transarteriellen Chemoembolisation durchgeführt, das derzeit wieder an Bedeutung gewinnt. (64)

Für die Praxis ist die Angiographie mit Lipiodolapplikation auch von Bedeutung, wenn in Spiral-CT und dynamischer MRT keine Tumorknoten nachgewiesen werden, obwohl ein sehr hoher AFP-Spiegel besteht. (15)

2.7 Positronenemissionstomographie

Die Positronenemissionstomographie wird in der Diagnostik einer Reihe maligner Tumoren evaluiert. Das Verfahren beruht auf dem Nachweis der in-vivo-Metabolisierung von positronenemittierenden Substanzen wie (18F) Fluoro-2-Deoxy-D-Glykose, einem Glukoseanalogon, das in einer Reihe maligner Tumoren aufgrund der hohen Metabolisierungsraten akkumuliert. Dabei gilt für alle Tumorentitäten, dass die FDG-PET keine anatomischen Details darstellt. Die Sensivität der PET für die Erkennung des HCC liegt derzeit deutlich unter der der CT. (15, 65)

2.8 Staging-Laparoskopie

Die Staging-Laparoskopie gehört beim HCC nicht zur obligaten Diagnostik. Resektabilität oder Transplantationsindikation entscheiden sich beim HCC in der Regel anhand der im Rahmen der präoperativen Diagnostik festgestellten Anzahl und Größe der Tumorknoten sowie ihrer Lokalisation innerhalb der Leber. Dabei gehen die bei einer Laparoskopie oder Laparotomie

gewonnenen Informationen, abgesehen von sehr kleinen intrahepatischen Metastasen, nicht über die in der Schnittbilddiagnostik erhobenen Befunde hinaus. Ein ausgedehnter Lymphknotenbefall oder eine Peritonealkarzinose sind beim HCC selten. Sie können aber bei konkretem Verdacht in der vorangegangenen Diagnostik Anlass zu einer Laparoskopie sein. Gelegentlich kann eine präoperative Laparoskopie beim HCC auch zur Beurteilung des Restparenchyms der Leber und dem Vorliegen einer bildmorphologisch nicht sicher nachgewiesenen Zirrhose mit gezielter Entnahme von Biopsien notwendig werden. (15)

3 Mikroskopische Diagnostik

In der Regel können zur Dignität eines intrahepatischen Tumors hinreichend sichere Aussagen aufgrund bildmorphologischer Kriterien gemacht werden, so dass die histologische Sicherung des Verdachtes eines HCC vor geplanter Operation generell nicht erforderlich ist.

Entsprechend den Empfehlungen der AWMF kann bei folgenden Konstellationen auf eine mikroskopische Diagnosesicherung verzichtet werden:

1. Vor geplanter Operation (Resektion oder Hepatektomie mit orthotoper Lebertransplantation).
2. Bei mutmaßlichem Leberzellkarzinom, jedoch fehlender Option auf eine tumorspezifische Therapie.
3. Bei charakteristischen Befunden der bildgebenden Verfahren (sog. nichtinvasive Kriterien, d. h. Übereinstimmung von mindestens zwei bildgebenden Verfahren – Ultraschall, Spiral-CT, MRT oder Angiographie), ggf. in Kombination mit der AFP-Konstellation (sog. Kriterienkombination, d. h. ein bildgebendes Verfahren mit arteriell hypervaskularisierter Läsion von > 2,0 cm Durchmesser und AFP-Wert > 400 ng/ml). (66)

In Fällen sehr fortgeschrittener und inoperabler Lebertumoren ist es häufig notwendig, nicht nur die Dignität, sondern auch die Tumorentität zur Einleitung spezifischer Therapiemaßnahmen oder zum Einschluss in Studien festzulegen. Hierfür erfolgt die Materialgewinnung vorzugsweise mit einer Nadelbiopsie (1,2 mm) oder bei entsprechender Erfahrung des Untersuchers mit histologischer oder zytologischer Auswertung durch eine Feinnadelbiopsie ($\leq 1,0$ mm). (15)

Die Indikation zur Nadel- bzw. Feinnadelbiopsie im Rahmen der präoperativen Gewinnung einer Histopathologie bzw. Zytologie wird vielfach wegen der Gefahr einer Tumorzellverschleppung kontrovers beurteilt. (15, 66) In einer Studie von Takamori et al. wird das Risiko einer mikroskopischen Tumorzellaussaat über den Stichkanal mit 3,4 bis 5,1 % besonders bei oberflächlich gelegenen oder schlecht differenzierten Tumoren angegeben, so dass eine Biopsie nur in für therapeutische Entscheidungen relevanten Fällen entnommen werden sollte. (67)

Bei einer Diskrepanz der Befunde bildgebender Verfahren wie auch der Laborparameter kann man die Indikation zur bioptischen Untersuchung in Erwägung ziehen. Diese erfolgt in der Regel Ultraschall-gestützt, in einzelnen Fällen auch CT-gesteuert oder bei MR-positiven Befunden mittels offener oder geschlossener MR-gesteuerter Biopsie. Falsch-negative Ergebnisse beruhen dabei insbesondere bei kleinen Läsionen im Rahmen von nadelbioptisch entnommenem Gewebe

auf Fehlpunktionen oder bei Vorliegen von Foci des HCC innerhalb von dysplastischen Knoten auf der Schwierigkeit der Differentialdiagnose Dysplasie gegenüber dem hochdifferenzierten HCC. (13)

Demgegenüber muss gestellt werden, dass das mit der FNP gewonnene Material (prä- oder intraoperativ, Aszites oder Tumorgewebe) im Rahmen histopathologischer, zytologischer sowie insbesondere DNA-zytometrischer Untersuchungen wichtige zusätzliche Informationen zur Charakterisierung und zum biologischen Verhalten verschiedener Tumorentitäten geben kann, die u. a. richtungweisend für die therapeutische Tumorstrategie sein können. Aufgrund dessen werden zunächst einige Erläuterungen zur DNA-Zytometrie gemacht. Diese im Rahmen der DNA-Zytometrie gewonnenen Parameter könnten, wie bei anderen Tumorentitäten gezeigt, auch als mögliche Prognoseparameter identifiziert werden. (20, 21, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 47, 68, 69, 70, 71, 72)

3.1 Die Bedeutung der statischen DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie

Die Indikationen für die Messung des Zellkern-DNA-Gehaltes in Zellen und Geweben im Rahmen der Tumordiagnostik sind

1. die Identifizierung obligater Präkanzerosen unter den (v. a. epithelialen) Dysplasien (Dignitätsdiagnose) und
2. eine objektive und valide Gradierung der malignen Potenz verschiedener Tumoren (Malignitätsgrading).

Das Prinzip der photometrischen DNA-Messung beruht auf der Quantifizierung des DNA-Gehaltes in Zellkernen und ist seit Jahrzehnten bekannt. Der große Nachteil lag bis vor etwa 20 Jahren in dem enormen Zeitaufwand, der einen Einsatz in der morphologischen Routinediagnostik praktisch nicht möglich machte. Man musste mit integrierten Mikroskop-Photometern arbeiten und benötigte für die Untersuchung von knapp 100 Zellkernen mehrere Stunden. So blieb das Verfahren der Wissenschaft und Forschung vorbehalten.

Mit der Entwicklung moderner Fernsehbildanalysesysteme wurde die Methode wesentlich komfortabler, ließen sich die Messpräzision erheblich verbessern und die Messzeiten deutlich verkürzen. Die DNA-Bildzytometrie konnte damit Eingang in die onkologische Routinediagnostik finden, auch als eine Alternative zur wesentlich aufwendigeren Zytogenetik. Bei der Bildzytometrie werden auf Glasobjektträgern aufgebrachte, nach Feulgen gefärbte Zellkerne selektiv gemessen. Das Verfahren hat Vorteile gegenüber der Durchfluss-Zytometrie, die es insbesondere für morphologisch arbeitende Ärzte attraktiv machen. (17, 29)

3.2 Biologischer Hintergrund der DNA-Zytometrie

Biologische Grundlagen und Anforderungen an die Methodik der statischen DNA-Zytometrie wurden von A. Böcking dargestellt. Die Quantifizierung des nuklearen DNA-Gehaltes durch die Zytometrie wurde zur Unterstützung bei der Diagnosefindung und dem Grading bösartiger Tumore eingeführt. Der DNA-Gehalt kann nicht direkt durch die Zytometrie gemessen werden. Nach der quantitativen DNA-Färbung ist die nukleare integrierte optische Dichte (IOD) das zytometrische Äquivalent des DNA-Gehaltes. Die Quantifizierung der nuklearen DNA erfordert eine Änderung des Maßstabes des IOD-Wertes anhand eines Vergleiches mit solchen Werten von Zellen mit bekannten DNA-Inhalten. Dafür wird der DNA-Inhalt auf einer „c“-Skala ausgedrückt, in der 1c dem halben Durchschnitt des nuklearen Inhaltes von Zellen einer normalen (nicht-pathologisch) diploiden Population in der G0/G1 Zellzyklusphase entspricht.

Aus praktischen Gründen und weit akzeptierter wird der in der Literatur benutzte Begriff „DNA-Ploidie“ im Weiteren verwendet. In der Praxis wird die zytometrische Evaluation des DNA-Gehaltes, von der angenommen wird, dass sie das quantitative Äquivalent der „chromosomalen Ploidie“ sei, oft missbräuchlich „DNA-Ploidie“ genannt. Beide Begriffe sind nicht identisch. Während „chromosomale Ploidie“ theoretisch anhand von zytogenetischen Methoden in jeder einzelnen Zelle feststellbar ist, kann der DNA-Gehalt hingegen nicht mit einer bestimmten chromosomalen Erscheinung/Aussehen gleichgestellt werden. Der Begriff „DNA-Ploidie“ sollte daher für die Benennung von DNA-Stammlinien gebraucht werden, jedoch nicht für eine einzelne Zelle.

Tatsächlich kann sich die Quantität der nuklearen DNA anhand von Mechanismen wie z. B. Replikation oder Polyploidisation verändern. Jedes hat Auswirkungen auf die Größe oder die Anzahl der Chromatiden. Weiterhin können Virusinfektionen den DNA-Inhalt verändern. Neben anderen spielen unspezifische Folgen einer zytostatischen bzw. Strahlenbehandlung, Vitamin-B12-Mangel, Apoptose, Autolyse und Nekrosen für den nuklearen DNA-Gehalt auch eine Rolle. All diese Auswirkungen müssen in der Betrachtung berücksichtigt werden, wenn eine diagnostische Interpretation der DNA-Histogramme durchgeführt wird. (20, 73)

Tumorzellen, auch Zellen gutartiger Tumoren, zeichnen sich durch numerische und/oder strukturelle Chromosomenaberrationen aus, die in normalen oder reaktiv veränderten Körperzellen nicht vorkommen. (17) Eine normale Population proliferierender diploider Zellen zeigt in einem DNA-Histogramm einen ersten Häufigkeitsgipfel bei 2c (entsprechend der G0/1-Phase des Zellzyklus) und einen zweiten bei 4c (entsprechend der G2/M-Phase). Der Bereich

zwischen beiden Gipfeln ist der Synthesephase zugeordnet. Die ersten während der Onkogenese lichtmikroskopisch nachweisbaren Chromosomenaberrationen werden als primäre bezeichnet, z. B. eine Trisomie 7 und 17 bei chromophilzelligen Nierenzellkarzinomen. Während der Tumorprogression treten dann meist tumorspezifisch weitere sekundäre und tertiäre chromosomale Aberrationen hinzu, die mit einer Zunahme der malignen Potenz der Tumoren einhergehen. Der Effekt der Chromosomenabweichung auf den DNA-Gehalt der Zellkerne wird im Rahmen der DNA-Zytometrie zur Diagnostik bzw. Prognostik herangezogen. Normale oder reaktiv veränderte Zellkerne besitzen einen diploiden bzw. euploiden oder polyploiden DNA-Gehalt. In einigen Geweben kann es physiologischerweise zu einer Vervielfachung des normalen Chromosomensatzes entsprechend den ganzzahligen Potenzen des normalen 2-c-Gehaltes kommen. Diese euploide Polyploidisierung kann auch durch humane Papillomaviren, Infekte oder Vitamin-B12-Mangel verursacht werden. Sind die chromosomalen Aneuploidien ausgeprägt genug, um DNA-zytometrisch als signifikante Normabweichungen identifiziert zu werden, d. h. positive oder negative Abweichungen von mehr als 15 % der normalen Chromosomenmasse ($<$ oder $>$ 15 %), so spricht man von DNA-Aneuploidie. Deren Bestätigung kommt dem Nachweis von Tumorzellen bzw. Malignität gleich. Allerdings gibt es Ausnahmen: In gutartigen Schilddrüsenadenomen wurden z. B. aneuploide Verteilungsmuster beschrieben. Daher gelten nur gewebspezifische Ausmaße an DNA-Aneuploidie als Malignitätsmarker. Allerdings schließt der fehlende Nachweis von DNA-Aneuploidie Malignität nicht aus, da je nach Typ 5 bis 20 % der Malignome so geringe chromosomale Abweichungen aufweisen, dass sie zytometrisch nicht nachgewiesen werden können (17). Zum Zweck der Malignitätsgradierung wird das Ausmaß der DNA-Aneuploidie tumortypspezifisch quantifiziert (DNA-Malignitätsgrading). (29)

Zurzeit ist das gegenwärtige Ziel der diagnostischen DNA-Zytometrie DNA-Stammlinien außerhalb von euploiden Regionen als abnorme (oder aneuploide) bei einem definierten statistischen Signifikanz-Level zu identifizieren.

Weiterhin sollte die DNA-Image-Zytometrie Informationen geben über

- Anzahl der abnormalen (oder aneuploiden) DNA-Stammlinien,
- Polyploidisation von euploiden oder aneuploiden DNA-Stammlinien,
- Zellzyklusfraktionen
- und das Auftauchen von seltenen Zellen mit einem abnorm hohen DNA-Gehalt. (20, 73)

3.3 Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial können alle zytologischen Präparationen wie einschichtige Zellkulturen, Abdrücke (sog. touch preparation), Abstriche von Feinnadelaspirationsbiopsien (FNAB), Abstriche von abgeschilfertem Zellen, zytozentrifugierte Gewinnung von Körperflüssigkeiten, Zellseparationsproben (nach mechanischer und/oder enzymatischer Dispersion) von FNAB, Kern- und anderen Biopsien oder von formaldehydfixierten und in paraffineingebetteten Gewebe nach enzymatischer Zellvereinzelung in Frage kommen. Auch jahrzehntelang archivierte Zell- oder Gewebeproben werden verwendet. Voraussetzung ist eine stochiometrische, spezifische Anfärbung der Zellkern-DNA mit Thionin (blau) oder Pararosanilin (violett) nach R. Feulgen. (17, 20, 29, 73)

3.3.1 Vorbereitung des Untersuchungsmaterials für die DNA-Zytophotometrie

3.3.1.1 Isolation von Zellen

Die enzymatische Prozedur zur Isolation von Zellen aus verschiedenen Geweben muss sehr vorsichtig für jeden Gewebstypen erfolgen, um eine ausreichende Menge an strukturell intakten Zellen zu erhalten. Als generelle Regel kann eine 1 %-ige Pepsin-Andauung für 30 min bei 37 Grad als adäquat angesehen werden. Derzeitige Messungen von DNA-Inhalten in Gewebsschnitten stimmen nicht mit den oben genannten Standards überein.

3.3.1.2 Fixierung

Die Fixierung mit Formaldehyd ist vor der Färbung durch die Feulgen Reaktion mit Pararosanilin oder Thionin wichtig. Eine Möglichkeit besteht darin, die Proben bei Raumtemperatur für eine Stunde luftzutrocknen, danach 30 min in 4 %-iger Paraformaldehyd zu fixieren und anschließend mit destilliertem Wasser auszuspülen. Alle anderen Methoden der Fixierung, bei denen die Lufttrocknung angewendet wurde und die darüber hinaus Formaldehyd beinhalten, sollten der Qualitätskontrolle unterzogen werden. In diesem Zusammenhang wurde die Böhm-Sprenger-Fixation (modifizierte Lösung: Methanol 80 %, Formalin 15 %, Essigsäure 5 %) getestet und als passend anerkannt. Vorgefärbte Abstriche können auch benutzt werden. Die Fixierung nach der Abdeckung – falls erforderlich – ist nach der oben genannten Methode durchzuführen. Das Gleiche ist insbesondere für einschichtige Gewinnungen aus Paraffinschnitten von Bedeutung. Unabhängig davon, welche Fixierung auch genutzt wurde, sollten die Proben gründlich gewaschen werden: Das Waschen nach der Fixation in Formaldehydlösung ist entscheidend, um die Formaldehydreste zu entfernen bzw. um eine unspezifische Färbung zu verhindern.

3.3.1.3 Färben

Die Feulgen-Reaktion ist grundsätzlich in der Absorptionszytometrie zu empfehlen. Diese Reaktion ist eine zytochemische Methode in zwei Schritten:

1. Hydrolysis, um Aldehydgruppen durch Depurination zu erhalten, und
2. das Färben der Aldehydgruppen mit Schiffs-Reagenz, die zu einem Farbenkomplex führen.

Das Behandeln von großen Stücken im gleichen Bad sollte vermieden werden: Die Bearbeitung von max. 20 Vorlagen in 200 ml Lösung wird empfohlen, das schließt optional eine oder mehrere Referenzvorlagen und eine Negativkontrolle ein. Es sollte kontrolliert werden, dass die bedeckten Oberflächen der Vorlagen genau dem Reagenz ausgesetzt sind. Das Material darf nur sanft bewegt werden.

Die Hydrolysisbedingungen für die Feulgen-Reaktion muss den Gewebetyp, die Fixierung (Art, Zeit und Konzentration) und die Art der Probengewinnung berücksichtigen. Optimale Färbebedingungen müssen, basierend auf Hydrolysiscurven (Zeit vs. IOD) herausgearbeitet werden. Für jeden neuen Gewebetyp sollten Hydrolysiscurven gewonnen werden. Die Hydrolysis muss unter kontrollierten Temperatur- und Zeitbedingungen durchgeführt werden. Beim Auswaschen in destilliertem Wasser wird die Hydrolysis gestoppt.

Die Evaluierung der Durchführung der Färbebedingungen sollte als geeignetes Qualitätskontrollverfahren organisiert werden. Die folgenden Bedingungen sind für viele Routineanwendungen geeignet und wurden ausreichend bei Abstrichen oder initial luftgetrockneten Abdrücken getestet: 5 Molare (M) Salzsäure (HCL), 25 °C und 1 h (wenn nicht anders durch Hydrolysecurven gefordert). (17, 20, 29, 73)

3.4 Messtechnik

Die Messung der integrierten optischen Dichte der gefärbten Zellkerne erfolgt interaktiv am Monitor eines TV-Bildanalyse-Systems, das mit einem konventionellen Mikroskop gekoppelt ist, bei der Wellenlänge, die dem Extinktionsmaximum des verwendeten Farbstoffs entspricht. Nach interner Kalibrierung mit normalen Zellen (Lymphozyten, Granulozyten, Epithelzellen, Bindegewebszellen) bestimmt der Untersucher per Mausclick ca. 300 Zellen zur Messung. (29)

3.5 Die diagnostische Interpretation

Die Diagnose eines Karzinoms und ebenso eine approximative Abschätzung der Malignität erfolgt durch visuelle morphologische Untersuchungsverfahren. Eine weitaus genauere Beurteilung des Malignitätspotentials und damit der Prognose des Tumors über die Morphologie

hinaus ist allerdings nur durch die DNA-Zytophotometrie an den Tumorzellen selbst möglich. (21, 26, 27, 69, 75, 76, 77, 78) Entscheidendes pathomorphologisches Kriterium eines Tumors ist das Auftreten eines Verlustes an Differenzierung. Seit den grundlegenden Untersuchungen von Sandritter und Leuchtenberger et al. (79, 80) ist die Bedeutung von Ploidie und Proliferationskinetik für die Prognose maligner Geschwülste vielfach unterstrichen worden. Eine Abweichung des DNA-Gehaltes der Tumorzellen gibt danach einen Hinweis auf Tumorzellpopulationen im Sinne der Aneuploidie. (21) Die diagnostische Interpretation der DNA-Histogramme zum Zweck der Identifizierung obligater Präkanzerosen bzw. der Frühdiagnose von Krebs (Dignitätsdiagnostik) beruht auf dem qualitativen Nachweis von DNA-Aneuploidie. Dieser gelingt entweder durch den Nachweis einer signifikant abnormen Lage einer Stammlinie (= erstes Häufigkeitsmaximum einer proliferierenden Zellpopulation; $< 1,8c > 2,2c$, $< 3,6c > 4,4c$) oder durch den Nachweis abnorm hoher Einzelzell-DNA-Werte ($> 9c$). Zum Zweck der Malignitätsgradierung wird das Ausmaß an DNA-Aneuploidie quantifiziert. Da verschiedene Tumoren unterschiedliche sekundäre und tertiäre Chromosomenaberrationen während der Tumorprogression zeigen können, muss die prognostische Interpretation der DNA-Verteilung im Prinzip tumortypspezifisch erfolgen. Für viele Karzinome (Nieren-, Prostata-, Mamma- und Urothel-Ca) hat sich die Unterscheidung in peridiploide, peritetraploide, aneuploide mit einer Stammlinie und aneuploide Muster mit mehreren Stammlinien als prognostisch relevant erwiesen. (21, 22) Für andere Tumoren (z. B. chronisch myeloische Leukämie, Riesenzelltumoren des Knochens) sind andere Indizes der DNA-Verteilung prognostisch relevant. (29, 81)

Die Heterogenität der Tumorzellen hat in der letzten Zeit bei malignen Tumoren verschiedener Organe großes klinisches Interesse wegen der Beziehung des Tumorverhaltens vor und während der Therapie (z. B. bei Mamma-, Blasen-, Prostata- und Lungenkarzinomen etc.) und ihres prognostischen Wertes gewonnen. (17, 21, 22, 26, 27, 70, 71)

3.6 Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Dignitätsdiagnostik

In Plattenepithelien ist DNA-Aneuploidie nur bei malignen Veränderungen nachgewiesen worden. Nach Böcking (29) leistet die statische DNA-Zytometrie daher besonders gute Dienste bei der Abklärung von Dysplasien des Plattenepithels. DNA-aneuploide Dysplasien des Plattenepithels gelten als obligate Präkanzerosen und sollten wie Frühkarzinome behandelt werden. Die DNA-Bildzytometrie dient üblicherweise zur Abklärung von Gebärmutterhalsabstrichen der Gruppen III und IIID. (17) Sie bietet in diesem Zusammenhang eine fundierte Entscheidungshilfe über den DNA-Gehalt auffälliger bzw. dysplastischer

Zellkerne, verkürzt die für die Patientinnen sehr unangenehmen Wartezeiten, kann in Zweifelsfällen die sonst üblichen, langwierigen zytologischen Kontrollen überflüssig machen und objektiviert die Indikation zu einer Konisation. So können Abstriche mit Veränderungen im Sinne geringer oder mittlerer Dysplasien durch den Nachweis von DNA-Aneuploidie identifiziert werden, die sich mit 93 %-iger Wahrscheinlichkeit unbehandelt in Plattenepithelkarzinome weiterentwickeln werden. Die statische DNA-Zytometrie erleichtert auch das Management einer Papanicolaou-IV-Diagnose in der Schwangerschaft. Die DNA-Verlaufsmessung ermöglicht häufig ein abwartendes Verhalten und erspart den Patientinnen eine invasive Diagnostik und Therapie ebenso wie die damit verbundene Gefährdung der Gravidität während der Schwangerschaft. (17) Dasselbe gilt für Dysplasien der Mund-, Kehlkopf-, Bronchial-, Ösophagus-, Magen-, oder Dickdarmschleimhaut. In der zytologischen Diagnostik erlaubt oft erst der Nachweis von DNA-Aneuploidie die Identifizierung von Tumorzellen, da entweder zu wenige Zellen vorliegen oder die malignitätsbeweisenden Atypien zu gering ausgeprägt sind (z. B. in Ergüssen, Urinen, Sputen, Abstrichen der Kornea oder Gallengänge, FNAB des Pankreas). (29)

3.6.1 Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie des Mammakarzinoms

Der Anteil der Mammakarzinome, die aufgrund einer prognostischen Fehleinschätzung über- oder untertherapiert werden, wird auf ca. 40 % geschätzt. Therapeutische Entscheidungen werden derzeit beim Mammakarzinom v. a. von der Tumorgröße, dem Lymphknoten- und dem Hormonrezeptorstatus anhängig gemacht. Als wichtigster Prognosefaktor gilt der Lymphknotenstatus. Es ist jedoch bekannt, dass ca. 25 % der Patientinnen ohne Lymphknotenmetastasen nicht länger als fünf Jahre überleben, während umgekehrt 25 % der Patientinnen mit positivem Lymphknotenstatus rezidivfrei bleiben. Unter den nodal negativen gibt es demzufolge eine „high-risk“-Gruppe, die eine adjuvante Therapie benötigt. Diese Gruppe (pT1, N0) wie auch Patientinnen mit Lymphknotenmetastasen aber guten Überlebenschancen lassen sich mithilfe der DNA-Bildzytometrie identifizieren. Sowohl die Stammlinienploidie (Aneuploidie) wie die S-Phase-Fraktion sind geeignete prognostische Parameter, wobei die S-Phase-Fraktion die höhere prognostische Relevanz besitzt. Beim Mammakarzinom besteht die Bedeutung der statischen DNA-Zytometrie folglich v. a. in einer verbesserten (objektiven) Einschätzung der Prognose und einer Entscheidungshilfe für die adjuvante Therapie im Stadium pT1, N0. (17)

3.6.2 Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie des Prostata-, Harnblasen- und Nierenzellkarzinoms

Beim Prostatakarzinom stellt die DNA-Bestimmung ein unabhängiges Kriterium zur Beurteilung der Dignität des Tumors dar. Sie erlaubt eine biologische Bewertung der Tumorprogression ebenso wie sich daraus ergebende therapeutische Ansätze und gibt Hinweise auf die Hormonsensibilität eines Prostatakarzinoms.

Demzufolge sollte man bei rein diploiden oder tetraploiden Prostatakarzinomen eine „wait-and-see“-Strategie einschlagen. Rein diploide Karzinome, die diploid bleiben, benötigen keine Therapie, da solche Karzinome unbehandelt keine Verkürzung der Lebenserwartung erkennen lassen. Bei Patienten, deren Prostatakarzinom ein tetraploides DNA-Verteilungsmuster aufweist, sollte eine Hormontherapie vermieden werden, weil sie bei solchen Tumoren eine rasche Progression begünstigt. Aneuploide Prostatakarzinome benötigen eine aggressive operative Therapie. (17)

Bei Blasenkarzinompatienten besitzt die DNA-Zytometrie die höchste prognostische Wertigkeit und stellt wie beim Prostatakarzinom ein unabhängiges Instrument zur Beurteilung der Tumorbiologie, der Prognose und zur Entscheidung für den Einsatz oder den Verzicht einer adjuvanten Chemotherapie nach Tumorresektion dar. (17) Bei diploiden, oberflächlichen Harnblasekarzinomen kann nach Resektion auf eine adjuvante Therapie verzichtet werden, da die Tumoren ein äußerst geringes Progressionsrisiko aufweisen. (29)

Auch bei Patienten mit resezierten Nierenzellkarzinomen konnte gezeigt werden, dass die DNA-Ploidie ein signifikanter und unabhängiger Vorhersagewert für das Überleben der Patienten darstellt. (21, 22)

3.6.3 Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie des Gallengangs- und hepatozellulären Karzinoms

In einer multivariaten Analyse konnten Abou Rebyeh et al. zeigen, dass nur die DNA-Ploidie bei Patienten mit resezierten cholangiozellulären Karzinom signifikant mit der Vorhersage für das Überleben verbunden war. (19)

Jonas et al. identifizierten bei Patienten nach Lebertransplantation aufgrund eines HCC die DNA-Ploidie als wertvollen Prognosefaktor. Der Vorhersagewert der DNA-Ploidie ist dabei dem des Tumorstadiums sowie weiteren Prognosefaktoren überlegen. Aneuploidie bei Patienten mit Lebertransplantation wegen eines HCC wies dabei auf eine schlechtere Prognose hin, während diploide und polyploide Tumoren der LTX-Patienten auf eine gute Prognose hindeuteten. (28, 47)

In einer anderen Studie konnte diese Arbeitsgruppe bei Patienten nach Lebertransplantation aufgrund eines HCC in Zirrhose in einer multivarianten Analyse neben der Gefäßinvasion den DNA-Index als Prognoseparameter verifizieren. (24)

3.6.4 Die Rolle der DNA-Zytometrie in der Diagnostik und Therapie von Ergüssen, Weichteil- und gastrointestinalen Tumoren

Bei Ergüssen, Weichteil- und gastrointestinalen Tumoren können die gemessenen DNA-Parameter als Malignitätsmarker bei der oftmals schwierigen Differentialdiagnose zwischen reaktiven und pseudomalignen Zellkernveränderungen und malignen Zellen in Körperhöhlenergüssen helfen. Hochdifferenzierte Weichteilsarkome lassen sich mithilfe der DNA-Zytometrie von gutartigen Geschwülsten abgrenzen.

Bei gastrointestinalen Karzinomen erlaubt die DNA-Bestimmung die Vorhersage einer Lymphknotenmetastasierung. Präoperativ an Biopsien gewonnene DNA-Daten können demzufolge das operative Vorgehen beeinflussen. (17)

So kann das DNA-Malignitätsgrading durch Identifizierung prognostisch günstiger Tumoren auch bei Dickdarmkarzinomen und anderen Entitäten wie chronisch myeloischer Leukämie oder Riesenzelltumoren helfen, eine Übertherapie zu vermeiden. (29, 81)

Der Stellenwert der DNA-Zytometrie in der deutschen Onkologie erscheint derzeit eher gering und es besteht diesbezüglich noch Informationsbedarf. Der Vorteil dieser Methode liegt v. a. in der Möglichkeit, von eher subjektiven Bewertungsmaßstäben zu objektiven, reproduzierbaren prognostischen Aussagen und Entscheidungshilfen über Therapiemodalitäten zu gelangen. Die Befunde der DNA-Zytometrie können objektive Begründungen für einen Therapieverzicht gegenüber den Patienten geben und insbesondere solche Patienten identifizieren, bei denen eine adjuvante Therapie erforderlich ist, obgleich die üblichen konventionellen Bewertungskriterien eine solche Therapie nicht notwendig erscheinen lassen. (17)

4 Therapieziele und Indikationsstellung

Das therapeutische Verfahren der ersten Wahl beim HCC in Zirrhose stellt die vollständige operative Tumorresektion dar. Diese gilt derzeit als einzige potentiell kurative Behandlungsmethode und besteht entweder in einer Leberresektion oder in der Hepatektomie mit orthotoper Lebertransplantation (OLT). Neben der chirurgischen Therapie dieser Tumoren gibt es zur palliativen Behandlung, abgesehen von der konventionellen systemischen Chemotherapie, die regionale Chemotherapie bzw. Chemoembolisation sowie perkutane ablativ Verfahren. Zur regionalen Chemotherapie gehören die transarterielle Katheterchemoembolisation, die transarterielle Katheterchemoperfusion und die Chemoperfusion/-embolisation über ein arterielles Portsystem. Die thermoablativen Verfahren schließen die laserinduzierte Thermoablation (LITT), die Radiofrequenzablation (RFA) und die Kryoablation ein. Als weitere perkutane Verfahren stehen die perkutane Ethanolinjektion (PEI) und die perkutane stereotaktische Strahlentherapie zur Verfügung. Die Resektion gilt zwar als Therapie der Wahl, erscheint jedoch nur für 20 % dieser Patienten möglich. (1)

Die Therapie der Leberzirrhose als zugrunde liegendem Risikofaktor für die Entstehung eines HCC ist ein weiteres Therapieziel, das derzeit nur mit der Lebertransplantation umgesetzt werden kann. Die Indikation zur Transplantation bei maligner Grunderkrankung ist zurzeit ausschließlich beim HCC in Zirrhose gegeben. Entscheidungskriterien für die Indikationsstellung zur Lebertransplantation sind sowohl das Tumorausmaß als auch der Schweregrad der Zirrhose. (14, 15) Die Tab. 11 zeigt den Behandlungsalgorithmus beim HCC in Abhängigkeit von einer vorbestehenden Leberschädigung und vom Ausmaß des Tumors. (15)

Leberschädigung	Tumorcharakteristika	Therapie
Child-Pugh-B/C-Zirrhose	Frühes HCC (solitär < 5,0 cm, 3 Knoten < 3,0 cm)	Transplantation alternativ: In-situ-Ablation
	Fortgeschrittenes HCC	Transplantation bei erweiterter Indikation
Child-Pugh-A-Zirrhose	Frühes HCC	Transplantation, Resektion alternativ: In-situ-Ablation
	Fortgeschrittenes HCC	Transplantation bei erweiterter Indikation oder primäre Resektion mit Rescue- Transplantation; alternativ: TACE
Keine Leberzirrhose	Fortgeschrittenes HCC	Resektion, palliative oder symptomatische Therapie

Tab. 11: Behandlungsalgorithmus beim HCC in Abhängigkeit von einer vorbestehenden Leberschädigung und vom Ausmaß des Tumors

Das Vorliegen einer Child-B- oder -C-Leberzirrhose begründet per se bereits die Indikation zur Lebertransplantation. Die Indikationsstellung ist dabei auf das frühe HCC in Zirrhose begrenzt. Als frühes HCC in Zirrhose gelten dabei Tumoren ohne extrahepatische Ausbreitung mit einem maximalen Knotendurchmesser von bis zu 5,0 cm (solitär) und einer maximalen Anzahl von drei Tumorknoten (Knotendurchmesser < 3,0 cm). Hierbei werden Langzeitergebnisse wie bei Lebertransplantation aufgrund einer benignen Indikation erreicht. (84) Mangels einer wirksamen therapeutischen Alternative kann beim fortgeschrittenen HCC in Zirrhose ein Langzeitüberleben ausschließlich durch eine Transplantation erreicht werden. (15)

4.1 Hepatozelluläres Karzinom in Zirrhose-Resektion

In Studien mit umfangreichen Patientenzahlen werden beim HCC in Zirrhose nach Leberteilesektion 5-Jahres-Überlebensraten von 15-50 % angegeben. Für die relative Breite der angegebenen Überlebensraten können Faktoren wie der Selektionseffekt bezüglich Schweregrad des Parenchymschadens, das Ausmaß des Primärtumors sowie, zum Teil mehrere Jahrzehnte zurückreichende Beobachtungszeiträume ursächlich sein. Die Resektion gilt zwar als Therapie der Wahl, erscheint aber derzeit nur für etwa 20 % dieser Patienten möglich. (14)

Die Selektion von Patienten mit bis zu drei Tumorknoten mit einem maximalen Durchmesser von fünf Zentimetern führt in einigen Studien zu 5-Jahres-Überlebensraten von 60 %, wobei in diesem Zusammenhang nicht immer zwischen einem HCC in Zirrhose und dem Fehlen einer Leberzirrhose differenziert wird. Eine Analyse von Prognosefaktoren führt in der Regel zur Identifikation der Zirrhose als einer Variable mit ungünstiger Prognose. (14, 15, 84)

Das Vorliegen einer Leberzirrhose kann also in verschiedenen Studien hinsichtlich der Prognose sehr unterschiedliche Bedeutungen haben, deren Vergleichbarkeit allein durch eine Kategorisierung beispielsweise nach der Child-Klassifikation nicht ausreichend gewährleistet ist. In Untersuchungen zur Resektion und auch zur Lokaltherapie beim HCC in Zirrhose wird häufig über Patienten im Stadium A, zum Teil auch B berichtet, die nach erfolgreicher antitumoraler Therapie mehrjährige Überlebensraten von bis zu 100 % aufweisen. Hier sei darauf hingewiesen, dass eine Leberzirrhose auch ohne HCC eine irreversible, potentiell letale Erkrankung ist. Zum anderen befinden sich demgegenüber auch Patienten mit einer Leberfibrose rechnerisch in einem Stadium A. Damit wird die Bedeutung der pathologischen Definition der Leberzirrhose ersichtlich und zwar umso mehr als z. B. in Japan und Indien auch Formen der Fibrose mit klinischen Symptomen einer Zirrhose wie beispielsweise portaler Hypertension beschrieben wurden. (14, 15)

Pathologische Definition der Leberzirrhose:

- Die gesamte Leber ist betroffen.
- Die von Bindegewebe umgebenen Regeneratknoten führen zu einer Zerstörung der Leberarchitektur.
- Innerhalb der Regeneratknoten sind der normale Aufbau der Portalfelder und ihre Beziehung zur Zentralvene aufgehoben.

Wenn die Gefäßarchitektur nicht vollständig aufgehoben ist, sollte der Begriff Fibrose anstelle von Zirrhose Verwendung finden. Liegt in der Tat ein HCC in Zirrhose vor, ist bei 30-50 % der im Langzeitverlauf nach Leberteilresektion Verstorbenen die Todesursache eine Folge der Leberzirrhose. Die Rezidivhäufigkeit ist selbst nach Leberteilresektion und nach Lokalthherapie mit der Art der Grunderkrankung assoziiert und ebenfalls abhängig vom Vorliegen bzw. Ausmaß einer Leberzirrhose. In einer japanischen Studie wurden die Rezidivraten fünf Jahre nach Leberteilresektion oder Lokalthherapie eines HCC bei 263 Patienten in Abhängigkeit von Leberparenchymveränderungen im Sinne einer Zirrhose sowie einer schweren, mittelgradigen oder milden Fibrose mit 82 %, 50 %, 41 % bzw. 0 % angegeben. (82) Die 5-Jahres-Tumorrezidivraten für Patienten mit Hepatitis-B oder Hepatitis-C betrugen in dieser Arbeit 100 bzw. 63 % gegenüber 28 % bei Patienten, deren Grunderkrankung weder Hepatitis-B noch Hepatitis-C assoziiert war. (14, 15)

Beim HCC in Zirrhose müssen zwei Formen des Rezidivs unterschieden werden: Erstens das Rezidiv aufgrund einer nicht ausreichend radikalen Resektion oder einer Tumorzell dissemination und Zweitens das Rezidiv, das de novo, d. h. auf dem Boden einer kurativen Resektion bei bestehender Leberzirrhose, auftritt.

Eine Studie aus Japan, in der 249 Patienten nach Leberteilresektion wegen eines HCC beobachtet wurden, von denen 157 Patienten auch an einer Leberzirrhose litten, konnte zwei Häufigkeitsgipfel für das Auftreten von Rezidiven beschreiben: Der Erste trat im ersten postoperativen Jahr auf, der Zweite im fünften. (83) Für beide Häufigkeitsgipfel konnten unterschiedliche Risikofaktoren identifiziert werden.

Das frühe Rezidiv war auf nichtanatomische Resektionen und auf eine mikro- oder makroskopische Gefäßinfiltration (vermutlich durch unzureichende Radikalität bzw. Tumorzell dissemination) zurückzuführen, für das späte Rezidiv bestanden Risikofaktoren wie multiple Tumoren und v. a. aber ein höherer Aktivitätsgrad einer Hepatitis. (14, 15)

4.2 Transplantation

Die Lebertransplantation erreicht bei kleinen HCC in Zirrhose 5- und 10-Jahres-Überlebensraten von über 70 bzw. 60 %. Allerdings erfüllten nach histopathologischer Untersuchung 30 % der Patienten postoperativ nicht mehr das ursprüngliche Kriterium eines frühen HCC. Die postoperative Letalität liegt heutzutage unter 3 %. Die Hälfte aller Todesfälle tritt aufgrund von Tumorrezidiven auf, während die Grunderkrankung, d. h. die Leberzirrhose, praktisch keine prognostische Bedeutung mehr hat. Hinsichtlich möglicher Tumorrezidive ist der Hauptrisikofaktor eine mikroskopische oder makroskopische Gefäßinfiltration. Eine mikroskopische Gefäßinfiltration kann mit diagnostischen Mitteln bisher nicht nachgewiesen werden. Daher werden Anzahl und Größe der Tumorknoten eines HCC als Surrogatmarker einer Gefäßinfiltration verwendet. Die Grenzwerte vieler Zentren sind ein maximaler Durchmesser des HCC bis fünf Zentimeter bei Solitär Tumoren und bis zu drei Zentimeter bei höchstens drei Tumorknoten. (14, 15, 84)

In multivariaten Analysen konnte neben der Gefäßinvasion das histopathologische Grading als Überlebensparameter identifiziert werden. (25)

Davon abgesehen gilt ein extrahepatisches Tumorwachstum als Ausschlusskriterium. Hinsichtlich eines Befalles der Lymphknoten muss angemerkt werden, dass eine Infiltration beim HCC in Zirrhose ein seltenes Ereignis darstellt. Der Anteil von Patienten mit positiven Lymphknoten beträgt beim HCC in Zirrhose weniger als 5 % und selbst beim HCC in nichtzirrhotischer Leber trotz des dann häufig fortgeschrittenen T-Stadiums nur etwa 10 %.

Die Lebertransplantation bietet eine Reihe sowohl potentieller als auch erwiesener Vorteile:

1. Zirka 80 % aller HCC entstehen in einer zirrhotischen Leber. Die Zirrhose gilt als ein Risikofaktor für eine maligne Transformation. Mit der Lebertransplantation wird eine Therapie der Grunderkrankung durchgeführt.
2. Die totale Hepatektomie gilt beim HCC, das auf die Leber begrenzt ist, immer als formal kurativ. Demgegenüber kann bei atypischen Resektionen die Radikalität fraglich sein.
3. Die postoperative Letalität kann nach Transplantation nahezu vernachlässigt werden, während sie nach Leberteilresektion bei assoziierter Zirrhose etwa 5-15 % beträgt.
4. Die höhere Radikalität und die Behandlung der Grunderkrankung führen zu einer Prävention sowohl von Rezidiven als auch de novo entstandenen HCC.
5. Eine Verringerung von postoperativer Letalität sowie von zirrhose- und tumorassoziierter Mortalität geht mit höheren Langzeitüberlebensraten einher.

6. Ein histopathologisches Staging zum Nachweis von Multizentrität oder kleinen Satellitenknoten ist nur an der Explantatleber möglich. Die bildmorphologisch begründete Stadieneinteilung nach Leberteileresektion stellt dagegen eine potentielle Fehlerquelle mit häufig falsch-negativen Befunden dar, d. h. übersehenen Satelliten im verbliebenen Leberrest.

Demgegenüber wird die Tumorprogression während der Wartezeit auf ein geeignetes Transplantat bereits als ein spezifisches Hindernis angesehen, das im Rahmen einer bislang nicht zur Verfügung stehenden neoadjuvanten Therapie jedoch noch an Bedeutung verlieren könnte. Als wesentlicher Risikofaktor gilt eine insgesamt noch unklare Langzeitprognose aufgrund der vielfältigen transplantatassoziierten Morbidität und der kaum kalkulierbaren, erhöhten Rezidivraten unter Immunsuppression. (14, 15)

Ein Wachstumsvorteil potentieller residualer Tumorzellen muss nach totaler Hepatektomie wegen eines HCC in Zirrhose als bedeutendste Ursache eines langfristigen Therapieversagens angesehen werden. (85)

5 Hypothese der vorliegenden Arbeit

Bei Patienten mit einem HCC in Zirrhose ist die exakte Detektion und Charakterisierung der Läsion (en) äußerst wichtig, um die Behandlungsstrategie effektiv planen zu können. Dabei ist die Beurteilung von Anzahl, Größe und Lage der Läsionen von entscheidender Bedeutung für die Therapiestrategie (kurativ, d. h. Resektion oder Transplantation vs. palliativ).

Die MR-Bildgebung fokaler Leberläsionen hat in den letzten Jahren durch den Einsatz extrazellulärer und leberspezifischer Kontrastmittel beträchtliche Fortschritte gemacht.

Das paramagnetische Primovist® ist ein innovatives Gadolinium-Kontrastmittel für die T1-gewichtete Leber-MRT, das die Eigenschaften der extrazellulären Kontrastmittel mit denen eines hochspezifischen gallegängigen Leber-Kontrastmittels vereint. Es ermöglicht eine präzise Detektion und Charakterisierung fokaler Leberläsionen mittels Kombination dynamischer und hepatozytenspezifischer Bildgebung.

Solide gutartige Tumorentitäten wie die FNH nehmen Primovist® auf. Aber auch maligne Tumore wie das HCC enthalten aufgrund ihrer Abstammung häufig funktionsfähige Hepatozyten, deren Anteil mit zunehmender Entdifferenzierung sinkt. Deswegen ist bei einem gut differenzierten HCC mit einer Anreicherung von Primovist® und einem entsprechendem Enhancement zu rechnen, während entdifferenzierte HCC weniger bzw. kein Primovist® anreichern. Andere maligne Läsionen wie Metastasen oder Cholangiokarzinome zeigen ebenfalls keine Aufnahme von Primovist® und sind so mit gutem Kontrast vom umgebenden Lebergewebe zu unterscheiden. (13, 16)

Die Annahme war, dass mit der MRT unter Einsatz von Primovist® neben der Detektion auch kleinerer Leberläsionen (< 1,0 cm) eine verbesserte Charakterisierung der einzelnen Läsion bezüglich des histopathologischen Tumorgradings sowie der malignen Potenz (Malignitätsgrading) möglich sein könnte.

Aus den vorangestellten Erläuterungen ist das Ziel dieser retrospektiven Studie formuliert worden, in der es herauszufinden galt, ob es zwischen den normierten Signalintensitäten (I-Werten) der einzelnen kernspintomographischen Untersuchungssequenzen (Wichtungen), insbesondere in der dynamischen Untersuchung, d. h. nach Kontrastmittelapplikation und dem Tumorgrading sowie den DNA-zytometrischen Untersuchungsergebnissen mit Bestimmung des DNA-Ploidiegrades sowie des DNA-Indexes (Malignitätsgrading), einen statistischen

Zusammenhang gibt. Die im Rahmen der präoperativen Diagnostik/Staging durchgeführte MR-Bildgebung mit dem hepatozytenspezifischen Kontrastmittel Primovist® könnte im Falle einer positiven Korrelation möglicherweise zusätzliche Informationen hinsichtlich des histopathologischen Differenzierungsgrades bzw. des Malignitätsgrades des hepatozellulären Karzinoms generieren, um bei der Therapieplanung (kurativ vs. palliativ) unterstützend zu wirken bzw. als möglicher Prognosefaktor zu dienen.

6 Patienten und Methode

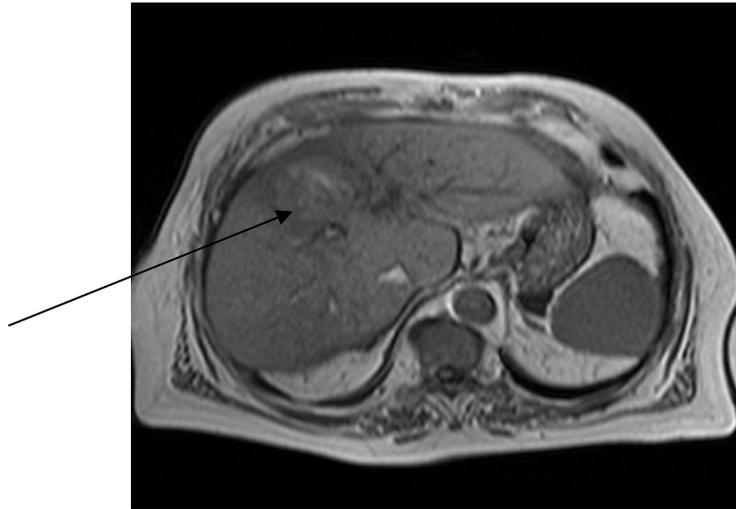
63 Patienten mit bekanntem bzw. verdächtigem HCC in Zirrhose, deren Leber im Zeitraum von 2004 bis 2008 in unserer Klinik kernspintomographisch mit dem hepatozytenspezifischen MR-Kontrastmittel (Primovist[®]) untersucht worden sind, wurden in die Studie eingeschlossen. Das mittlere Alter aller 63 Patienten betrug $63,0 \pm 10,0$ (52 Männer: $64,0 \pm 8,5$; Max. 84, Min. 43; 11 Frauen: $58,3 \pm 14,9$ Max. 82, Min. 32).

Es fand jeweils eine MRT-Untersuchung mit 1,5 Tesla an dem System Genesis Signa, General Electric Medical Systems, Wisconsin USA, mit einer 8-Kanal-Oberflächenspule statt.

An einer Workstation (General electric picture archiving and communication system, GE-PACS, GE-Healthcare, USA, Software Centricity RA 1000, Version: 2027435-091 an zwei Monitoren EIZO Radioforce GS 220 mit jeweils 2 Megapixel, Graustufen der Firma EIZO Nanao, Hakui Corporation, Japan) sind jeweils innerhalb einer region of interest (ROI) die Signalintensitäten des Tumors mit Standardabweichung sowie die Signalintensitäten des restlichen Lebergewebes bei standardisierten MR-Sequenzen ermittelt worden. Diese sind im folgenden Kapitel (6.1) beispielhaft an einem Patienten mit HCC in Zirrhose dargestellt. Dabei wurde die Signalintensität in der ROI auf der gesamten abgebildeten Tumorfläche in der Schicht seines jeweiligen größten transversalen Ausmaßes und im Bereich des Restlebergewebes auf einer Fläche von ca. 40 mm² bestimmt.

6.1 MR-Sequenzen und Tumorcharakteristika

Die verwendeten Sequenzen mit den entsprechenden bildgebenden Charakteristika werden am Beispiel eines Patienten aus dem Kollektiv mit einem gut differenzierten (G1) HCC und diploidem Chromosomensatz dargestellt. Der DNA-Index (DI) beträgt 1,34.



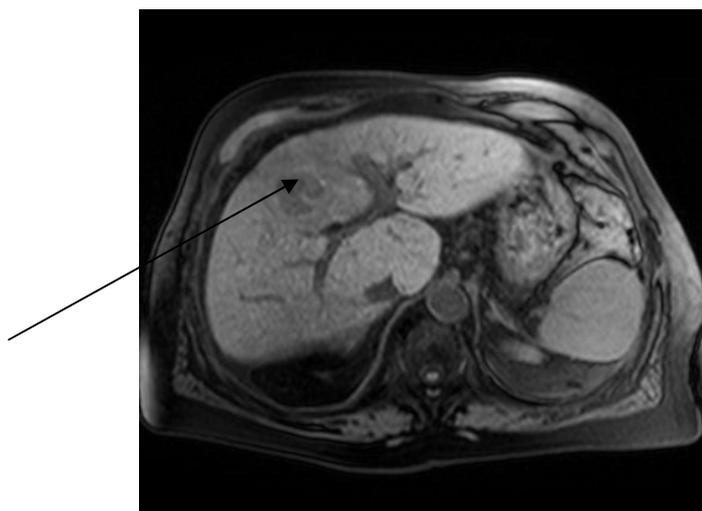
**Abb. 2: HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert)
in der nativen T1-Wichtung ohne Fettsättigung**

Der Tumor stellt sich in dieser Wichtung zum umgebenden Lebergewebe im Wesentlichen geringfügig hypointens dar, wobei zentrale Bereiche offensichtlich wegen einer Einblutung hyperintens erscheinen.

Sequenz:

T1-gewichtete 2-D-Gradienten-Echo-Sequenz (fast spoiled gradient echo, FSGE) unter Atemanhaltung nativ.

TR: 212 ms, TE: 4,6 ms, Anregungswinkel = 80°, Schichtdicke: 8 mm, Schichtabstand: 0 mm, FOV (field of view): 36 x 36 cm, Bildmatrix: 512 x 512, Akquisitionsmatrix: 256 x 205, Phasen-FOV: 75 %, Phasenauslese: 80 %, 3 Mittelungen, Bildfrequenz: 24 Schichtbilder in 15 s



**Abb. 3: HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert)
in der nativen T1-Wichtung mit Fettsättigung**

Der Tumor stellt sich in dieser Wichtung zum umgebenden Lebergewebe im Wesentlichen hypointens dar.

Sequenz:

T1-gewichtete 3-D-Gradienten-Echo-Sequenz axial unter Atemanhaltung mit Fettsättigung.

TR: 119 ms, TE: 6,9 ms, Anregungswinkel = 70° , Schichtdicke: 8 mm, Schichtabstand: 0 mm, FOV: 36 x 36 cm, Bildmatrix: 512 x 512, Akquisitionsmatrix: 224 x 157, Phase-FOV: 75 %, Phasenauslese 70 %, Bildfrequenz: 24 Schichtbilder in 40 s

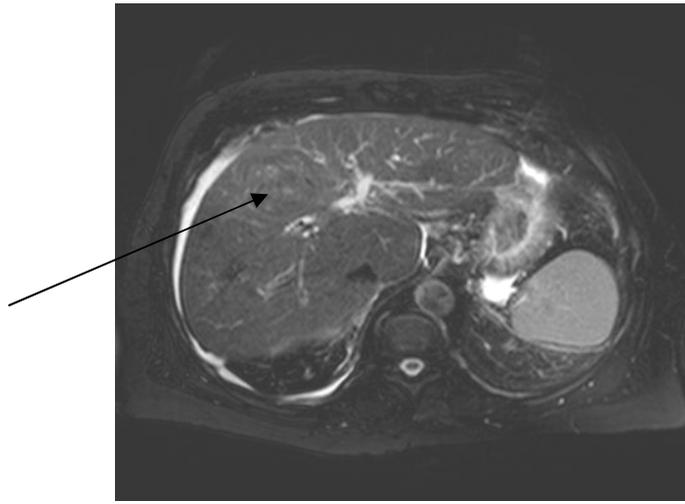


Abb. 4: HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert) in der nativen T2-Wichtung mit Fettsättigung

Der Tumor stellt sich in dieser Wichtung zum umgebenden Lebergewebe nur in wenigen zentralen Bereichen geringfügig hyperintens dar.

Sequenz:

T2-gewichtete schnelle 2-D-Spin-Echo-Sequenz (fast/turbo spin echo, FSE) mit Fettsättigung.

TR: 2100 ms, TE: 90 ms, Anregungswinkel (Flipwinkel) = 90° , Turbofaktor (echo train length, ETL): 21, axial, Schichtdicke: 8 mm, Schichtabstand: 0 mm, FOV: 36 x 36 cm, Bildmatrix: 512 x 512, Akquisitionsmatrix: 256 x 196, Phasen-FOV: 75 %, Phasenauslese: 85 %, Bildfrequenz: 28 Schichtbilder in 1 min und 9 s

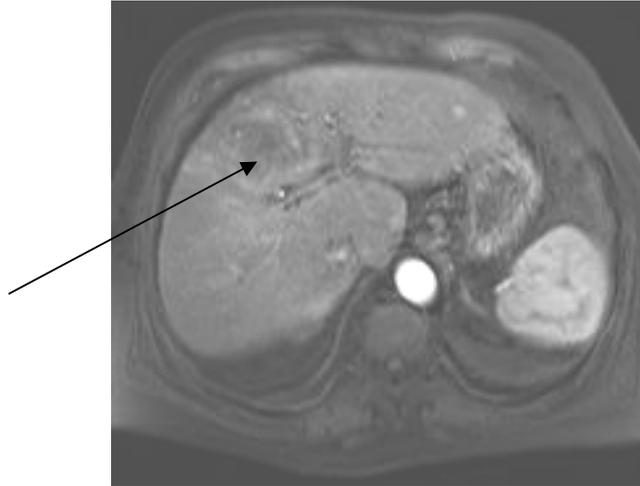


Abb. 5: HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert) in der arteriellen Phase, ca. 20 s nach Beginn der intravenösen Kontrastmittelgabe in der dynamischen Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung

Es zeigt eine vermehrte Kontrastmittelaufnahme im Randbereich des Tumors, die auf einer vermehrten arteriellen Durchblutung beruht.

Sequenz:

Dynamische T1-3-D-Sequenz, axial zweiphasisch (arteriell/venös) unter Atemanhaltung nach manueller intravenöser Bolusapplikation von leberspezifischem Kontrastmittel 0,1 ml Primovist® (0,025 mmol/kg Gd-EOB-DTPA) pro kg Körpergewicht.

TR: 10,3 ms, TE: 5,2 ms, Anregungswinkel = 15°, Turbofaktor (echo train length, ETL): 59, Schichtdicke: 5 mm, Schichtabstand: 0 mm, FOV: 36 x 36 cm, Bildmatrix: 256 x 256, Akquisitionsmatrix: 256 x 204, Phasen-FOV: 75 %, Phasenauslese: 80 %, Bildfrequenz: zwei 3-D-Datensätze mit 40 Schichten in 20 s pro Phase

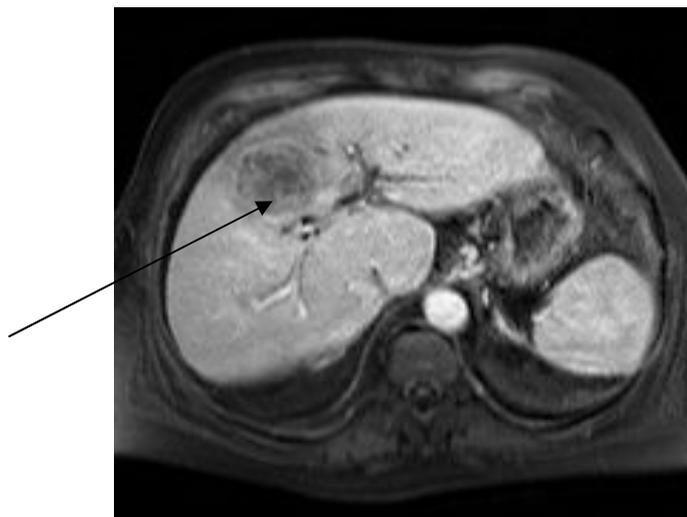


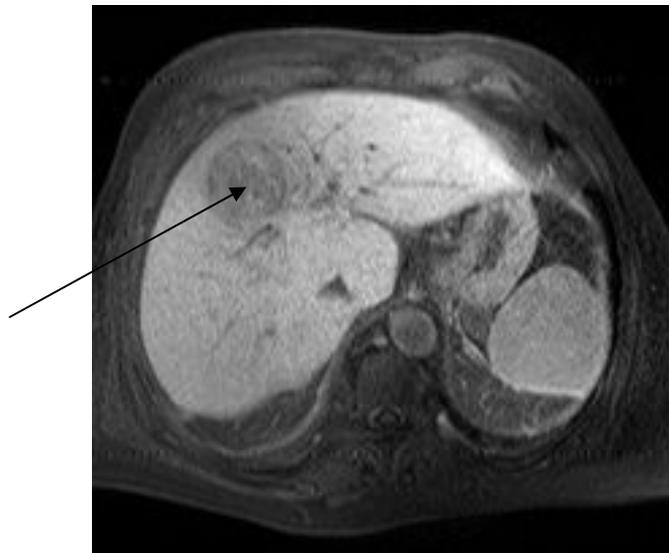
Abb. 6: HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert) in der venösen Phase, ca. 50 s nach intravenöser Kontrastmittelgabe in der dynamischen Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung

Typisch ist die zum umgebenden Lebergewebe erniedrigte Signalgebung, die auf einem schnellen Auswaschen/Rückfluss in der venösen Phase beruht.

Sequenz:

Dynamische T1-3-D-Sequenz, axial zweiphasisch (arteriell/venös) unter Atemanhaltung ca. 50 s nach manueller intravenöser Bolusapplikation von leberspezifischem Kontrastmittel 0,1 ml Primovist® (0,025 mmol/kg Gd-EOB-DTPA) pro kg Körpergewicht.

TR: 10,3 ms, TE: 5,2 ms, Anregungswinkel = 15°, Turbofaktor (echo train length, ETL): 59, Schichtdicke: 5 mm, Schichtabstand: 0 mm, FOV: 36 x 36 cm, Bildmatrix: 256 x 256, Akquisitionsmatrix: 256 x 204, Phasen-FOV: 75 %, Phasenauslese: 80 %, Bildfrequenz: zwei 3-D-Datensätze mit 40 Schichten in 20 s pro Phase



**Abb. 7: HCC im Segment 4 der Leber (mit Pfeil markiert)
in der späten Kontrastphase, ca. 20 min nach Gabe von Gd-EOB-DTPA
in der fettgesättigten T1-Wichtung**

Typisch ist die im Vergleich zum umgebenden Lebergewebe verminderte Signalgebung des Tumors, die auf der fehlenden Fähigkeit zur Verstoffwechslung des leberzellspezifischen Kontrastmittels beruht.

Sequenz:

T1-gewichtete 2-D-Gradienten-Echo-Sequenz (FSGE) unter Atemanhaltung ca. 20 min nach manueller intravenöser Bolusapplikation von leberspezifischem Kontrastmittel 0,1 ml Primovist® (0,025 mmol/kg Gd-EOB-DTPA) pro kg Körpergewicht.

TR: 212 ms, TE: 4,6 ms, Anregungswinkel = 80°, Schichtdicke: 8 mm, Schichtabstand: 0 mm, FOV: 36 x 36 cm, Bildmatrix: 512 x 512, Akquisitionsmatrix: 256 x 205, Phasen-FOV: 75 %, Phasenauslese: 80 %, drei Mittelungen, Bildfrequenz: 24 Schichtbilder in 15 s

6.2 Auswertung der MRT-Bilder

Zur Normierung der Messwerte wurde das Restparenchym der Leber verwendet, da die Signalintensität je nach Spulenkonfiguration, Magnetfeldhomogenisierung und Patientenanatomie schwankt. Für die statistische Berechnung sind die Quotienten aus der Signalintensität der jeweiligen Raumforderung (HCC) und der Signalintensität des Restlebergewebes verwendet worden. Die Entscheidung für den Quotienten und nicht für die Differenz der jeweiligen Signalintensitäten ist getroffen worden, da bei Einsatz des Quotienten Schwankungen der globalen Signalintensität eher neutralisiert werden. Ein weiterer Grund für die Entscheidung zugunsten der Quotienten zwischen dem eigentlichen Messwert (HCC) und dem Basiswert (Restleber) bestand in der verständlicheren Darstellungsmöglichkeit. Diese Quotienten werden in allen folgenden Betrachtungen als normierte Signalintensitäten I bezeichnet. (Gleichung 1)

$$I = \frac{SI(Tumor)}{SI(Leber)} \quad (1)$$

Um die technischen Schwankungen der absoluten Signalintensitäten besser kompensieren zu können, wurden im Weiteren die normierten Signalintensitäten (I) des Tumors bezogen auf die Restleber nach Gleichung 1 ausgewertet.

Unterschiede innerhalb der Gruppen des Patientenkollektivs, unterteilt nach DNA-Ploidiegrad, Tumorgrad, DNA-Index, und Zirrhoseursache, wurden in einem weiteren Schritt der statistischen Analyse anhand der Asymmetriekoeffizienten AC untersucht.

Der Asymmetriekoeffizient AC_1 (Gleichung 2) untersucht die Unterschiede zwischen den normierten Signalintensitäten (Gleichung 1) der arteriellen und venösen Phase.

$$AC_1 = \frac{I(art) - I(ven)}{0.5(I(art) + I(ven))} \quad (2)$$

Der zweite Asymmetriekoeffizient AC_2 (Gleichung 3) untersucht die Unterschiede zwischen den normierten Signalintensitäten (Gleichung 1) der nativen und der spätvenösen (sog. Post-KM) Phase.

$$AC_2 = \frac{I(nat) - I(post)}{0.5(I(nat) + I(post))} \quad (3)$$

Da sämtliche in dieser retrospektiven Studie eingeschlossenen Patienten einer Tumorresektion bzw. einer Lebertransplantation unterzogen worden sind, bestand die Möglichkeit, von allen untersuchten hepatozellulären Karzinomen den histopathologischen Befund mit dem entsprechendem Tumorgrad (Grading) G1 bis G3 zu erhalten, der zur Korrelation in der statistischen Auswertung verwendet wurde.

Des Weiteren sind 52 der in dieser Studie untersuchten hepatozellulären Karzinome einer DNA-Zytometrie unterzogen worden. Auch diese Ergebnisse wurden zur Korrelation in der statistischen Auswertung verwendet.

Die Technik der Gewinnung der DNA-zytometrischen Werte (DNA-PG bzw. DI) nach Vorbereitung des paraffineingebetteten Archivmaterials wird im folgenden Kapitel beschrieben.

6.3 Präparation des paraffineingebetteten Archivmaterials für die DNA-Zytometrie

6.3.1 Schneiden und Dehydrieren

1. Ein bis zwei Schnitte von 3 µm von allen Blöcken schneiden; HE-Färbung und mikroskopische Untersuchung, ob Tumorzellen enthalten sind; von dem Tumoranteil fünf bis zehn Schnitte à 50 µm mit dem Mikrotom anfertigen und in einem verschließbaren Röhrchen bis zur Aufarbeitung aufbewahren; als Referenz für die diploide DNA-Verteilung enzymatische Zellseparation von normalen Zellanteilen (in der Regel Lymphozyten oder Granulozyten).
2. Drei bis vier Schnitte à 50 µm Dicke in beschriftete Glasröhrchen geben; mit 8 bis 10 ml Toluol auffüllen und für zweimal 10 min inkubieren; in der absteigenden Alkoholreihe Entfernen des Paraffinanteiles; nach Abgießen des Überstandes Zentrifugation.
3. 100 % Ethanol – zweimal 10 min
4. 96 % Ethanol – zweimal 10 min
5. 70 % Ethanol – zweimal 10 min
6. Aqua dest. – fünfmal 10 min

Bei Verdacht auf Zellverlust erfolgte nach jedem Schritt eine Zentrifugation, insbesondere aber nach den Aqua-dest.-Schritten.

6.3.2 Enzymatische Zellseparation

1. Pepsin-Lösung: 5 ml Falcon-Röhrchen im Wasserbad bei 37 °C inkubieren; zwischen 30 min bis 2,5 h inkubieren – 60 min sind ideal (abhängig vom Gewebetyp); während der Inkubationszeit mehrmals schütteln.
2. Mechanische Disaggregation mit einer Spritze bzw. Pasteur-Pipette – d. h. mehrmals Ein- und Ausspritzen bis zur Auflösung der Schnitte

3. Filtration durch einen Nylon-Filter mit einer Porengröße von 70-80 μm
4. Zentrifugation für 2 min bei 2000 rpm, Überstand dekantieren
5. mit kalter PBS- oder Kochsalzlösung auffüllen
6. Zentrifugationsschritt zweimal wiederholen
7. Sediment auf ein mit Poly-L-Lysin beschichteten Objektträger austreichen; alternativ Zellen auch mittels einer Zytocentrifuge auf einen Objektträger bringen; für die Feulgen-Reaktion Präparate lufttrocknen und staubfrei aufbewahren; vor der Färbung Fixierung der Präparate in 4 %-iger gepufferter Formalinlösung für 30 min
8. Zwei- bis dreimal mit Aqua dest. spülen, Küvetten stehen lassen und Aqua dest. 10 min laufen lassen
9. Fortsetzung mit dem Hydrolyseschritt der Feulgen-Reaktion
10. 5 (N) HCL (Titrisol) 1 mol/l Ampulle auf 250 ml Aqua dest. auffüllen; Glasfärbeständer mit Präparaten 50 min stehen lassen
11. Dreimal mit Aqua dest. spülen
12. Küvetten mit Schiffsreagenz (gebrauchsfertige Lösung) füllen und 60 min dunkel stellen
13. SO_2 -Spülung herstellen: 500 ml Aqua dest. plus 30 ml 10 % Kaliumdisulfat plus 30 ml 1 % HCL, dann auf 600 ml Aqua dest. auffüllen
14. SO_2 -Spülung auf drei Küvetten verteilen
15. Glasständer in die Küvetten, dreimal Küvetten je 4 min mit kaltem Leitungswasser spülen
16. Spülen mit Aqua dest.
17. Zuerst mit 96 %-igem Alkohol spülen; danach je zweimal mit absolutem Alkohol spülen
18. Glasständer in Toluol geben, bewegen und eindecken

6.3.3 Präparation der Pepsin-Lösung

1. HCL-Lösung: 93 ml Aqua dest. und 7 ml 1 N HCL
2. Pro Gewebprobe 5 ml HCL-Lösung in ein 50 ml Falcon-Röhrchen geben, im Wasserbad bei 37° Celsius erwärmen, 25 mg Porcin Pepsin (No 31820) von Serva dazugeben und mit Magnet-Rührer rühren, die dehydrierten Schnitte darin inkubieren

Die Abb. 8 zeigt ein histologisches HCC-Präparat nach vollständiger Präparation des eingebetteten Archivmaterials und Feulgen-Färbung entsprechend den oben genannten Arbeitsschritten. (eigene Darstellung)

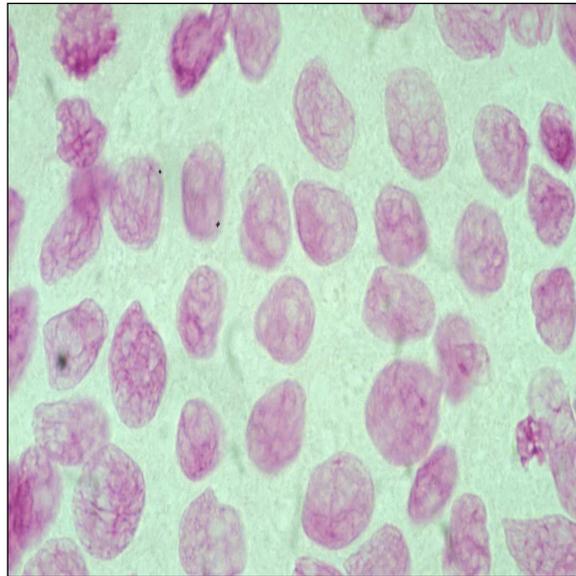


Abb. 8: Histologisches Präparat eines HCC nach vollständiger Präparation des paraffineingebetteten Archivmaterials und Feulgen-Färbung

Mit der DNA-Zytometrie wurden an jedem Präparat jeweils mindestens 300 Tumor- bzw. 30 Referenzzellen (Granulozyten bzw. Lymphozyten) untersucht.

Die Interpretation der DNA-Histogramme erfolgte, bezogen auf den Konsensusbericht zur diagnostischen DNA-Image-Zytometrie, entsprechend den Empfehlungen der European Society for Analytical Cellular Pathology. Der Zellkern-DNA-Gehalt wurde als diploid oder polyploid bezeichnet, wenn er im Bereich des Mittelwertes (MW) der diploiden Eichpopulation ($\pm 15\%$) oder seiner Vielfachen ($\pm 15\%$) liegt, entsprechend dem Variationskoeffizienten der Eichpopulation. Als aneuploid werden alle außerhalb des diploiden und polyploiden Bereiches liegenden Zellkerne bezeichnet. Der DNA-Gehalt jeder Tumorzelle wurde als Vielfaches des haploiden Chromosomensatzes (c) auf der x-Achse in arbitrary unit (AU) dargestellt. Die Zahl der gemessenen Tumorzellkerne (n) ist auf der y-Achse abgebildet. Durch das Eintragen der gewonnenen Werte auf die Abszisse und Ordinate entsteht so das Zytophotogramm. (24, 21, 74)

Alle DNA-zytometrischen Untersuchungen wurden an einer Arbeitseinheit ausgeführt (siehe Abb. 9) Die Messung der integrierten optischen Dichte der Zellkerne erfolgte interaktiv am Monitor eines mit einem konventionellen Mikroskop (Nikon Eclipse 50i) gekoppelten, PC-basierten Bildanalyse-systems. Das Mikroskop ist mit einer TV-Kamera (CCD-Farbkamera JAIS 3300) samt passendem Interferenzfilter ausgestattet. (eigene Darstellung)

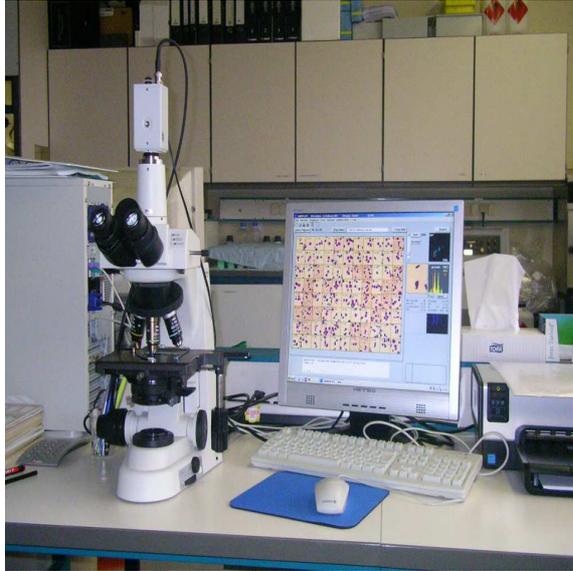


Abb. 9: Arbeitsplatz mit Messmonitor für die interaktive DNA-Bildzytometrie

Dieser besteht aus der Mikroskop-Kamera-Einheit (Nikon Eclipse 50i und CCD-Farbkamera JAIS 3300), dem Pentium-PC, dem Monitor sowie der Tastatur und der Maus.

Die Abb. 10 bis 12 zeigen Beispiele aus der DNA-Zytometrie von Patienten mit einem HCC mit hypodiploider, aneuploid-tetraploider sowie aneuploider Stammlinie. (eigene Darstellung)

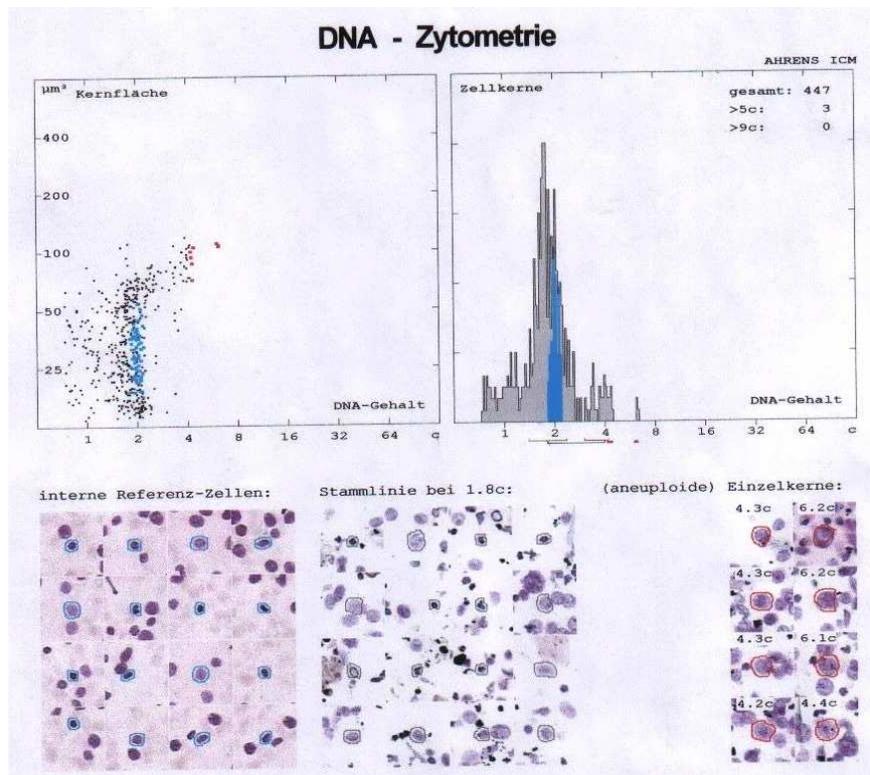


Abb. 10: DNA-Histogramm mit hypodiploider Stammlinie bei 1,81c DI 0,9

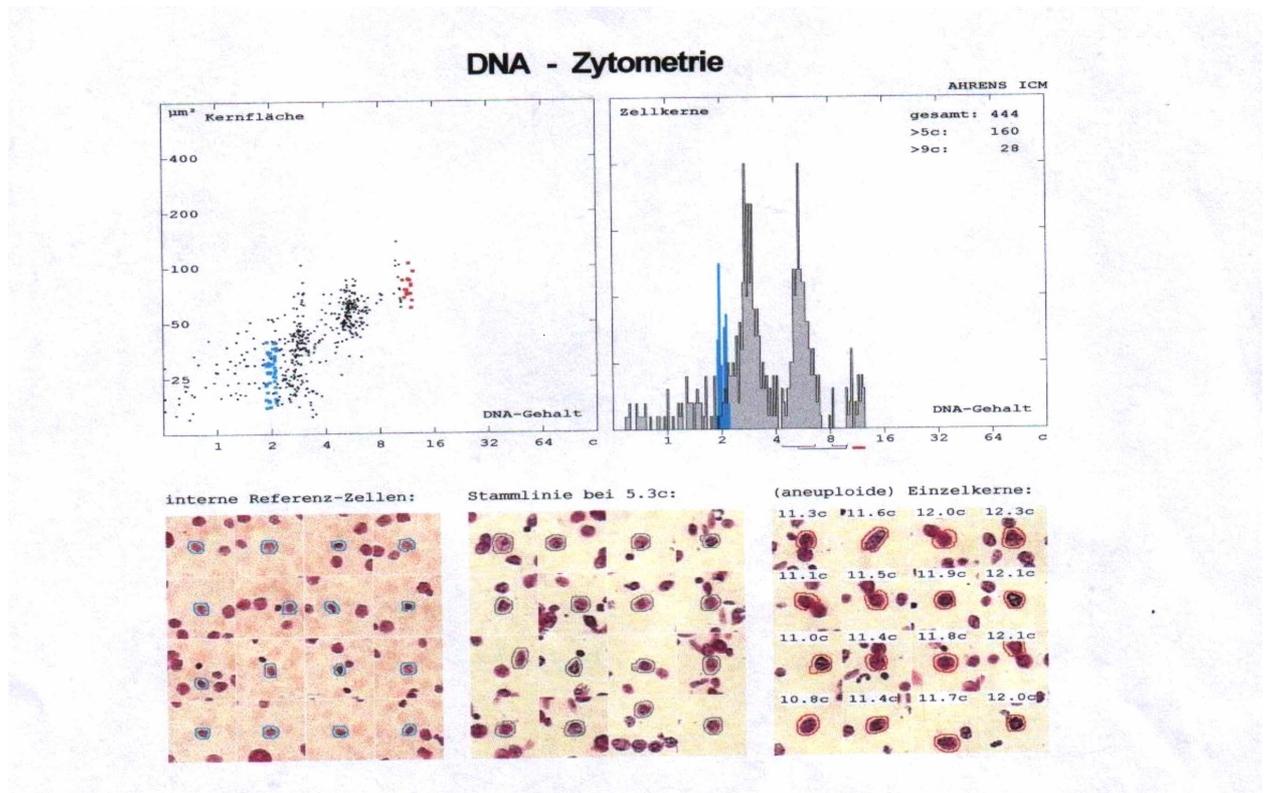


Abb. 11: DNA-Histogramm mit aneuploid-tetraploider Stammlinie bei 5,27 (Polyplidie) DI 2,6

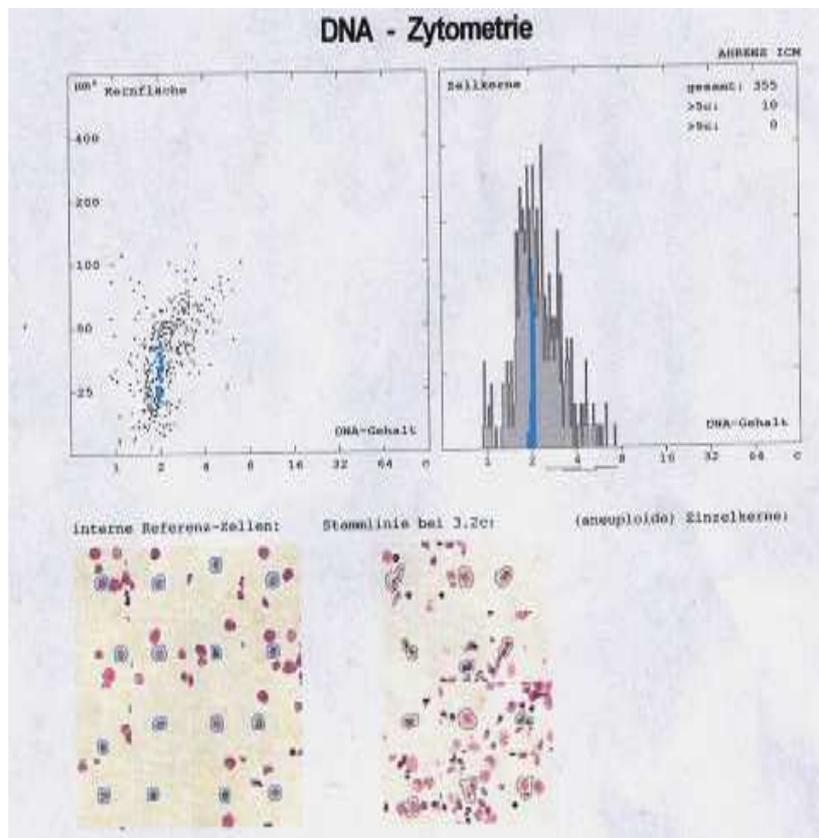


Abb. 12: DNA-Histogramm mit aneuploider Stammlinie bei 3.21 DI 1,60

Die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen unter Einsatz von Primovist®, der DNA-Zytophotometrie und der vorliegenden pathohistologischen Befunde wurden statistisch ausgewertet.

6.4 Statistische Auswertung

Statistische Unterschiede zwischen den Gruppen, unterteilt nach DNA-Ploidiegrad, Tumorgrad, DNA-Index und Zirrhoseursache, wurden mit dem Wilcoxon-Test untersucht. Um mögliche Zusammenhänge zwischen den einzelnen Parametern zu ermitteln, wurde eine Korrelations- und Regressionsanalyse durchgeführt. Die Korrelation zwischen den Asymmetriekoeffizienten und dem DNA-Index wurde mit dem Spearman-Rho-Test untersucht, der eine Normalverteilung nicht voraussetzt. Als statistisches Modell zur Klärung von Einflüssen auf gemessene, abhängige Größen wurden Regressionsanalysen benutzt, die einen linearen Zusammenhang annehmen. Fehlende Daten und Daten, die zu zwei Gruppen gehören, wurden vernachlässigt.

Das Signifikanzniveau für alle statistischen Anwendungen wurde auf 5 % festgelegt und es wurde jeweils zweiseitig getestet. Zur Deskription dienen Kastendiagramme, die eine gute Möglichkeit zur Darstellung der Verteilungen in den einzelnen Gruppen bieten.

Zum besseren Verständnis eines Kastendiagramms an dieser Stelle eine kurze Veranschaulichung: Die mittlere Linie des Kastens zeigt den Median (50 % der Werte), die untere Begrenzungslinie das erste Quartil (25 % der Werte) und die obere das dritte Quartil (75 % der Werte). Das Minimum bzw. Maximum liegt jeweils am Ende der dünnen Linie. Zusätzlich könnten einzelne sog. Ausreißer oder auch Extremwerte, die sich unterhalb des Minimums bzw. oberhalb des Maximums befinden, mit Sternen oder Hohlkreisen dargestellt werden.

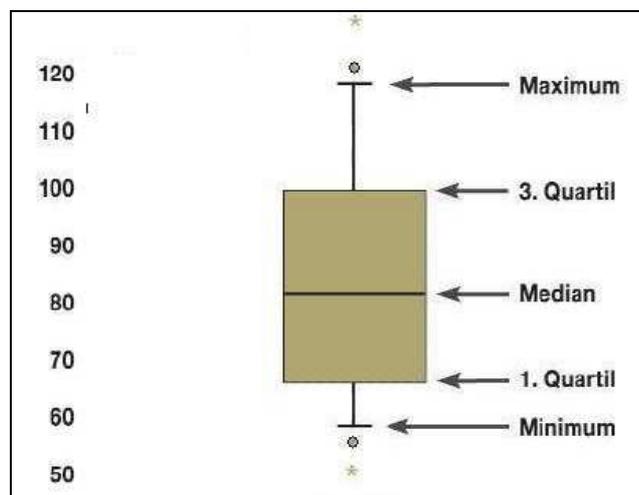


Abb. 13: Beispiel für ein Kastendiagramm

Die statistische Auswertung der normierten Signalintensitäten, berechnet nach den Gleichungen 1-3, wurde mit der Statistiksoftware R (GNU project, <http://www.r-project.org>) bzw. der Statistiksoftware SPSS 16.0 (Statistical Package for the Social Sciences, Inc. Headquarters, 233 S Wacker Drive, Chicago, Illinois 60606) durchgeführt.

7 Ergebnisse

Abkürzungen und Erläuterungen

AC ₁	Asymmetriekoeffizient 1 (arteriell{venös})
AC ₂	Asymmetriekoeffizient 2 (nativ/spätvenös)
DNA-PG	<p>DNA-Ploidiegrad – Quantitative Charakterisierung von vollständigen Chromosomensätzen (einfach oder ganzzahlig mehrfach) im Zellkern; von besonderer Bedeutung für die Beurteilung der Proliferation von malignen Zellen.</p> <p>DNA-Ploidie – kennzeichnet den DNA-Gehalt von Zellen; Begriff sollte für die Benennung von DNA-Stammlinien, nicht jedoch für eine einzelne Zelle gebraucht werden.</p> <p>Die Einteilung erfolgt in drei Gruppen:</p> <ul style="list-style-type: none">1 – Aneuploidie2 – Diploidie3 – Tetraploidie
Aneuploidie	<p>Abweichung vom euploiden (physiologisch vollständigen) Chromosomensatz, bei der einzelne Chromosomen nicht in normaler Anzahl vorhanden sind. Bezogen auf die DNA-Zytometrie heißt dies, dass der Zellkern-DNA-Gehalt als aneuploid bezeichnet wird, wenn er außerhalb des Mittelwertbereiches der diploiden Eichpopulation ($\pm 15\%$) oder seiner Vielfachen ($\pm 15\%$) liegt, entsprechend dem Variationskoeffizienten der Eichpopulation.</p>
Di- und Polyploidie	<p>Physiologisch vollständiger Chromosomensatz mit 22 autosomalen Paaren und den Geschlechtschromosomen XX bzw. XY bzw. ein Mehrfaches dieses Chromosomensatzes. Bezogen auf die DNA-Zytometrie bedeutet dies, dass der Zellkern-DNA-Gehalt als diploid bzw. polyploid bezeichnet wird, wenn er im Bereich des Mittelwertes der diploiden Eichpopulation ($\pm 15\%$) oder seiner Vielfachen ($\pm 15\%$) liegt, entsprechend dem Variationskoeffizienten der Eichpopulation.</p>

Tetraploidie	Spezielle Form der Polyploidie, bei der die Zellen vier komplette Chromosomensätze besitzen. Ein geringer Anteil der menschlichen Leber-Zellen ist natürlicherweise tetraploid, enthält also 92 statt 46 Chromosomen wie in der üblichen diploiden Zelle.
DNA-Index (DI)	Modaler DNA-Wert eines Häufigkeitsgipfels dividiert durch den Modalwert diploider Referenzzellen wie z. B. Lymphozyten oder Granulozyten.
Tumorgrad (G)	Pathohistologischer Differenzierungsgrad des HCC Dabei werden drei Grade unterschieden: G1 – gut differenzierte G2 – mäßig differenzierte G3 – schlecht differenzierte Tumoren GX – Tumorgrad ist nicht bestimmbar
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
I (T1)	Normierte SI – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der nativen T1-Wichtung
I (T1 FS)	Normierte SI – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der nativen fettgesättigten T1-Wichtung
I (T2 FS)	Normierte SI – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der nativen fettgesättigten T2-Wichtung
I (art.)	Normierte SI – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der arteriellen Phase, ca. 20 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung
I (ven.)	Normierte SI – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der venösen Phase, ca. 50 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung
I (spätvenös)	Normierte SI – Quotient der SI aus Tumor und Restleber in der spätvenösen Kontrastphase (sog. Post-KM-Phase), ca. 20 min nach

i.v.-KM-Applikation in der fettgesättigten T1-Wichtung

k. S.	keine Signifikanz
p-Wert	Signifikanzwert
r	Korrelationskoeffizient
r ²	Bestimmtheitsmaß
RL	Restleber
SI	Signalintensität
TM	Tumor (HCC)

Von 572 Patienten der Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie des Virchow Klinikums aus dem Zeitraum von 2004 bis 2008 mit bekanntem HCC in Zirrhose konnten 63 Patienten, die im Rahmen der präoperativen Diagnostik mittels MRT unter Einsatz des hepatobiliären Kontrastmittels Primovist® diagnostiziert wurden, in die retrospektive Studie eingeschlossen werden. Die anderen Patienten mussten aufgrund von auswärtigen MRT-Untersuchungen mit unterschiedlichen Sequenzen bzw. Einsatz eines anderen Kontrastmittels, CT-Untersuchungen oder Zustand nach interventioneller Therapie wie RFA, LITT oder TACE sowie anderen Faktoren ausgeschlossen werden. Von diesen 63 Patienten fielen 52 auf das männliche und 11 auf das weibliche Geschlecht.

Das mittlere Alter aller 63 Patienten betrug $63,0 \pm 10,0$ (52 Männer: $64,0 \pm 8,5$; Max. 84, Min 43; 11 Frauen: $58,3 \pm 14,9$; Max .82, Min 32).

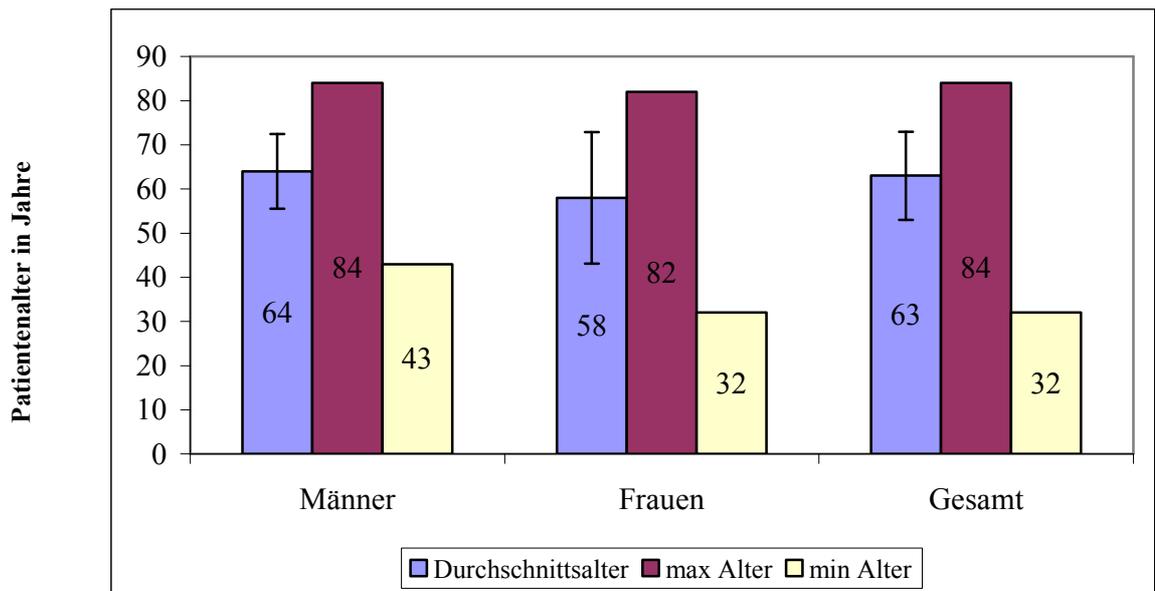


Abb. 14: Geschlechtsbezogene Altersverteilung der HCC-Patienten

Die Ursache der Leberzirrhose war bei 5 Patienten eine Hepatitis-B (Männer 4, Frauen 1), bei 15 Patienten eine chronischen Hepatitis-C (Männer 11, Frauen 4) sowie bei 25 Patienten kryptogen (Männer 20, Frauen 5) und bei 16 Patienten ein chronischer Alkoholabusus (Männer 15, Frauen 1). Bei einem männlichen Patienten bestand eine Kombination aus Hepatitis-B und -C, bei einem anderen aus Hepatitis-C sowie einem chronischem Alkoholabusus. Dies ist in der Abb. 15 dargestellt.

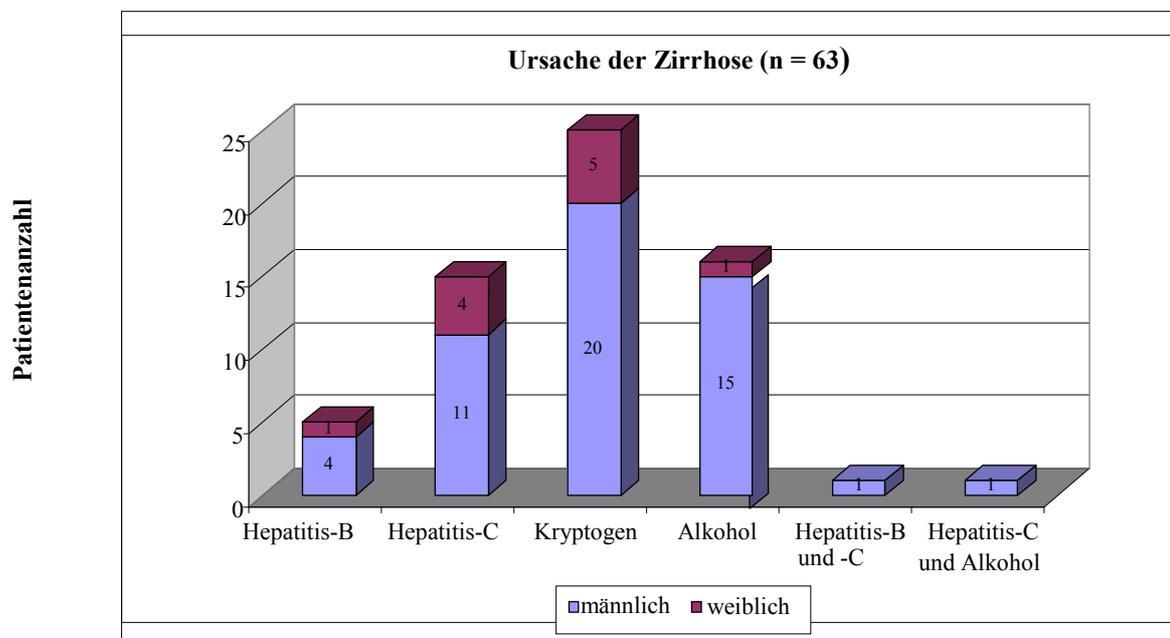


Abb. 15: Geschlechtsbezogene Verteilung der Zirrhoseursache der HCC-Patienten

Die Verteilung der pathohistologischen Tumorgrade zeigte 26 gut differenzierte (G1)-, 28 mäßig differenzierte (G2)- und 8 schlecht differenzierte (G3)-HCC. Bei einem Tumor konnte der Differenzierungsgrad (GX) nicht bestimmt werden.

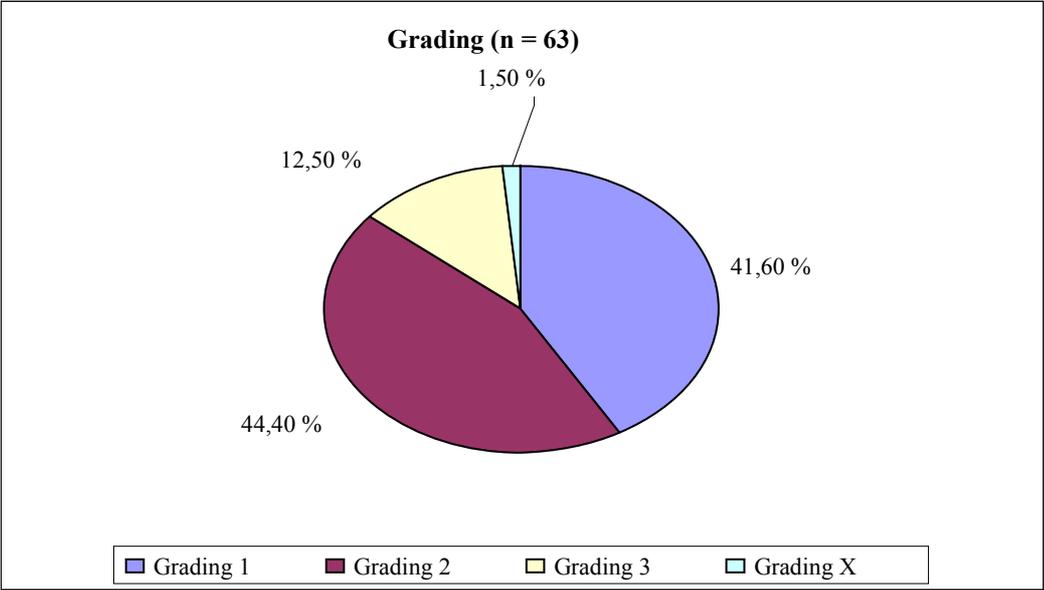


Abb. 16: Verteilung des Tumordifferenzierungsgrades (Grading) der HCC-Patienten

Der DNA-Ploidiegrad der 52 Patienten verteilte sich wie folgt: 25 waren aneuploid, 19 diploid und 8 tetraploid. Bei 11 Patienten konnte der Ploidiegrad wegen fehlenden Zellmaterials nicht bestimmt werden.

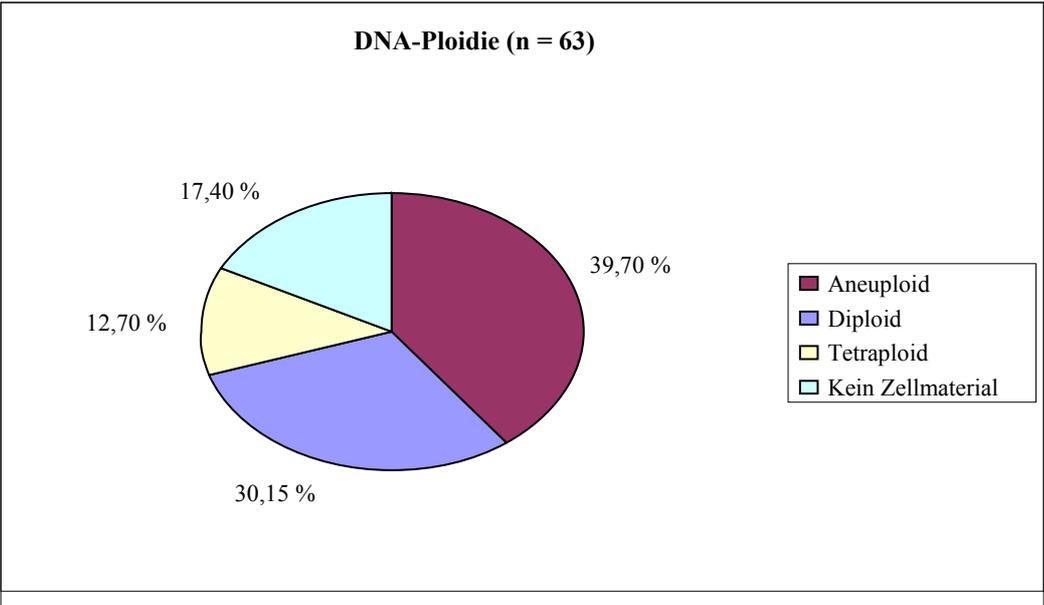


Abb. 17: Verteilung der DNA-Ploidie

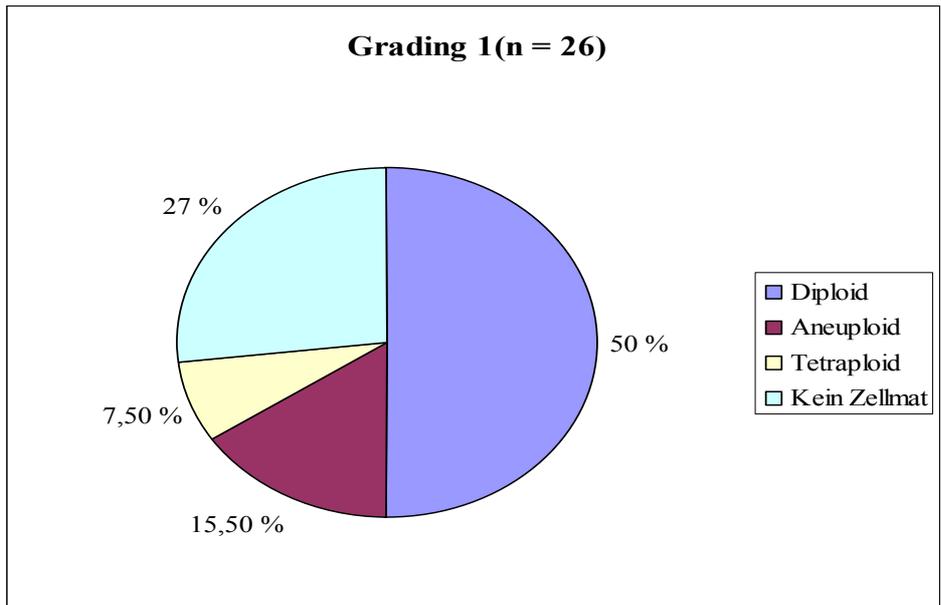


Abb. 18: DNA-Ploidie vs. Tumorgrad (Grading) G1

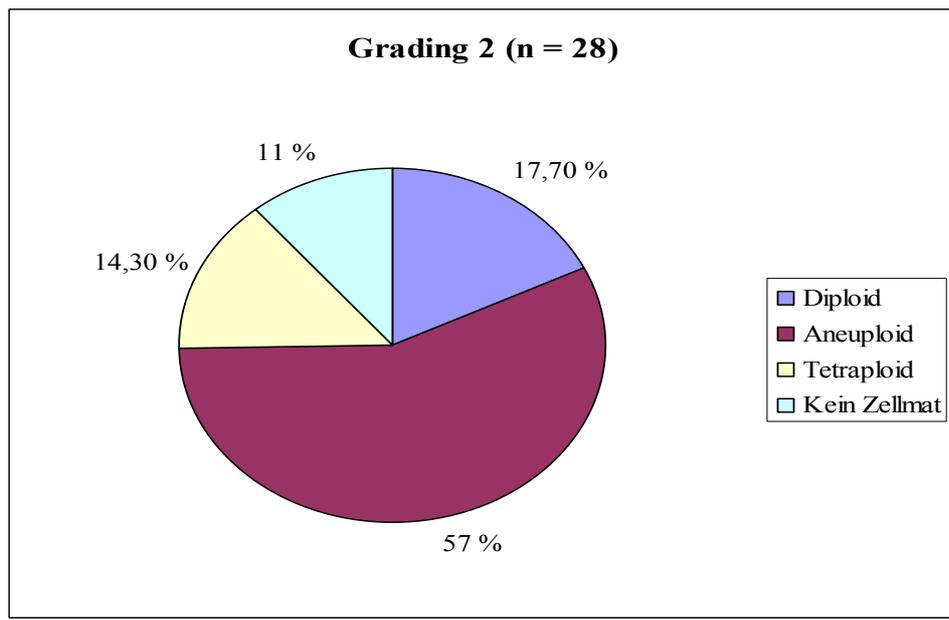


Abb. 19: DNA-Ploidie vs. Tumorgrad (Grading) G2

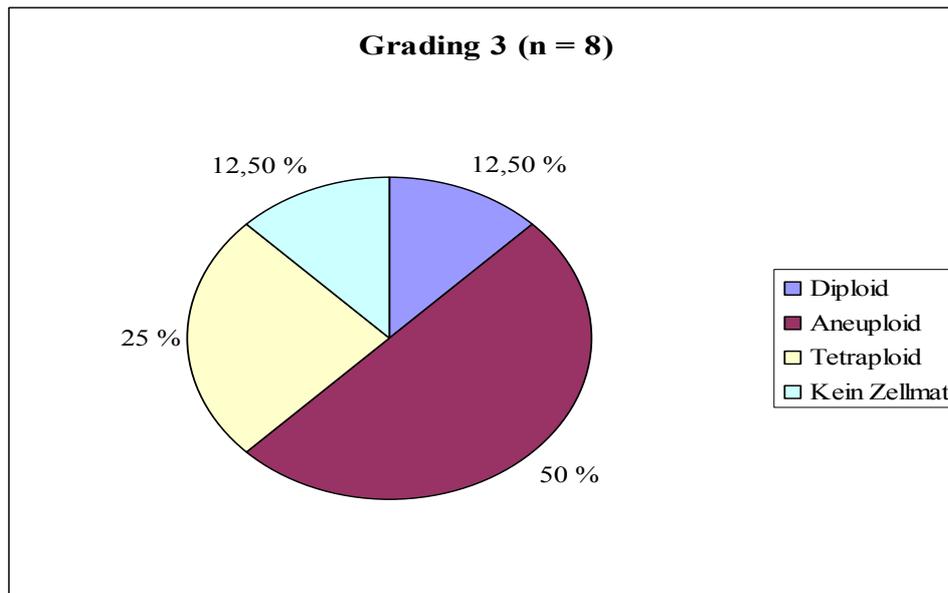


Abb. 20: DNA-Ploidie vs. Tumorgrad (Grading) G3

Die Tab. 12 fasst die mittleren Indexwerte bezogen auf den Tumorgrad zusammen.

Tumorgrad (G)	n	Index-Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD)
G1	19	1,21 ± 0,24
G2	25	1,57 ± 0,50
G3	7	1,64 ± 0,61

Tab. 12: Indexmittelwerte in den verschiedenen Tumorgradgruppen

Für die statistische Analyse wurden die normierten Signalintensitäten (I) der einzelnen Wichtungen aus der Quotientenbildung (Signalintensität des Tumors dividiert durch Signalintensität der Restleber) verwendet (siehe Gleichung 1).

In der Tab. 13 sind die untersuchten Parameter (Wichtungen) zusammengestellt.

Parameter	n	SI-Mittelwert ± Standardabweichung	Min.	Max.
I (T1)	60	0,90 ± 0,19	0,58	1,36
I (T1 FS)	55	0,91 ± 0,22	0,49	1,45
I (T2 FS)	62	1,67 ± 0,62	0,69	4,10
I (art.)	62	1,20 ± 0,36	0,65	2,01
I (ven.)	62	0,92 ± 0,21	0,54	1,51
I (spätvenös)	60	0,77 ± 0,27	0,39	2,25

Tab. 13: Übersicht über die Mittelwerte der normierten Signalintensitäten aller Wichtungen

Die graphische Darstellung der normierten Signalintensitätsverteilung aller Wichtungen zeigt die Abb. 21.

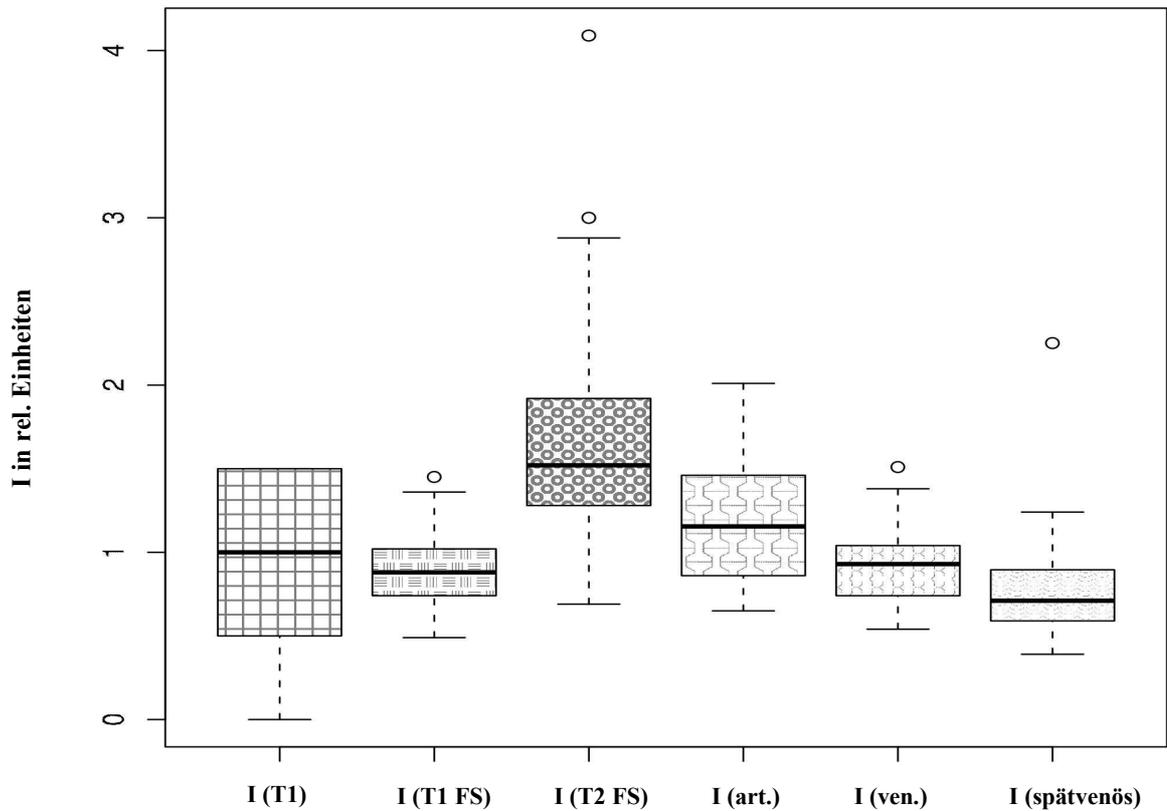


Abb. 21: Verteilung der normierten Signalintensitäten aller Wichtungen

Die Daten wurden im Einzelnen jeweils mit Kastendiagrammen (Boxplots) dargestellt.

Für jeden Parameter I (T1), I (T1 FS), I (T2 FS), I (art.), I (ven.), I (spätvenös) gibt es eine Grafik bezüglich der Unterscheidung in den einzelnen DNA-Ploidiegruppen. Der DNA-Ploidiegrad wurde dabei in drei Gruppen unterteilt:

1 → aneuploid 2 → diploid 3 → tetraploid

Die Gruppen wurden untereinander mit dem Wilcoxon-Test verglichen. Es ergaben sich für die normierten Signalintensitäten in den verschiedenen DNA-Ploidiegruppen in keinem Fall signifikante Unterschiede

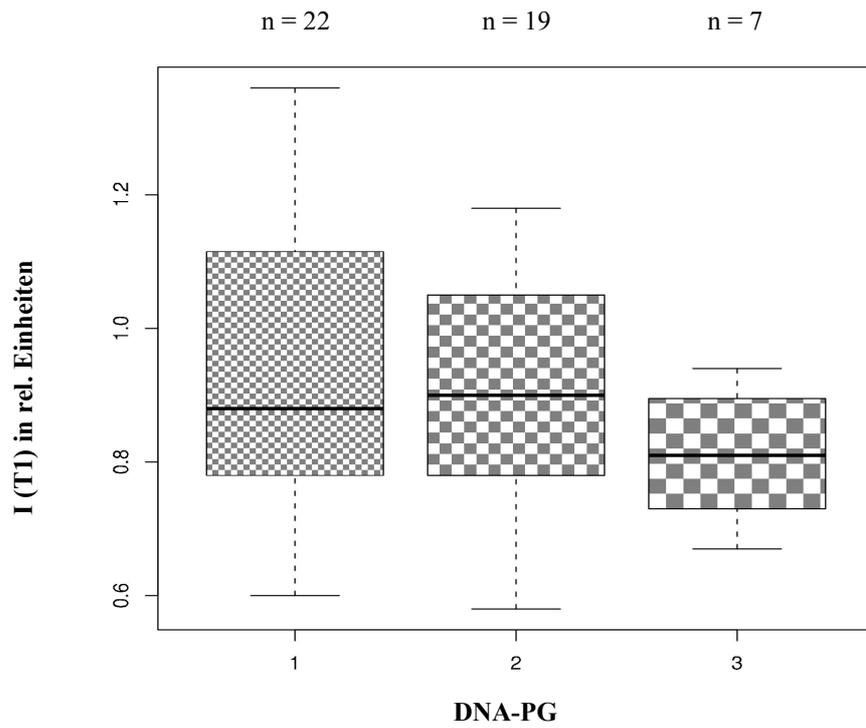


Abb. 22: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen T1-Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad

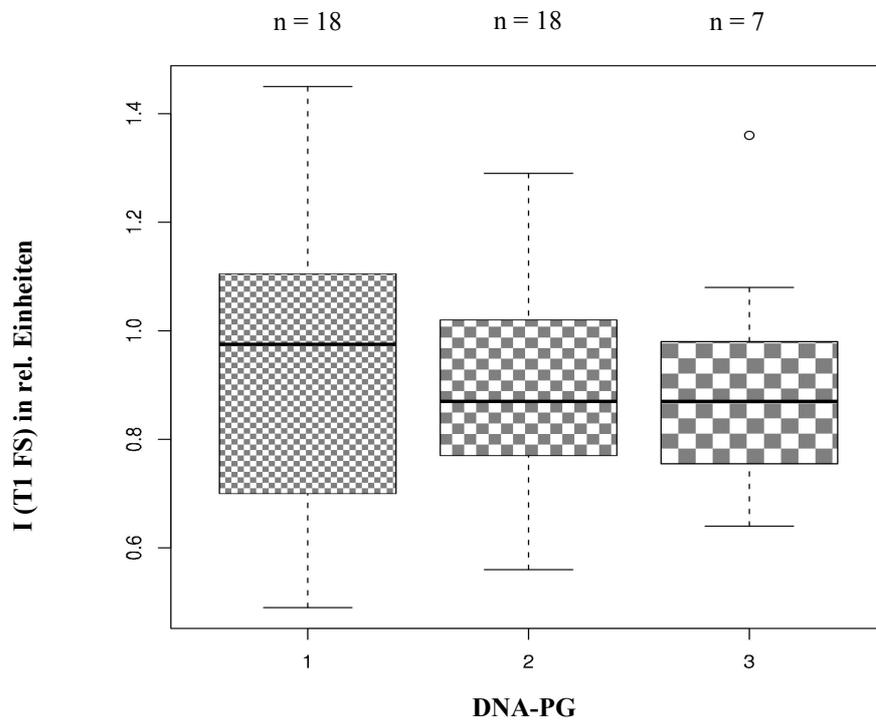


Abb. 23: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T1-Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad

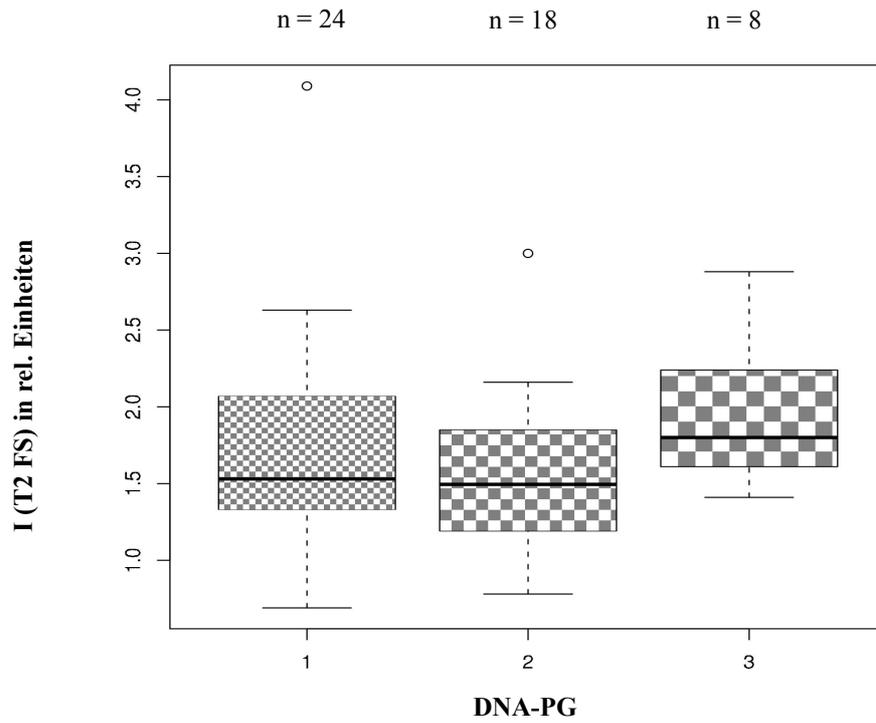


Abb. 24: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T2-Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad

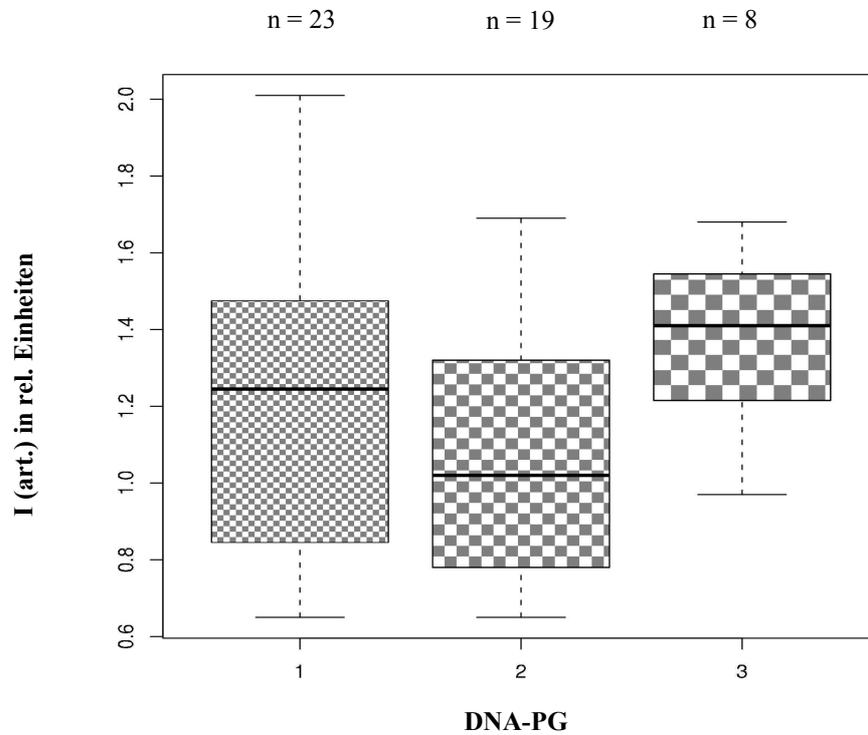


Abb. 25: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. art. Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad

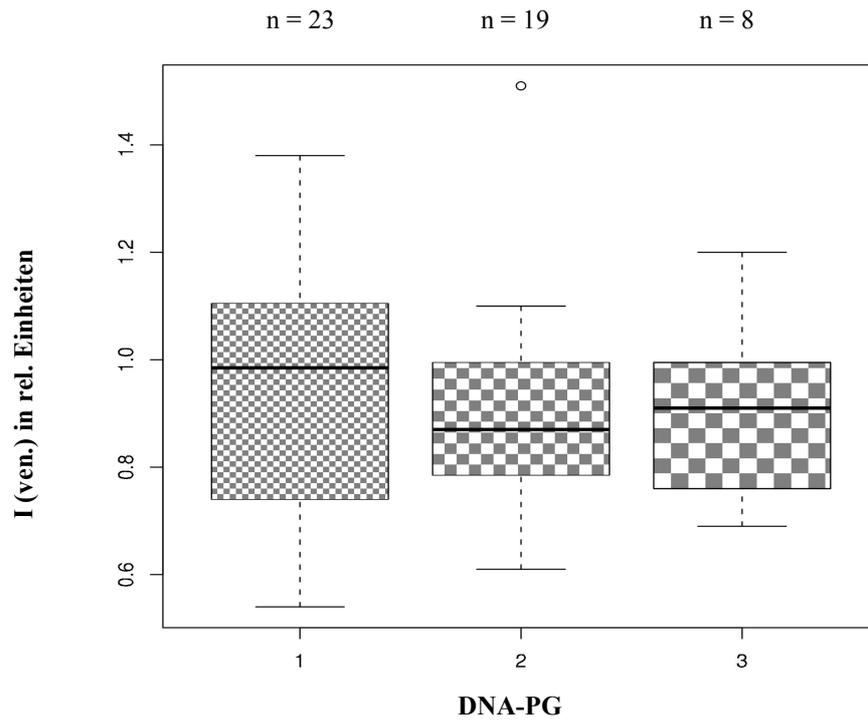


Abb. 26: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. ven. Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad

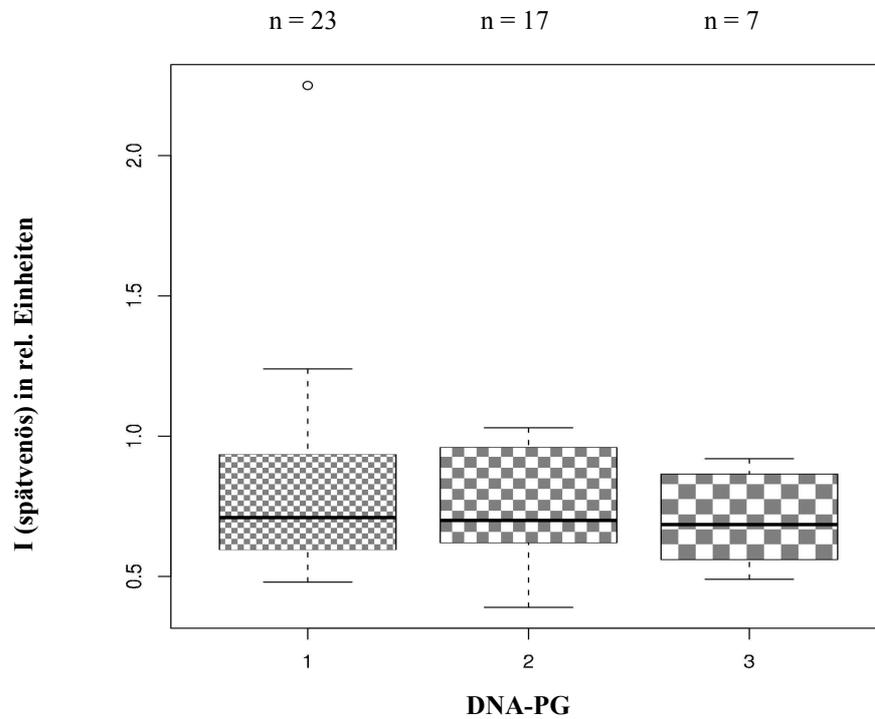


Abb. 27: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der T1-KM-Spät-Wichtung über dem DNA-Ploidiegrad

Für jeden Parameter I (T1), I (T1 FS), I (T2 FS), I (art.), I (ven.), I (spätvenös) gibt es eine Grafik bezüglich der Unterteilung beim Tumorgrad. Der Tumorgrad ist in drei Gruppen unterteilt:

1 → gut differenziert 2 → mäßig differenziert 3 → schlecht differenziert

Die Gruppen wurden untereinander mit dem Wilcoxon-Test verglichen. Es ergaben sich für die normierten Signalintensitäten der verschiedenen Tumordifferenzierungsgrade in keinem Fall signifikante Unterschiede.

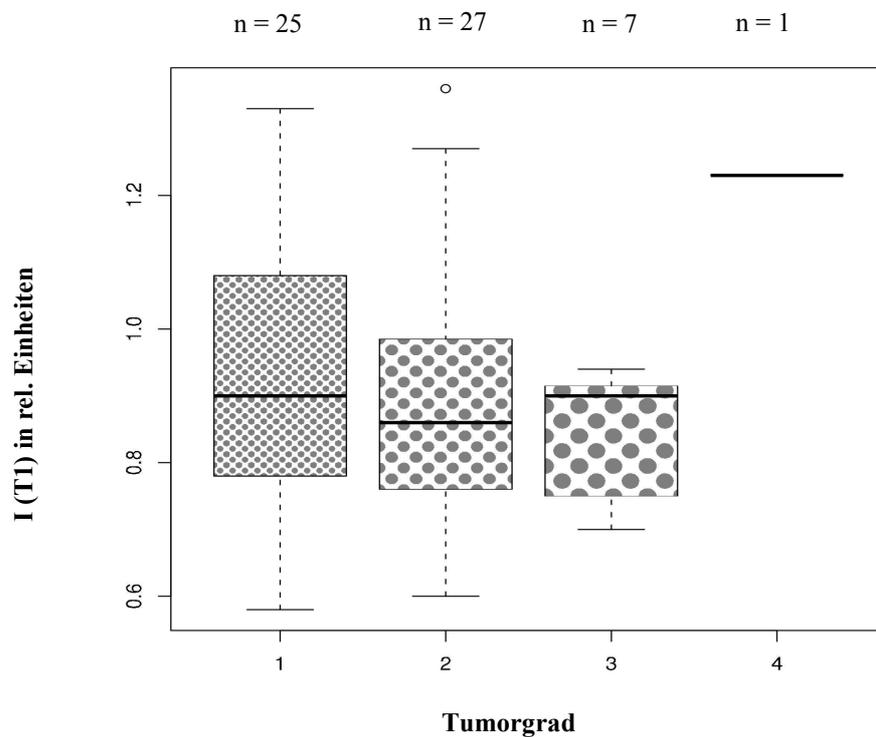


Abb. 28: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen T1-Wichtung über dem Tumorgrad

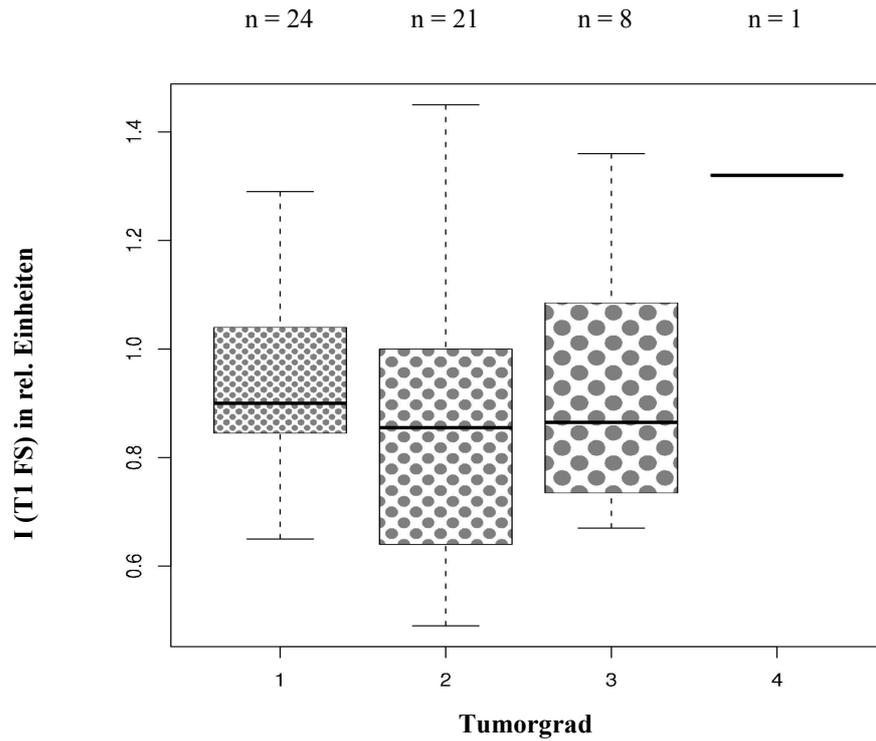


Abb. 29: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T1-Wichtung über dem Tumorgrad

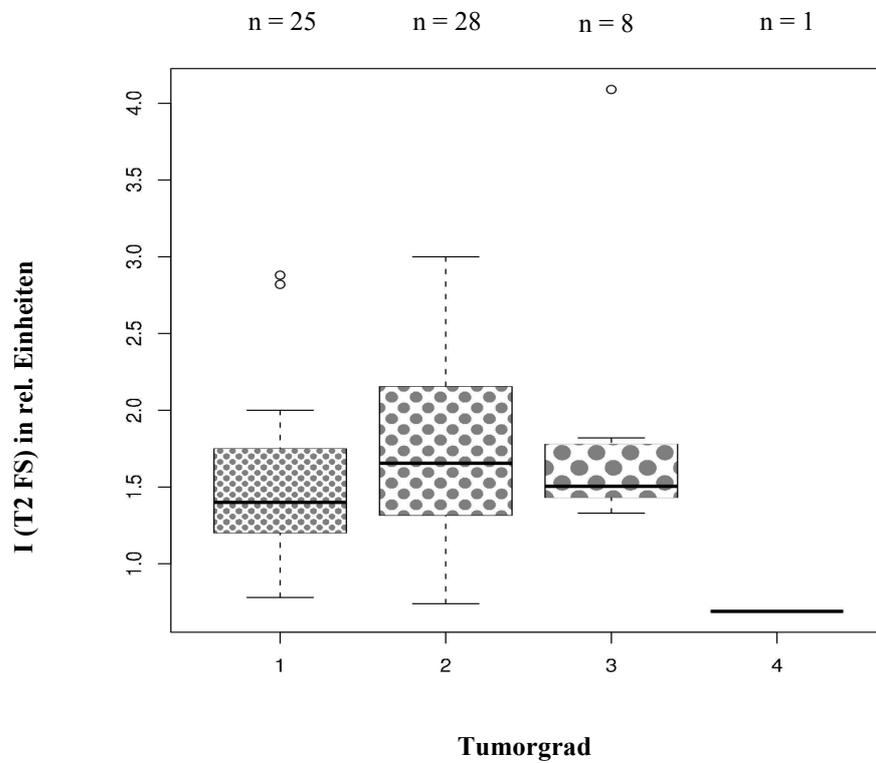


Abb. 30: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T2-Wichtung über dem Tumorgrad

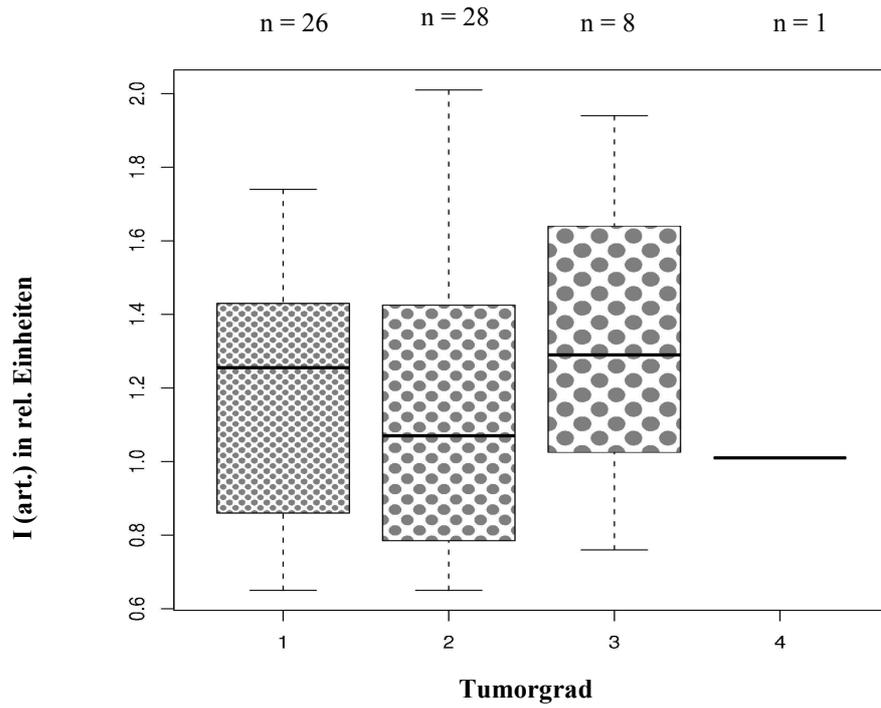


Abb. 31: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. art. Wichtung über dem Tumorgrad

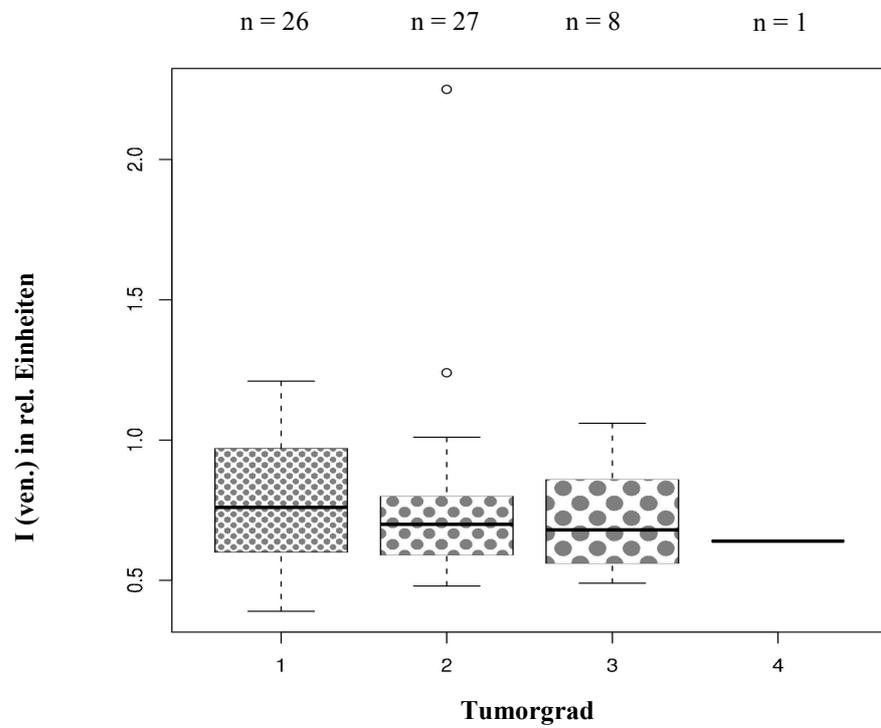


Abb. 32: Verteilung der normierten Signalintensitäten in dyn. ven. Wichtung über dem Tumorgrad

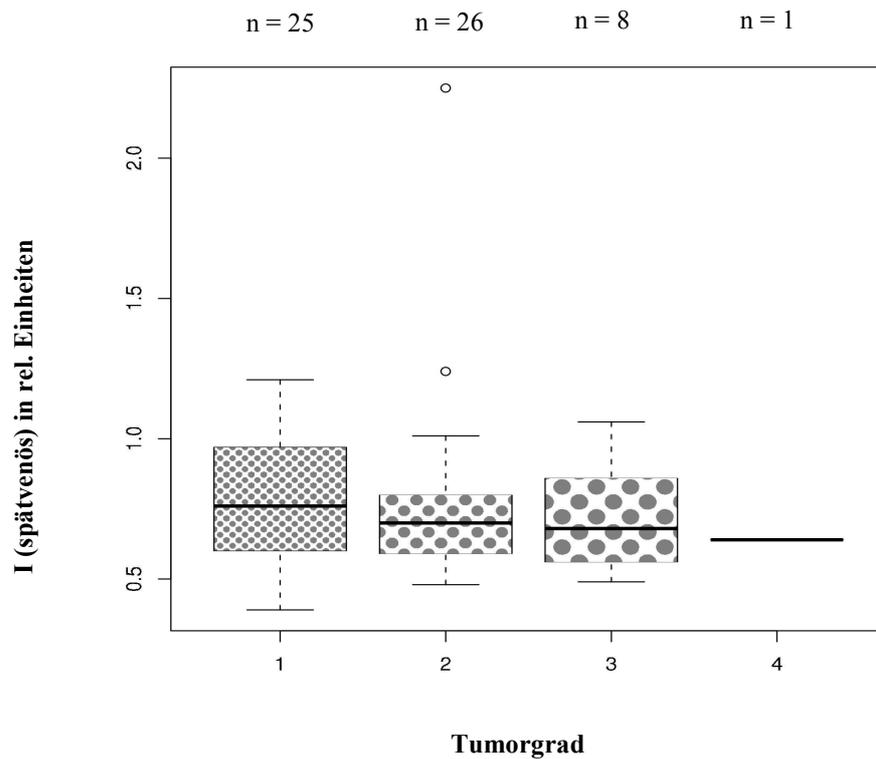


Abb. 33: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der T1-KM-Spät-Wichtung über dem Tumorgrad

Für jeden Parameter I (T1), I (T1 FS), I (T2 FS), I (art.), I (ven.), I (spätvenös) gibt es eine Grafik bezüglich der Größe der DNA-Indizes. Der Index wurde in drei Gruppen unterteilt:

Index < 1

Index zwischen 1,0-1,5

Index > 1,5

Die Gruppen wurden untereinander mit dem Wilcoxon-Test verglichen. Es ergaben sich für die normierten Signalintensitäten in den verschiedenen DNA-Index-Gruppen in keinem Fall signifikante Unterschiede

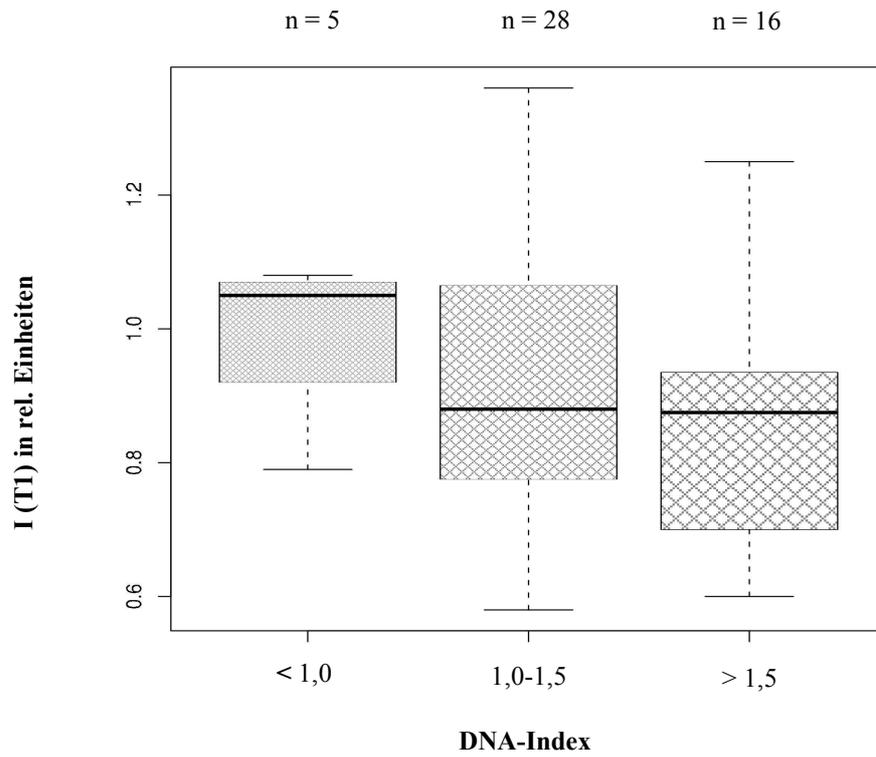


Abb. 34: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen T1-Wichtung über den DNA-Indexgruppen

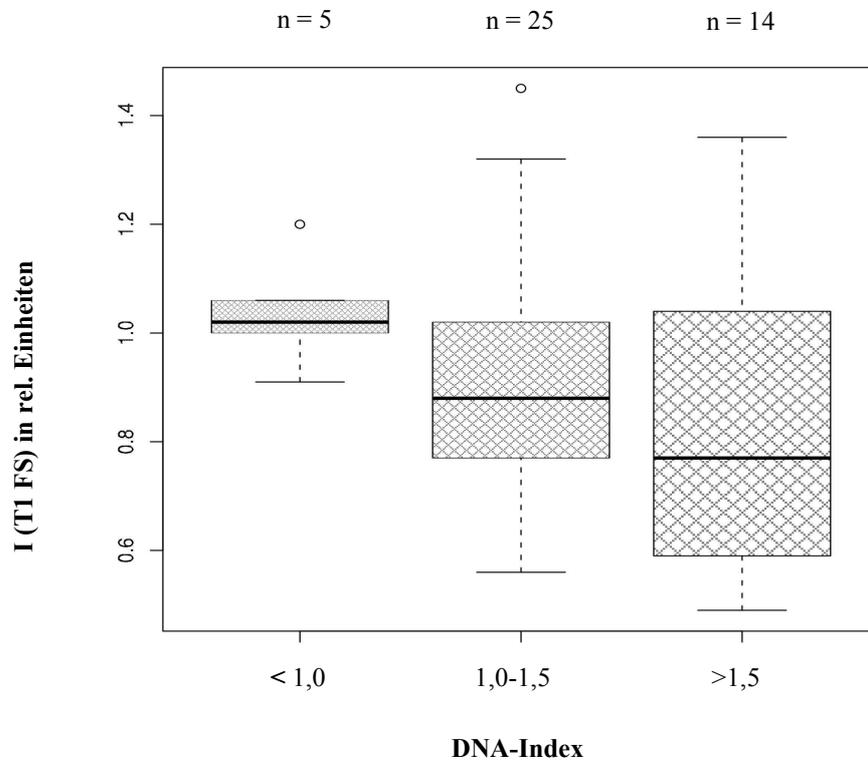


Abb. 35: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T1-Wichtung über den DNA-Indexgruppen

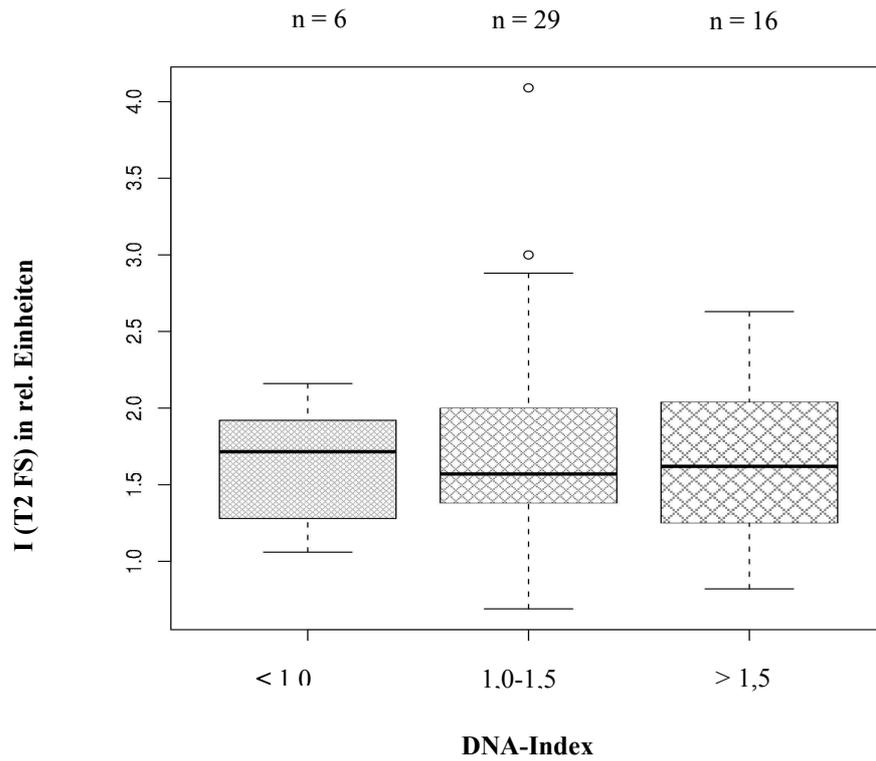


Abb. 36: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der nativen fettgesättigten T2-Wichtung über den DNA-Indexgruppen

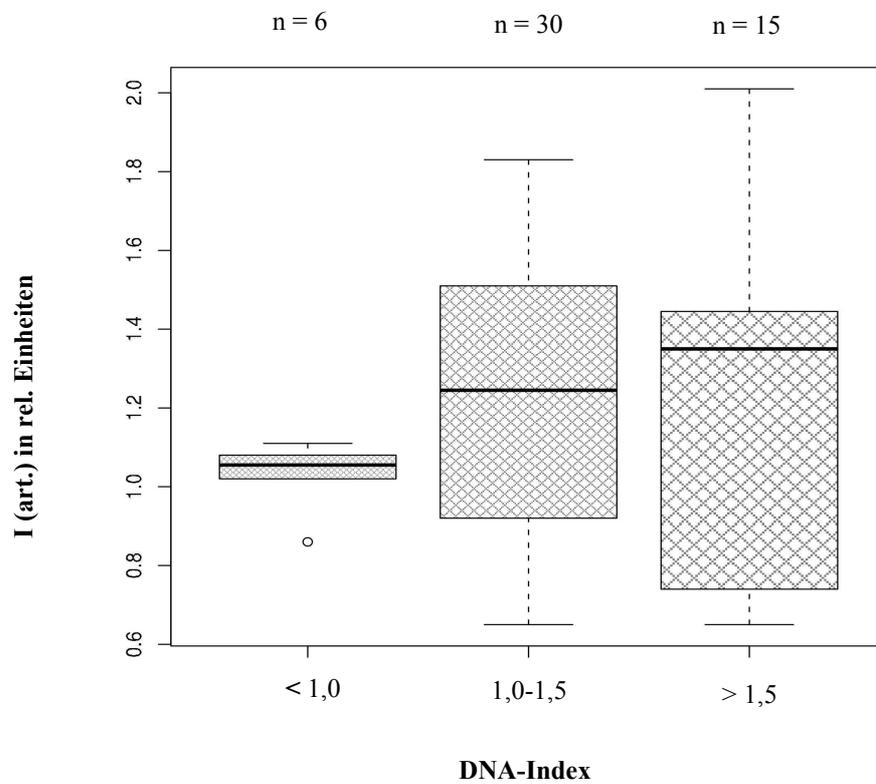


Abb. 37: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. art. Wichtung über den DNA-Indexgruppen

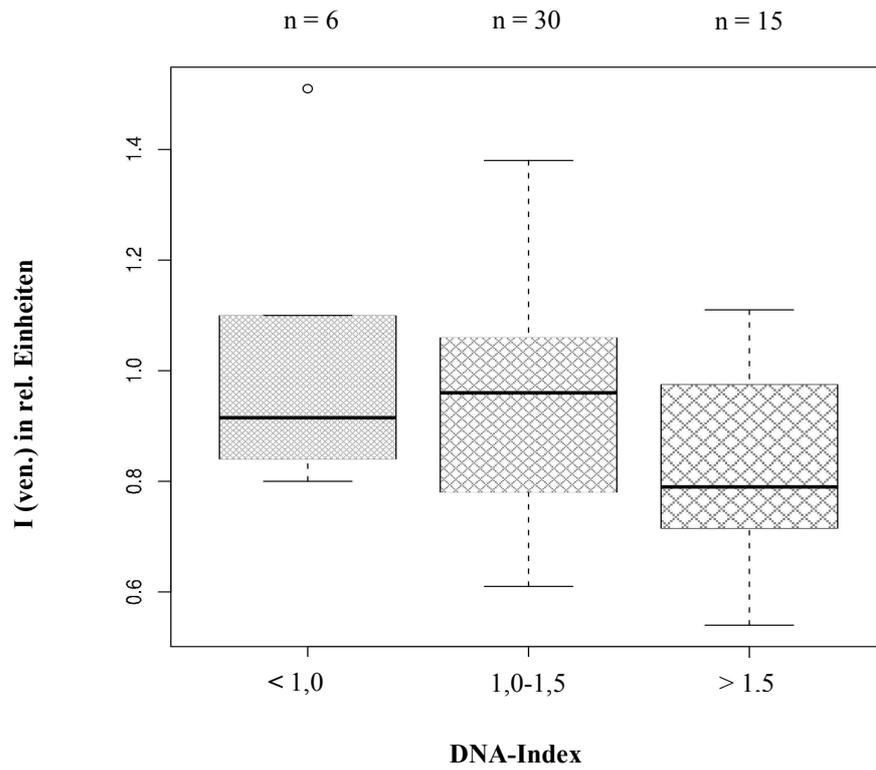


Abb. 38: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der dyn. ven. Wichtung über den DNA-Indexgruppen

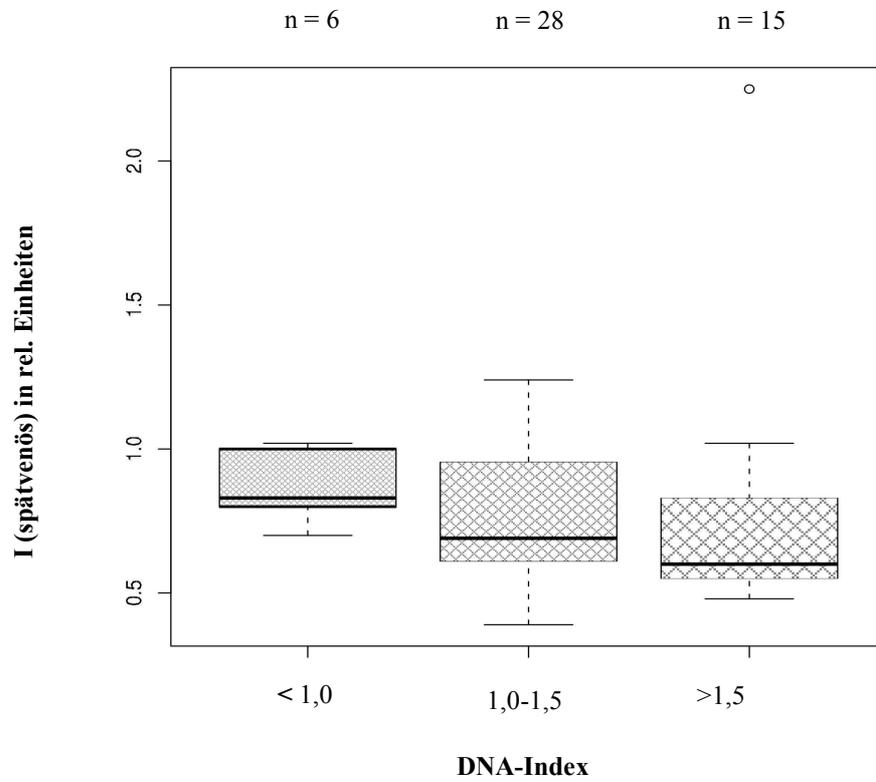


Abb. 39: Verteilung der normierten Signalintensitäten in der T1-KM-Spät-Wichtung über den DNA-Indexgruppen

Um mögliche Zusammenhänge zwischen den einzelnen Parametern zu ermitteln, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Die Tab. 14 gibt die qualitative Beurteilung von r (bei wenigstens 30 Wertepaaren) sowie die möglichen Interpretationen wieder. (86)

Betrag des Korrelationskoeffizienten	Mögliche Interpretation
$ r = 0$	keine Korrelation
$0 < r \leq 0,2$	sehr schwache Korrelation
$0,2 < r \leq 0,4$	schwache Korrelation
$0,4 < r \leq 0,6$	mittlere Korrelation
$0,6 < r \leq 0,8$	starke Korrelation
$0,8 < r < 1,0$	sehr starke Korrelation
$ r = 1,0$	perfekte Korrelation

Tab. 14: Betrag von Korrelationskoeffizient und mögliche Interpretation

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse sind in der Tabelle 15 zusammengefasst.

Korrelationsparameter	Korrelation (r)
I (T1) vs. I (T1 FS)	0,66
I (T1) vs. I (T2 FS)	0,26
I (T1) vs. I (ven.)	0,28
I (T1) vs. I (spätvenös)	0,64
I (T1 FS) vs. I (ven.)	0,28
I (T1 FS) vs. I (spätvenös)	0,5
I (art) vs. I (ven.)	0,53
I (ven.) vs. I (spätvenös)	0,42

Tab. 15: Korrelationen der normierten Signalintensitäten aller Wichtungen

Um einen eventuellen Zusammenhang zwischen mehreren unabhängigen Parametern und einem abhängigen Parameter zu untersuchen, wurden Regressionsanalysen durchgeführt.

Diese Modelle werden nachfolgend tabellarisch mit ihren p-Werten und dem Bestimmtheitsmaß (r^2) aufgeführt.

Da der Tumorgrad drei Stufen (G1 bis G3) hat, musste eine nominale Regression ausgeführt werden. Diese ergab keine signifikanten Unterschiede in den einzelnen Gruppen, egal welche Gruppe dabei als Referenzgruppe eingesetzt wurde.

Model 1 (Methode Einschluss)

Abhängige Variable	Unabhängige Variable	p-Wert
DNA-Index	I (art.)	0,01
	I (ven.)	0,06
	Alter (adj.)	0,20
	Geschlecht	0,66
	Ursache	0,27
	DNA	0,89
Ergebnis	$r^2 = 0,225$	

Tab. 16: Regressionsanalyse-Modell 1 (Methode Einschluss)

Model 2 (Methode Einschluss)

Abhängige Variable	Unabhängige Variable	p-Wert
DNA-Index	I (T1)	0,71
	I (T1 FS)	0,91
	I (T2 FS)	0,68
	I (art.)	0,01
	I (ven.)	0,09
	I (spätvenös)	0,4
	Alter (adj.)	0,30
	Geschlecht	0,78
Ergebnis	$r^2 = 0,3$	

Tab. 17: Regressionsanalyse-Modell 2 (Methode Einschluss)

Model 3 (Methode Einschluss)

Abhängige Variable	Unabhängige Variable	p-Wert
DNA-Index	I (art.)	0,004
	I (ven.)	0,015
Ergebnis	$r^2 = 0,18$	

Tab. 18: Regressionsanalyse-Modell 3 (Methode Einschluss)

Modell 4 (Methode Schrittweise)

Modell	Abhängige Variable	Unabhängige bzw. Einflussvariable	r ²	p-Wert
1	DNA-Index	I (art.)	0,12	0,035
2	DNA-Index	I (art.) I (ven.)	0,23	0,004 0,035

Tab. 19: Regressionsanalyse-Modell 4 (Methode Schrittweise)

Aus der Gleichung entfernt wurden vom Algorithmus: I (T1), I (T1 FS), I (T2 FS), I (art.), I (ven.), I (spätvenös), Ursache, Geschlecht, Alter und DNA.

Das Modell 2 muss als das beste Modell angesehen werden. Es erreicht eine erklärte Varianz von 30 % und enthält als einzigen signifikanten Parameter I (art.).

Das Modell 4 mit zwei Schritten erkennt für die Variablen I (art.) und I (ven.) einen signifikanten Einfluss und erreicht ein Bestimmtheitsmaß von 23 %, was als noch akzeptabel gewertet werden kann.

Um signifikante Unterschiede zwischen den Patientengruppen (DNA-Ploidiegrad, Tumorgrad und Zirrhoseursache) herauszufinden, wurden im Weiteren die Parameter Asymmetriekoeffizienten AC₁ (arteriell/venös) und AC₂ (nativ/spätvenös) untersucht. Die statistische Analyse erfolgte mit dem Wilcoxon-Test. Die Ergebnisse sind in der Tab. 20 zusammengefasst.

Es ergaben sich nur für den DNA-Ploidiegrad folgende Signifikanzen:

AC₁ (1 vs. 3) P = 0,05; AC₁ (2 vs. 3) P = 0,03.

Wilcoxon-Test

Getestete Parameter	DNA-Ploidie	Grading	Zirrhoseursache
AC ₁	k. S. 1 vs. 2 S. 1 vs. 3 (P = 0,05) S. 2 vs. 3 (P = 0,03)	k. S.	k. S.
AC ₂	k. S.	k. S.	k. S.

Tab. 20: Asymmetriekoeffizienten AC₁ und AC₂ vs. DNA-Ploidie, Tumorgrad und Zirrhoseursache

In den Abbildungen 40 bis 45 sind die Asymmetriekoeffizienten AC_1 und AC_2 vs. DNA-Ploidie, Tumorgrad und Zirrhoseursache graphisch dargestellt.

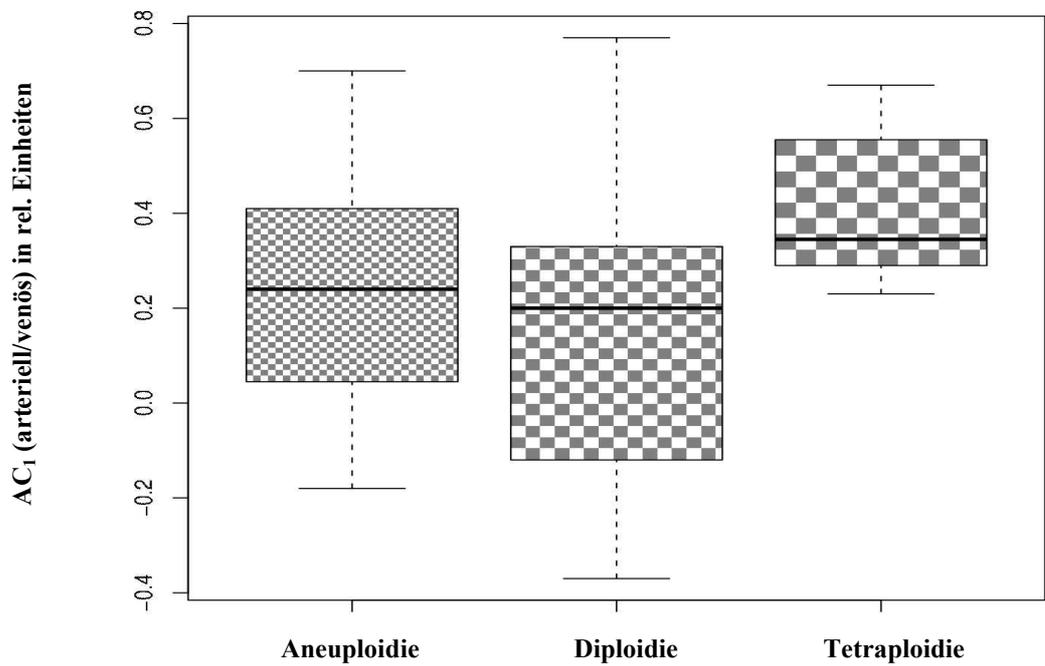


Abb. 40: Der arteriell/venöse Asymmetriekoeffizient AC_1 , berechnet nach Gleichung 2, wurde gegen den DNA-Ploidiegrad aufgetragen

Signifikant waren die Unterschiede zwischen den Gruppen 1 (Aneuploidie) gegen 3 (Tetraploidie) und 2 (Diploidie) gegen 3 (Tetraploidie).

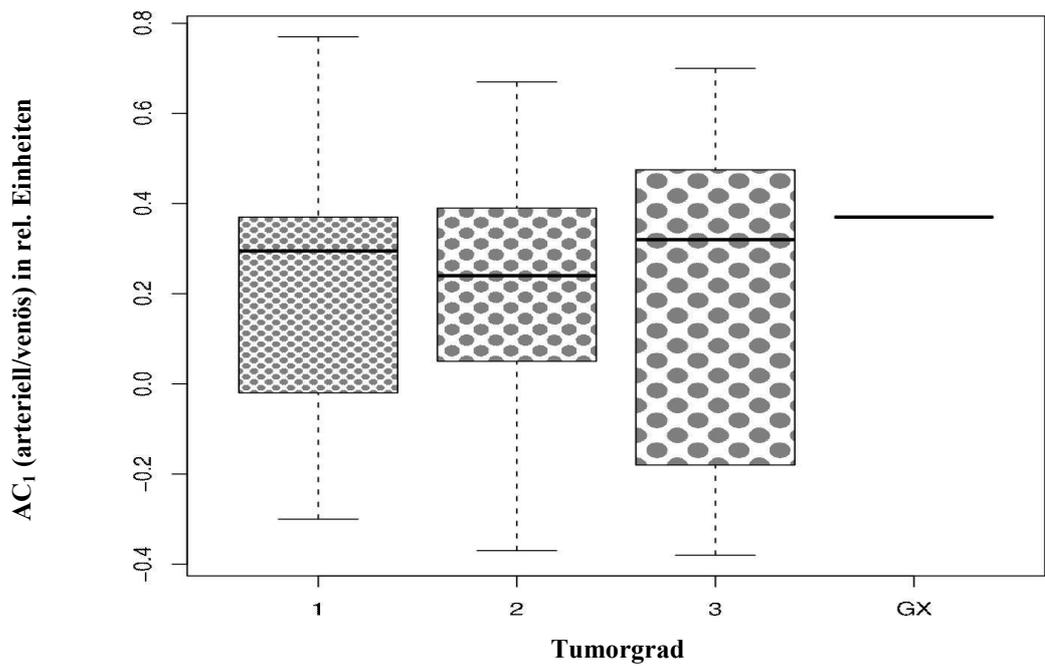


Abb. 41: Der arteriell/venöse Asymmetriekoeffizient AC_1 , berechnet nach Gleichung 2, wurde gegen den Tumorgrad aufgetragen

Es gab keine signifikanten Unterschiede.

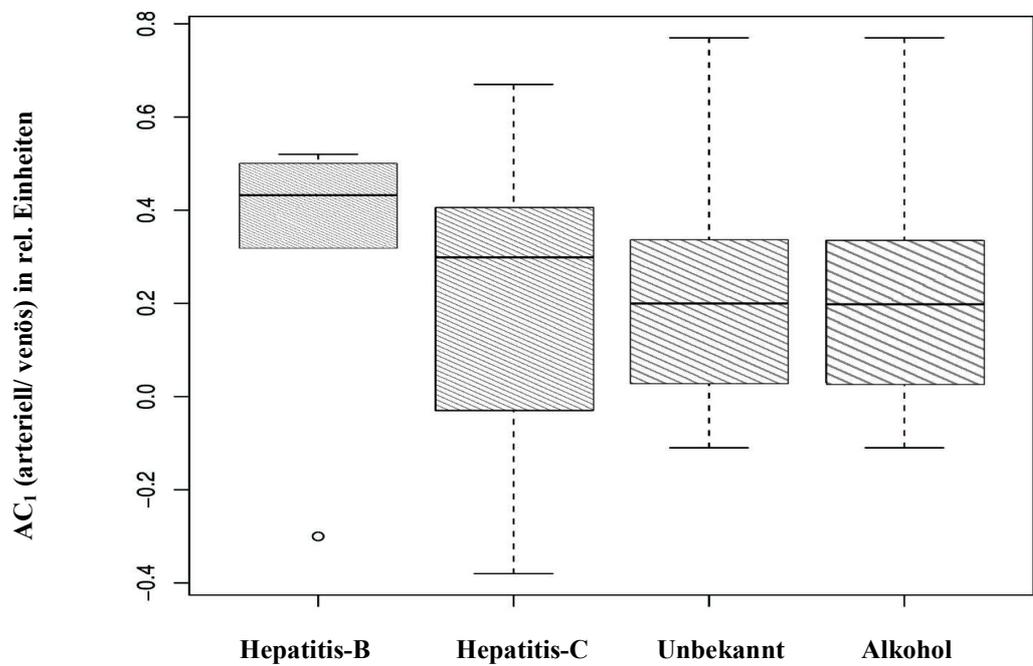


Abb. 42: Der arteriell/venöse Asymmetriekoeffizient AC_1 , berechnet nach Gleichung 2, wurde gegen die Zirrhoseursache aufgetragen

Es gab keine signifikanten Unterschiede.

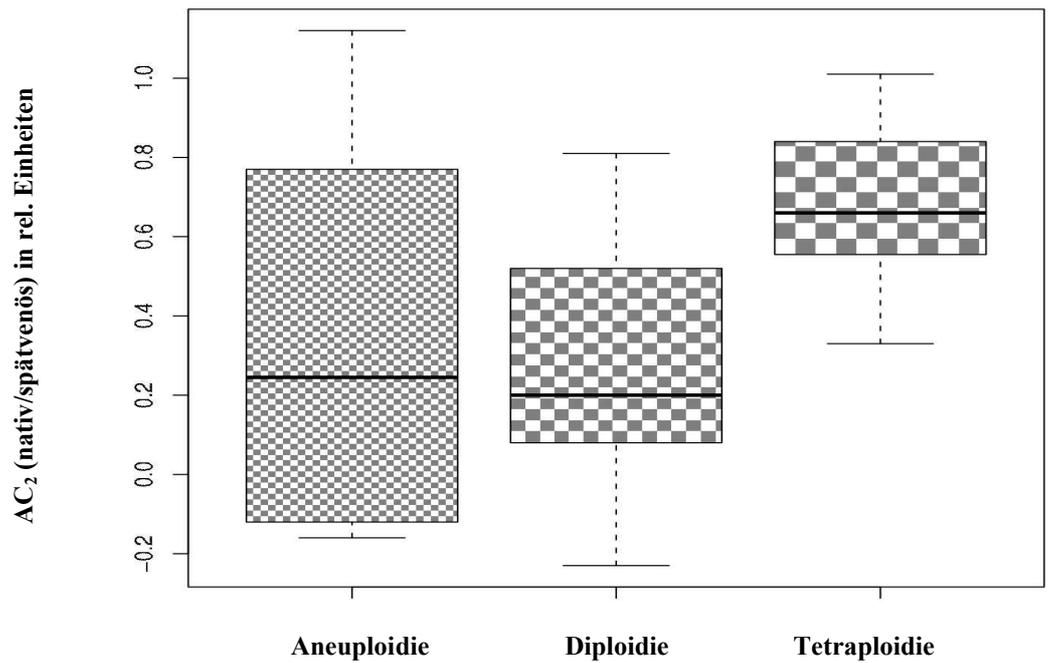


Abb. 43: Der nativ/spätvenöse Asymmetriekoeffizient AC_2 , berechnet nach Gleichung 3, wurde gegen den DNA Ploidiegrad aufgetragen

Es gab keine signifikanten Unterschiede.

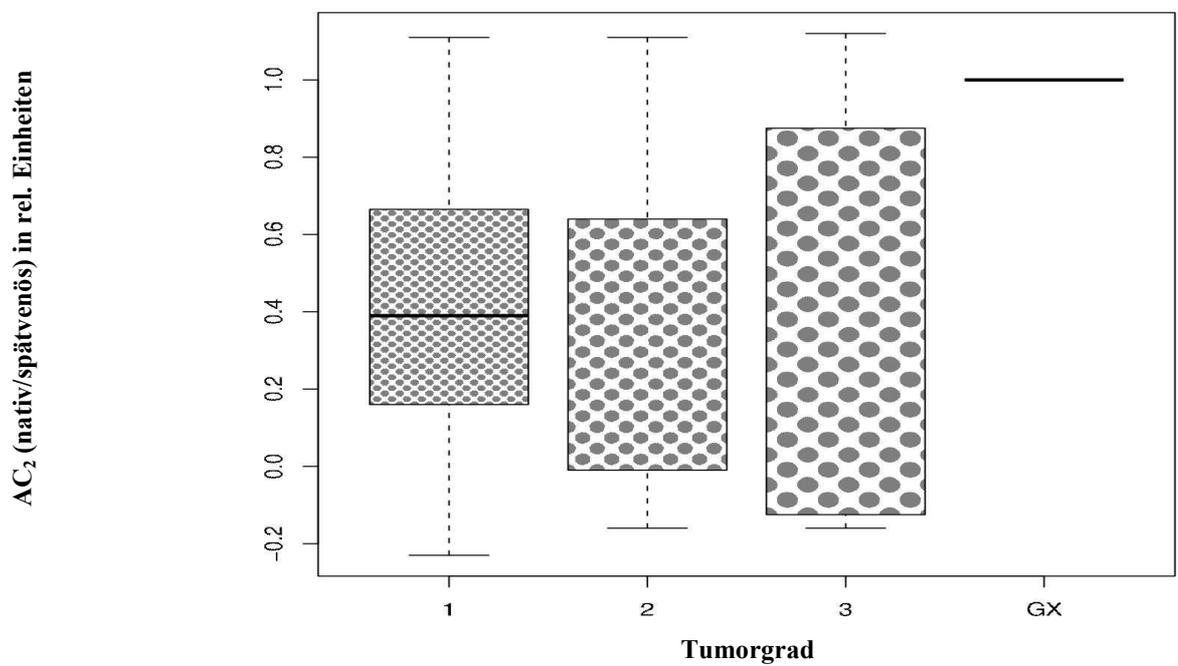


Abb. 44: Der nativ/spätvenöse Asymmetriekoeffizient AC_2 , berechnet nach Gleichung 3, wurde gegen den Tumorgrad aufgetragen

Es gab keine signifikanten Unterschiede.

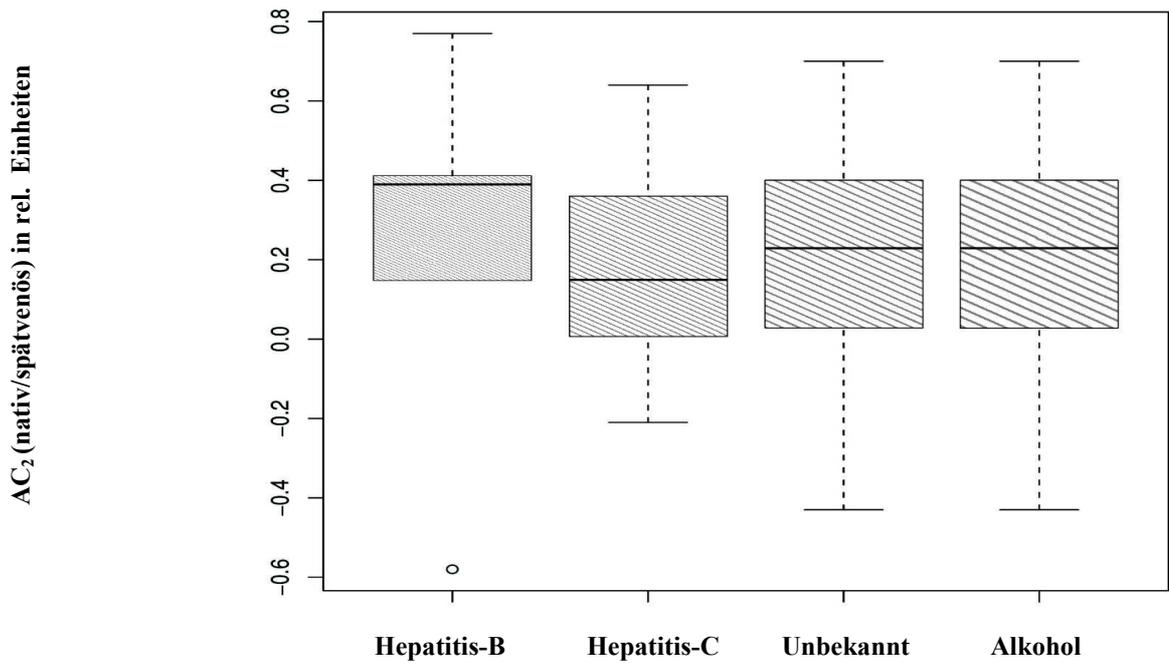


Abb. 45: Der nativ/spätvenöse Asymmetriekoeffizient AC_2 , berechnet nach Gleichung 3, wurde gegen die Zirrhoseursache aufgetragen

Es gab keine signifikanten Unterschiede.

In den Abb. 46 bis 51 wurden die Korrelationen der normierten Signalintensitäten aller Wichtungen als Verteilung in Abhängigkeit vom DNA-Index dargestellt.

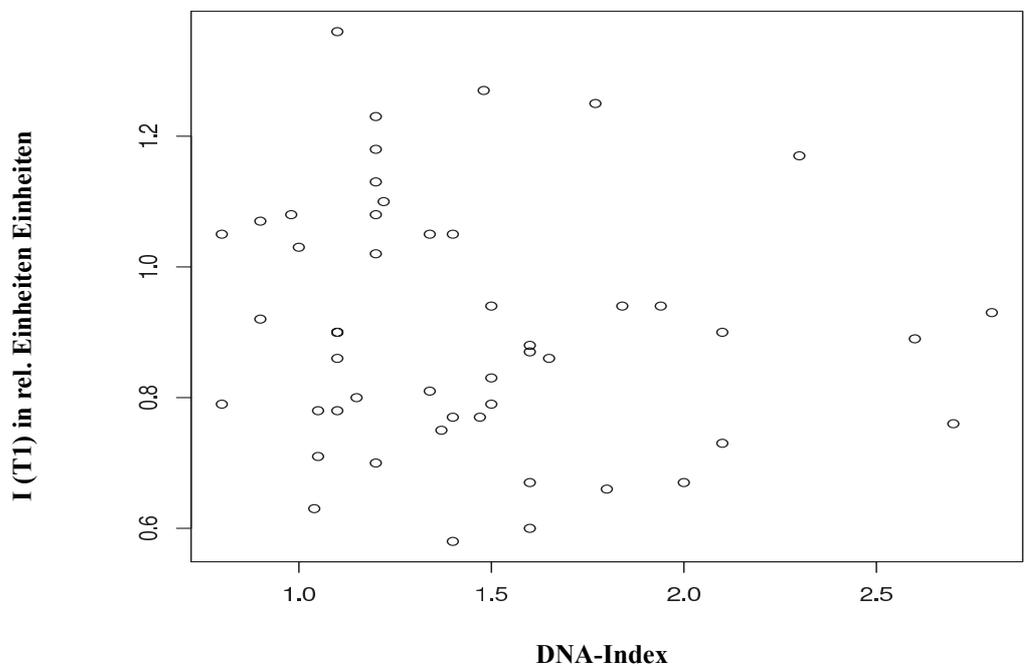


Abb. 46: Verteilung der normierten SI-I (T1) in Abhängigkeit vom DNA-Index

Es gab keine signifikanten Korrelationen.

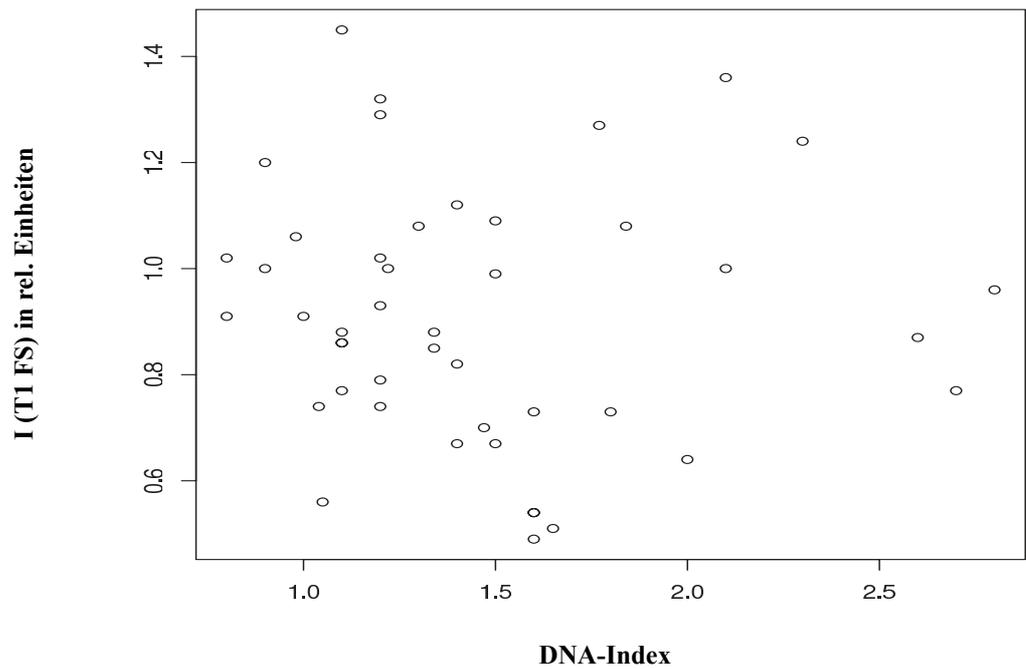


Abb. 47: Verteilung der normierten SI-I (T1 FS) in Abhängigkeit vom DNA-Index

Es gab keine signifikanten Korrelationen.

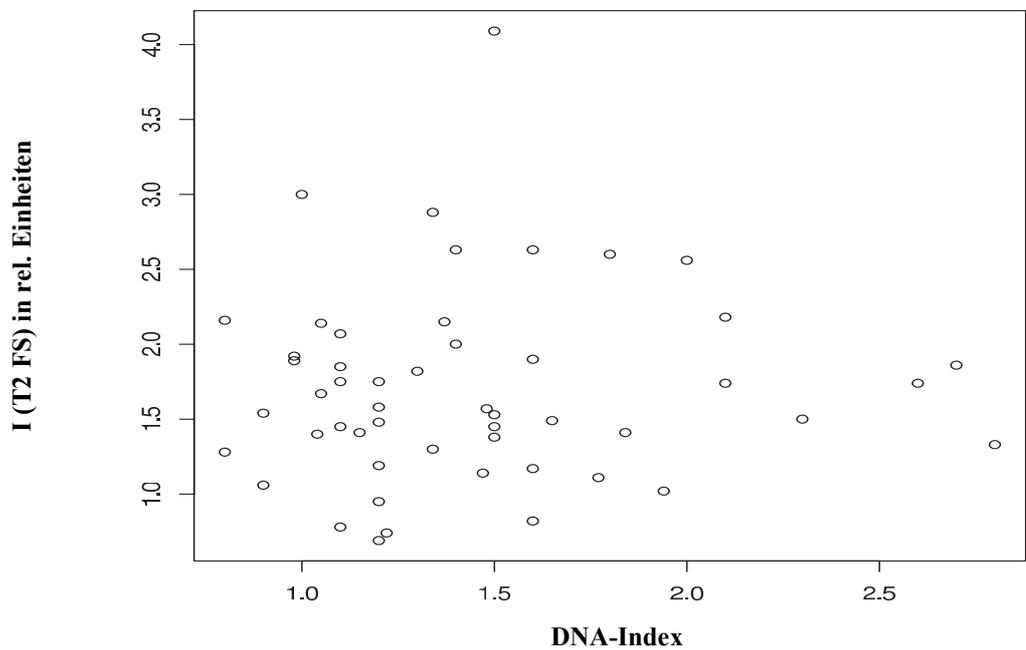


Abb. 48: Verteilung der normierten SI-I (T2 FS) in Abhängigkeit vom DNA-Index.

Es gab keine signifikanten Korrelationen.

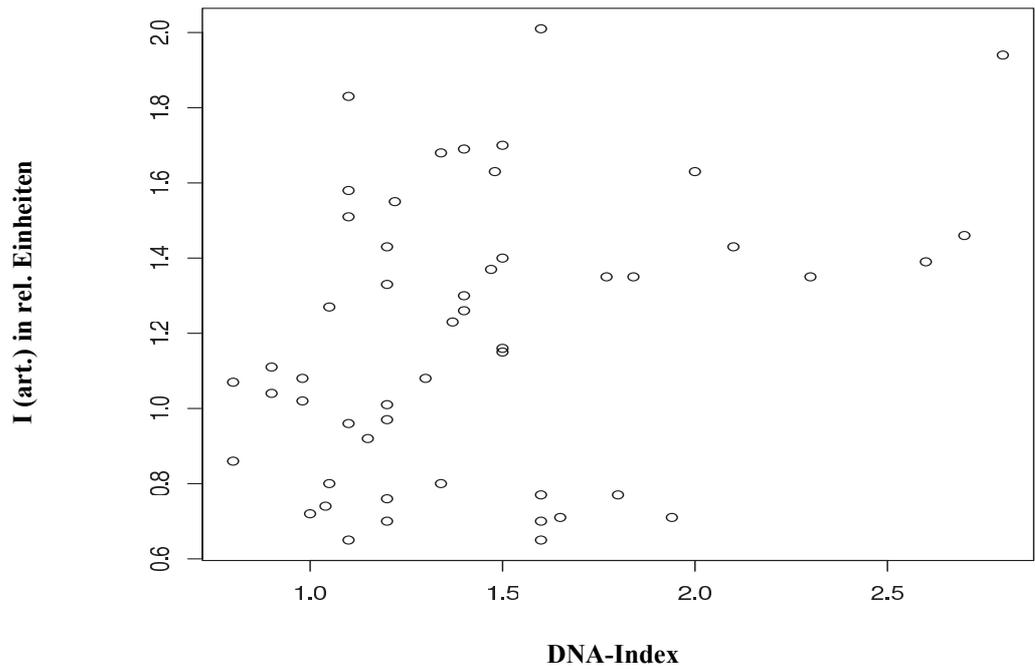


Abb. 49: Verteilung der normierten SI-I (art.) in Abhängigkeit vom DNA-Index.

Es besteht bei zunehmendem DNA-Index eine Tendenz zu höheren normierten SI-I (art.).

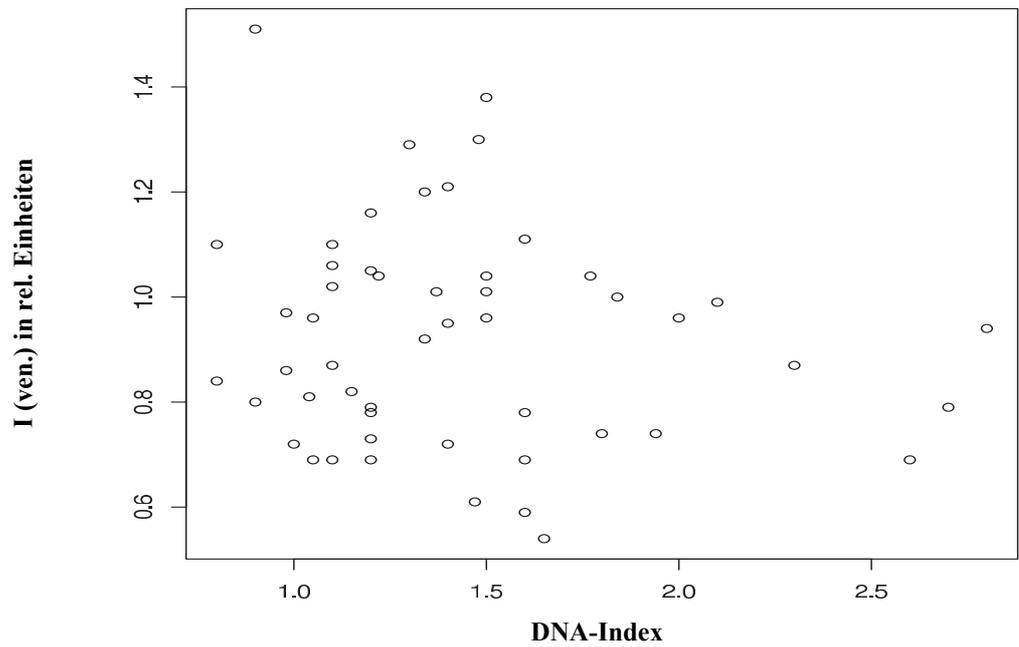


Abb. 50: Verteilung der normierten SI-I (ven.) in Abhängigkeit vom DNA-Index

Es besteht mit abnehmendem DNA-Index eine Tendenz zu geringeren normierten SI-I (ven.).

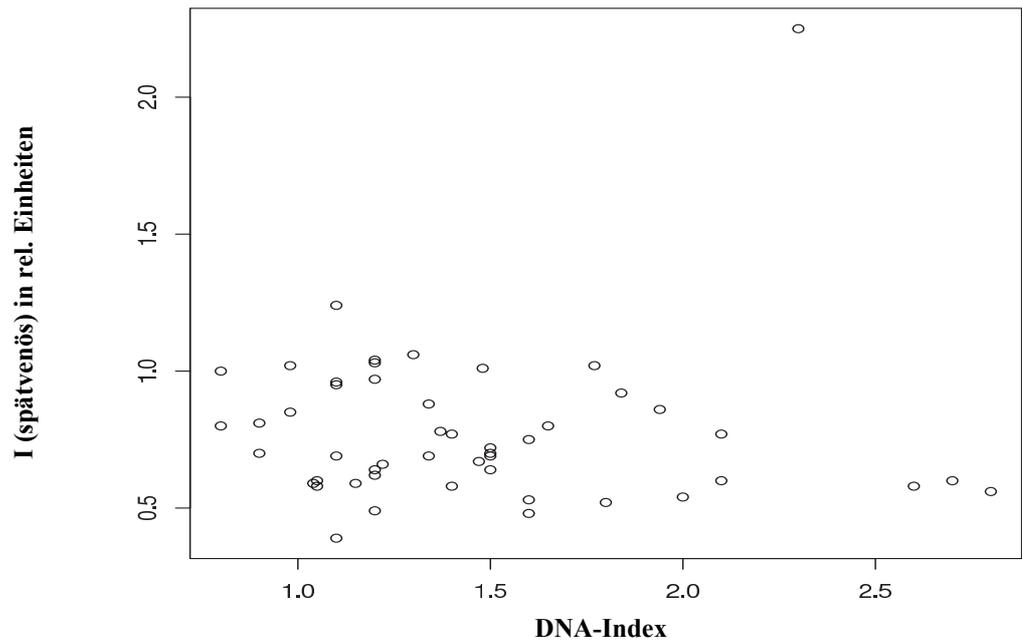


Abb. 51: Verteilung der normierten SI-I (spätvenös.) in Abhängigkeit von DNA-Index

Man erkennt bei kleineren DNA-Indices eine Tendenz zu einer breiteren Verteilung der normierten SI-I (spätvenös), wohingegen sich diese mit zunehmendem DNA-Index schmaler verteilt und die normierte SI-I (spätvenös) abnimmt.

Die Korrelationsanalyse, zusammengefasst in Tab. 21, wurde mit dem Spearman-Rho (nicht linear)- sowie dem Pearson- (linear)-Test durchgeführt. Es fanden sich für beide Tests signifikante Korrelationen für den AC_1 vs. DNA-Index (DI).

Parameter	P (Pearson)	P (Spearman)
AC_1 vs. DNA-Index	0,00089	0,0082
AC_2 vs. DNA-Index	0,67	0,40

Tab. 21: Korrelationsanalyse nach Spearman und Pearson für die Asymmetriekoeffizienten AC_1 und AC_2 vs. DNA-Index

Die Abb. 52 und 53 geben graphisch den Zusammenhang zwischen den Asymmetriekoeffizienten AC_1 und AC_2 sowie dem DNA-Index wieder.

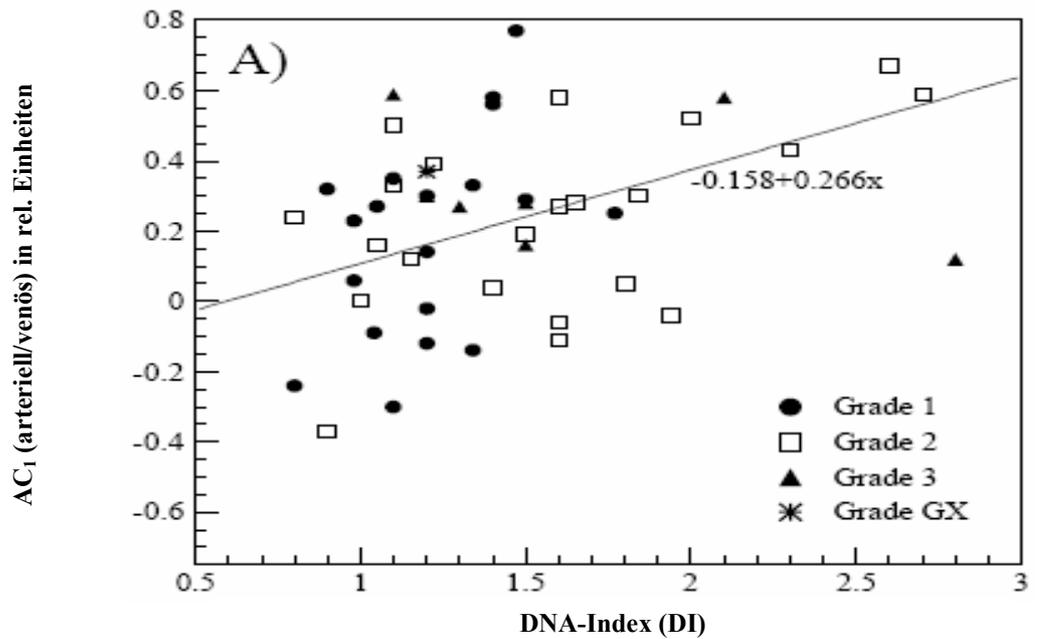


Abb. 52: Der Asymmetriekoeffizient AC_1 (arteriell/venös) wurde gegen den DNA-Index aufgetragen

Je nach Tumorgrad wurden unterschiedliche Symbole verwendet: schwarz gefüllter Kreis – Grad 1; weißes Quadrat – Grad 2; schwarz gefülltes Dreieck – Grad 3; Stern – Grad X. Die durchgezogene Linie beschreibt die lineare Anpassung der Korrelation zwischen den beiden Parametern. Das Ergebnis der linearen Kurvenanpassung wird durch die Gleichung $AC_1 = -0,158 + 0,266 \cdot \text{DNA-Index}$ beschrieben.

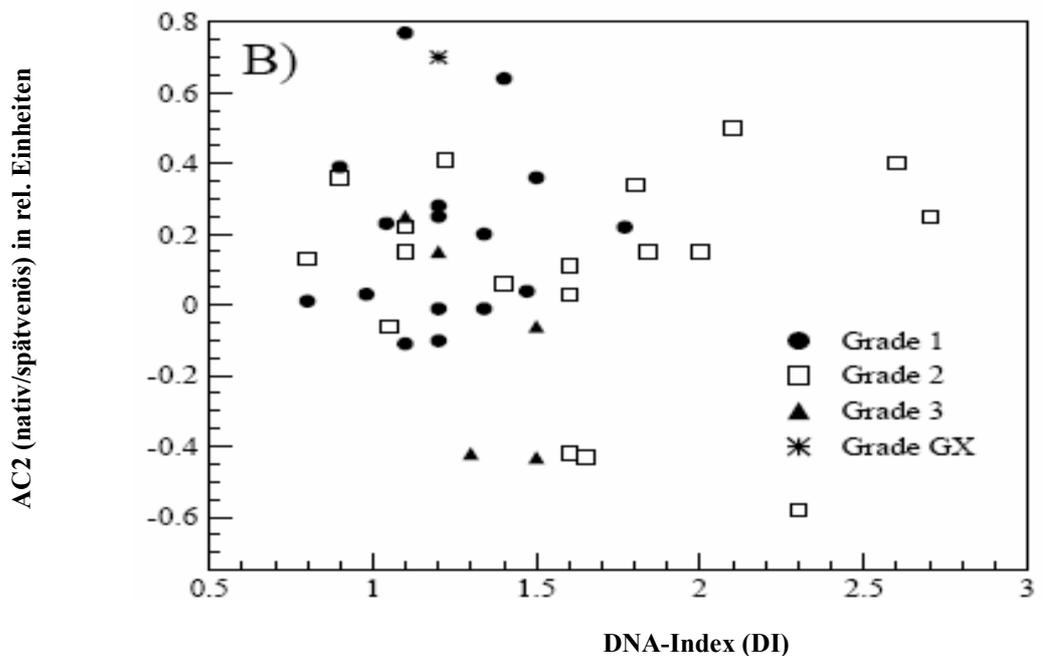


Abb. 53: Der Asymmetriekoeffizient AC_2 (nativ/spätvenös) wurde gegen den DNA-Index aufgetragen

Je nach Tumorgrad wurden unterschiedliche Symbole verwendet: schwarz gefüllter Kreis – Grad 1; weißes Quadrat – Grad 2; schwarz gefülltes Dreieck – Grad 3; Stern – Grad X.
Es wurde keine Korrelation zwischen den beiden Parametern gefunden.

8 Diskussion

Das HCC ist klinisch ein hochmaligner Tumor mit rasanter Progredienz und limitierten therapeutischen Möglichkeiten. (14) Viele Malignome haben in den letzten Jahrzehnten an Häufigkeit zugenommen. Dieser Trend gilt auch für das HCC. (14, 15)

Neue Studien zeigen eine weitere Zunahme der Erkrankungshäufigkeit auch in den Industrienationen wofür v. a. die zunehmende Verbreitung von Hepatitis-C-Virus-Infektionen verantwortlich gemacht wird. (31)

Die Diagnose eines HCC kann entsprechend den EASL-Kriterien gestellt werden – auch beim Vorliegen normaler Leberwerte –, wenn ein Tumorknoten in zwei bildgebenden Verfahren (Ultraschall, CT, MRT) dargestellt und insbesondere wenn in einer Leberzirrhose eine Kontrastmittel-Verstärkung mittels Spiral-CT oder dynamischer KM-unterstützter MRT nachgewiesen wird. (43) Ein AFP-Spiegel > 400 ng/ml sowie der Tumornachweis in zwei bildgebenden Verfahren bedeutet ebenfalls eine sehr hohe diagnostische Wahrscheinlichkeit. Die Anwendung dieser Kriterien führt zu einer diagnostischen Sicherheit von 99,6 % ohne Biopsie. (61) Daher sollte auf eine präoperative biopsische Histologiegewinnung generell verzichtet werden.

Es wäre wünschenswert, wenn in diesem Zusammenhang die Bildgebung neben den Informationen über die Lokalisation, Größe und eine mögliche Gefäßinfiltrationen des Tumors auch Anhaltspunkte über dessen Differenzierungs- bzw. Malignitätsgrad geben könnte.

Im Rahmen einer präzisen Diagnostik zur genauen Differenzierung und Charakterisierung einer Leberläsion für eine optimale Behandlungsstrategie kann neben der Bildgebung auch der DNA-Zytometrie eine therapiebestimmende Rolle zukommen.

Es wurde vermutet, dass mit der MRT unter Einsatz des hepatozytenspezifischen Kontrastmittels Primovist® eine verbesserte Charakterisierung des HCC in Zirrhose bezüglich des histopathologischen sowie des Malignitätsgradings möglich sein könnte.

In dieser retrospektiven Studie war es das Ziel, herauszufinden, ob es zwischen den normierten Signalintensitäten (I) der einzelnen kernspintomographischen Untersuchungssequenzen (Wichtungen) – insbesondere der dynamischen Untersuchung, d. h. nach der Kontrastmittelapplikation bzw. der Spätphase – und der Tumordifferenzierung (Tumorgrading)

sowie den DNA-zytometrischen Untersuchungsergebnissen mit dem DNA-Ploidiegrad und dem DNA-Index (Malignitätsgrading) einen statistischen Zusammenhang gibt.

Bei der Initiierung der Arbeit erwarteten wir in Abhängigkeit von Tumorgrad, DNA-Ploidie und DNA-Index eine differente MR-Bildgebung der HCC, insbesondere nach Gabe des leberspezifischen Kontrastmittel sowohl in der dynamischen als auch in der spätvenösen Phase, d. h. 20 Minuten nach Kontrastmittel-Gabe.

Diese Erwartung lag darin begründet, dass gut differenzierte bzw. niedriggradige HCC in der Lage wären, das leberspezifische Kontrastmittel vermehrt selektiv in die Zellen aufzunehmen bzw. zu speichern, und somit in der dynamischen wie auch möglicherweise in der Spätphase zu einer signalreicheren Bildgebung des Tumors führen. Von den höhergradig malignen oder geringer differenzierten HCC wurde das Gegenteil erwartet, also eine signalintensitätsgeminderte Bildgebung des Tumors in der dynamischen und in der spätvenösen Phase. Diese Annahme bezog sich neben der Tumordifferenzierung auch auf einen möglichen Zusammenhang von MR-Bildgebung und DNA-Ploidie sowie DNA-Index.

Der Grund für diese Vermutung war, dass die HCC mit abnehmender Differenzierung und zunehmender Malignität (Aggressivität), das bedeutet mit verminderter Anzahl funktionsfähiger Hepatozyten, nicht in der Lage wären, das Kontrastmittel auch hinreichend selektiv aufzunehmen, zu speichern und anschließend über das Gallenwegssystem auszuscheiden. Diese Ansicht hat sich aus Einzelbeobachtungen in der klinischen Routine entwickelt, wo die Bildgebung der Patienten mit einem HCC in Zirrhose mittels MRT mit hepatozytenspezifischem Kontrastmittel erfolgte und später mit der zugehörigen Histologie verglichen wurde.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen jedoch in eine andere Richtung.

Der DNA-Index als abhängiger Parameter erreicht eine erklärte Varianz von 30 % und enthält als einzigen signifikant korrelierten Parameter die normierte arterielle Signalintensität $I_{(art.)}$, siehe Kapitel 7, Modell 2.

Unter Vernachlässigung der hochgradig nichtsignifikanten Parameter wird mit dem Modell 4, Kapitel 7, für die normierte Signalintensität in der arteriellen bzw. venösen Phase ein tendenziell signifikanter Einfluss erkannt und ein Bestimmtheitsmaß von 23 % erreicht, was als noch akzeptabel gewertet werden kann.

Mit diesen beiden Modellen kann für das HCC in Zirrhose für die beiden Parameter I (art.) und I (ven.) eine Tendenz für einen signifikanten Einfluss der kontrastunterstützten dynamischen kernspintomographischen Bildgebung in der T1-Gewichtung mit hepatozytenspezifischem Kontrastmittel auf den DNA-Index vermutet werden.

Die Korrelationen der normierten Signalintensitäten der dynamischen (I art./I ven.) und auch der spätvenösen (I spätvenös) Phase – graphisch dargestellt als Verteilung in Abhängigkeit vom DNA-Index – geben den tendenziellen Zusammenhang dieser Parameter wieder.

Dabei zeigt sich für die arterielle Phase bei zunehmendem DNA-Index eine Tendenz zu höheren normierten SI-I (art), wobei für die venöse Phase mit abnehmenden DNA-Index eine Tendenz zu geringeren normierten SI-I (ven.) besteht.

In der spätvenösen Phase kann man bei kleineren DNA-Indices eine Tendenz zu einer breiteren Verteilung der normierten SI-I (spätvenös) erkennen, wohingegen sich diese mit zunehmendem DNA-Index schmaler verteilt und die normierte SI-I (spätvenös) abnimmt.

In der Korrelationsanalyse nach Spearman-Rho (nicht linear, $p = 0,0082$) sowie mit dem Pearson-Test (linear, $p = 0,00089$) konnten für beide Tests signifikante Korrelationen für den Asymmetriekoeffizienten AC_1 (arteriell/venös) vs. DNA-Index nachgewiesen werden, nicht jedoch für den Asymmetriekoeffizienten AC_2 (nativ/spätvenös).

Der Asymmetriekoeffizient AC_1 , der die Unterschiede zwischen den normierten Signalintensitäten der arteriellen und venösen Phase von Tumor und Restleber untersucht (Gleichung 2), korreliert signifikant mit dem DNA-Index. Das bedeutet, je größer der AC_1 , d. h., je ausgeprägter die Differenz der normierten SI-Werte des Tumors zwischen der arteriellen und venösen Phase in der dynamischen MR-Kontrastmittelbildgebung ist, umso größer ist der DNA-Index. Dieser spiegelt wiederum ein erhöhtes Malignitätspotential des Tumors wider.

Funktionell bedeutet dies, dass eine starke Arterialisierung des Tumors und ein schneller „wash-out“ desselben in der venösen Phase einem höheren DNA-Index entspricht. Umgekehrt gilt natürlich, dass ein niedriger AC_1 auch einem niedrigen DNA-Index entspricht, d. h. einem geringeren Malignitätsgrad.

Die Interpretation dieser Ergebnisse erfolgte folgendermaßen: Tumoren mit einem kleineren DNA-Index weisen vergleichend ein eher langsames Wachstum auf. Dieses spiegelt sich auch

in weniger gehäuften Mitosen und entsprechend weniger gehäuften S-Phasen wider. HCC mit einem größeren DNA-Index zeigen dagegen deutlich vermehrte Mitosen und dementsprechend vermehrte S-Phasen. Letztere Tumoren haben ein höheres Malignitätspotential und zeigen ein aggressiveres Verhalten mit einer größeren Wahrscheinlichkeit einer Invasion in das umgebende Lebergewebe und die dortigen Blut- bzw. Lymphgefäße. Das vermehrte Auftreten von Mitosen bzw. S-Phasen und folglich ein hoher Index könnten damit die erhöhte Angioinvasivität dieser Tumoren und ihre Potenz zur Satelliten- bzw. Metastasenbildung widerspiegeln. Tumoren mit einem hohen Malignitätspotential haben eine vergleichbar vermehrte Angiogeneese und folglich einen größeren Anteil von arteriellen und venösen Gefäßen. Das würde wiederum erklären, dass diese Tumoren ein stärker ausgeprägtes arterielles sowie ein schwächeres venöses Enhancement als Tumoren mit einem geringeren DNA-Index aufweisen. Aufgrund der im Zusammenhang mit dem Tumorwachstum einhergehenden vermehrten arteriellen wie auch venösen Gefäßneubildung erscheint dieses von uns nachgewiesene Phänomen dadurch erklärbar, dass das Kontrastmittel schneller und stärker anflutet, aber auch entsprechend schneller und stärker abfließt („wash-out“). Insofern könnten diese Ergebnisse der mit der kernspintomographischen Bildgebung erfassten Aufnahme von hepatozytenspezifischem Kontrastmittel des HCC in der dynamischen Phase und dem DNA-Index eine interessante Erweiterung der bildgebenden Information der präoperativen MRT über die Milankriterien hinaus, also der Größe und Anzahl der HCC-Läsionen, darstellen.

Die zusätzliche Information der Kontrastmittelaufnahme in der arteriellen Phase als auch des venösen „wash-out“ geben somit Informationen über den DNA-Index und damit über den Malignitätsgrad des jeweiligen Tumors.

Die initiale Annahme, dass mit der MRT unter Einsatz von Primovist® auch eine verbesserte Charakterisierung des HCC in Zirrhose bezüglich seines histopathologischen Tumorgradings möglich sein könnte, bestätigte sich anhand unserer Ergebnisse dagegen nicht.

Unsere Untersuchungen (nominale Regression sowie der Wilcoxon-Test für die Asymmetriekoeffizienten AC_1 und AC_2) konnten für die normierten Signalintensitäten und den Tumorgrad für die Dynamik als auch für die Spätphase nach Kontrastmittel-Gabe keinen statistisch signifikanten Zusammenhang in der MR-Bildgebung unter Einsatz von Primovist® zeigen und somit diesen Teil der Hypothese nicht beweisen. Die histologische Begutachtung maligner Lebertumoren bereitet auch heute noch häufig Schwierigkeiten v. a. infolge des

Mangels eines eindeutigen reproduzierbaren Gradingystems. Die HCC stellen häufig eine heterogene Gruppe von Tumoren dar, die eine Überlappung der einzelnen histologischen Typen (Mischformen) aufweisen. Die Tumoren zeigen darüber hinaus in ihrem klinischen Verlauf und biologischen Verhalten fließende Übergänge.

Betrachtet man die Indexmittelwerte bezogen auf den Tumordifferenzierungsgrad, so zeigt sich ein tendenzieller Zusammenhang dieser beiden Parameter.

Für die Grad-1-Tumoren betrug der Mittelwert für den DNA-Index 1,2, für die Grad-2-Tumoren 1,57 und für die schlecht differenzierten HCC (G3) 1,64. Möglicherweise spiegeln die chromosomalen Veränderungen, abgebildet durch den DNA-Index, das biologische Verhalten, d.h. den Malignitätsgrad und die Aggressivität dieser Tumoren einschließlich ihrer Angioinvasivität, eher und präziser wider als der pathohistologische Differenzierungsgrad. Dieses wiederum kann mit der Bestimmung des Asymmetriekoeffizienten AC_1 im Rahmen der MRT mit Kontrastmittel (Primovist®) sehr gut erfasst werden.

Bezüglich der DNA-Ploidie fanden sich mit dem Wilcoxon-Test für den getesteten Parameter Asymmetriekoeffizient AC_1 (arteriell-venös) signifikante Unterschiede zwischen Aneuploidie vs. Tetraploidie ($P = 0,05$) und Diploidie vs. Tetraploidie ($P = 0,03$). Dieses Ergebnis ist gut erklärbar, da die aneuploiden Tumoren deutlich stoffwechselaktiver sind als die tetraploiden. Aufgrund des höheren Stoffwechsels und der erhöhten Proliferation kommt es zu einer vermehrten Angiogenese, so dass der entsprechende Asymmetriekoeffizient erklärbar ist. Dieses gilt entsprechend auch für die Signifikanz Diploidie vs. Tetraploidie.

Eine genauere Beurteilung des Malignitätspotentials und damit eine objektive Voraussage der Prognose der Tumoren könnte über die individuelle Morphologie und das histopathologische Tumorgrading hinaus neben der Zytophotometrie der Tumorzellen auch mit der präoperativen MR-Bildgebung mit Kontrastmittel möglich sein. Dabei ist anzunehmen, dass dieses möglicherweise auch für andere, einschließlich nicht leberspezifischer hepatobiliäre Kontrastmittel gilt.

Es gibt zahlreiche Studien, die die bildgebende Detektion des HCC in Zirrhose untersucht haben. (2, 5, 9, 10, 50, 56, 57, 60, 62). Dabei scheint die dynamische MR-Bildgebung dem CT überlegen zu sein. (10, 12) So konnten Schneider et al. und Hentrich et al. die Bedeutung der

kontrastverstärkten dynamischen MRT mit dem hepatobiliärem Kontrastmittel MultiHance (Gd-BOPTA) für die Detektion und Differenzierung benigner und maligner Leberläsionen zeigen. (6, 7)

Hentrich et al. konnten beim HCC in Zirrhose mit der MRT unter Einsatz von MultiHance (Gd-BOPTA) nachweisen, dass die Spätaufnahmen mit der zellulären Differenzierung korrelieren. So nahmen mäßiggradig differenzierte HCC signifikant stärker Kontrastmittel auf als gering differenzierte HCC. Eine mögliche Verschlechterung der Nachweisbarkeit kann bei gut differenzierten HCC mit stärkeren fettigen Metaplasien auftreten. (6)

Horigome et al. haben die Bildgebung unter Einschluss der dynamischen MRT mit Magnevist® mit dem histopathologischen Tumordifferenzierungsgrad verglichen. Sie konnten zeigen, dass mit abnehmender Differenzierung und größerem Tumordurchmesser die Nachweisbarkeit verbessert wird. (8)

In zahlreichen Untersuchungen ist die Bedeutung der DNA-Zytometrie bei der Identifizierung obligater Präkanzerosen – insbesondere unter den epithelialen Dysplasien (Dignitätsdiagnose) – sowie bei der Gradierung der malignen Potenz verschiedener Tumoren (Malignitätsgrading) in der klinischen Praxis hervorgehoben worden. (17, 18, 19, 20, 21, 22, 28, 29, 73, 24, 26, 27, 29, 68, 72, 75)

Eine weitaus genauere Beurteilung des Malignitätspotentials und damit der Prognose des Tumors über die Morphologie hinaus ist dabei nur durch die DNA-Zytophotometrie an den Tumorzellen selbst möglich.

Zahlreiche klinische Studien haben beim HCC nach Resektion als auch Transplantation verschiedene Prognosefaktoren identifiziert.

Prognostische Parameter nach Resektion bei Patienten mit einem HCC sind neben dem TNM-Stadium die Diagnose im Rahmen einer Vorsorgeuntersuchung und – als ungünstige Faktoren – das Vorliegen einer Leberzirrhose, ein erhöhter AFP-Spiegel (zwischen 400 und 2000 mg/ml), Satellitenknoten, das Fehlen einer Kapsel, ein erhöhtes Kern/Zytoplasma-Verhältnis, DNA-Aneuploidie, fortgeschrittenes Alter und männliches Geschlecht. (15)

Jonas et al. konnten die Gefäßinvasion und den histopathologischen Tumordifferenzierungsgrad in einer multivarianten Analyse als Prognosefaktoren nach Transplantation identifizieren, eingeschlossen Patienten mit einem HCC in Zirrhose.

Dabei zeigten der histopathologische Tumorgrad und der maximale Tumordurchmesser eine signifikante Korrelation mit der Gefäßinvasion. Die Raten an Gefäßinvasion bei Tumoren > 5 cm waren signifikant ($P < 0,01$) geringer bei Patienten mit gut differenzierten HCC (25 %) als bei denen mit mäßig bzw. schlecht differenzierten HCC (100 %). Sie schlussfolgerten, dass bei Tumoren > 5 cm der Tumordurchmesser und die Zahl der Knoten in Korrelation zu dem Tumorgrad prädiktiv für eine Gefäßinvasion sind. (25)

In einer Studie von Benckert et al. konnte die Abhängigkeit der Überlebensrate nach Lebertransplantation bei HCC in Zirrhose vom histologischen Differenzierungsgrad gezeigt werden. Patienten mit einem HCC in Zirrhose mit dem Differenzierungsgrad G1 hatten eine 5- und 10-Jahres-Überlebensrate von 73 % und 63 %. Patienten mit einem G2-Tumor von 65 % und 56 %. Patienten mit einem G3-Tumor hatten eine 5-Jahres-Überlebensrate von 43 %. Kein Patient überlebte 10 Jahre (G1 vs. G3: $P = 0,004$; G2 vs. G3: $P = 0,02$). Patienten, bei denen histologisch eine Gefäßinfiltration nachgewiesen werden konnte, hatten eine 5- und 10-Jahres-Überlebensrate von 55 % und 37 %, verglichen mit Patienten ohne Gefäßinfiltration, die Überlebensraten von 68 % und 57 % aufwiesen ($P < 0,04$). In einer Multivariationsanalyse zeigte sich, dass der histologische Differenzierungsgrad (risk ratio 1.8; 95 % CI: 1.1 to 3.2, $P = 0,03$) und die Gefäßinfiltration (risk ratio: 2.1; 95 % CI: 1.1 to 4.4; $P = 0,04$) die Prognose bestimmenden Faktoren waren. Die maximale Tumorgöße (risk ratio: 1.1; 95 % CI: 1.0 to 1.3; $P = 0,05$) und der histologische Differenzierungsgrad (risk ratio: 2.7; 95 % CI: 1.5 to 5.1; $P = 0,02$) waren die Prädiktoren für das Vorliegen einer Gefäßinfiltration. (87)

Diese Betrachtungen zeigen, dass neben der Anzahl auch Informationen über die Größe und den Differenzierungsgrad eines HCC in Zirrhose bei geplanter Lebertransplantation von bedeutender prognostischer Wertigkeit sind.

In einer anderen Studie konnten Jonas und Al Abadi et al. bei Patienten nach Lebertransplantation aufgrund eines HCC auch die DNA-Ploidie als wertvollen Prognosefaktor identifizieren. Der Vorhersagewert der DNA-Ploidie ist dabei dem des Tumorstadiums sowie weiteren Prognosefaktoren überlegen. Aneuploidie bei Patienten mit Lebertransplantation wegen eines HCC wies in dieser Studie auf eine schlechtere Prognose hin, wohingegen diploide und polyploide Tumoren der LTX-Patienten eine gute Prognose zeigten. (28, 47)

Die gleiche Arbeitsgruppe konnte nach Lebertransplantation aufgrund eines HCC in Zirrhose in univariaten Analysen neben den Mailänder Kriterien, dem histopathologischen Tumorgrading und dem Vorhandensein einer Gefäßinvasion einen DNA-Index $< 1,5$ als Prognoseparameter

identifizieren. In einer multivariaten Analyse zeigten sich der DNA-Index und die Gefäßinvasion als Prognoseparameter. (24)

Es gibt in der Literatur keine Studien, die beim HCC in Zirrhose einen Zusammenhang zwischen Bildgebung mittels Kontrastmittel-MRT, insbesondere mit Primovist®, und Tumordifferenzierungsgrad, DNA-Ploidie sowie DNA-Index untersucht haben.

Das therapeutische Verfahren der ersten Wahl beim HCC in Zirrhose ist eine vollständige operative Tumoresektion. Sie gilt derzeit als einzige potentiell kurative Behandlungsmethode und besteht entweder in einer Leberresektion oder in der Hepatektomie mit orthotoper Lebertransplantation.

In Studien mit umfangreichen Patientenzahlen werden beim HCC in Zirrhose nach Leberteilesektion 5-Jahres-Überlebensraten von 15-50 % angegeben. Die Resektion gilt zwar als Therapie der Wahl, erscheint aber derzeit nur für etwa 20 % dieser Patienten möglich. (14, 15)

Die Behandlung der Leberzirrhose als zugrunde liegenden und auch künftigen Risikofaktor für die Entstehung eines HCC in Zirrhose ist ein weiteres Therapieziel, das derzeit nur mit der Lebertransplantation umgesetzt werden kann. Die Indikationsstellung zur Transplantation bei maligner Grunderkrankung ist zurzeit ausschließlich beim HCC in Zirrhose gegeben.

Entscheidungskriterien für die Indikationsstellung zur Lebertransplantation sind sowohl das Tumorausmaß als auch der Schweregrad der Zirrhose.

Das Vorliegen einer Child-B/C-Leberzirrhose begründet per se bereits die Indikation zur Lebertransplantation. (14, 15)

Im Rahmen der Indikationsstellung zu einer Lebertransplantation bei Vorliegen eines HCC in Zirrhose sind neben den Milan-Kriterien, d. h. der Anzahl und Größe der jeweiligen Tumoren, auch Informationen über den Differenzierungs- bzw. Malignitätsgrad des Tumors sinnvoll. Ohne Kenntnis des Differenzierungsgrades eines HCC in Zirrhose ermöglicht die Anwendung der Milan-Kriterien in der Indikationsstellung ein durchschnittliches 5-Jahres-Überleben zwischen 62 und 70 % nach der Transplantation. Es zeigt sich ein signifikant besseres Überleben bei Patienten mit einem HCC innerhalb der Milan-Kriterien im Vergleich zu Patienten mit einem HCC außerhalb dieser Kriterien. In zahlreichen Arbeiten konnte eine mikrovaskuläre Tumordinvasion in der histopathologischen Aufarbeitung der explantierten Leber als unabhängiger negativer Prädiktor für das Überleben nach Transplantation nachgewiesen werden. Eine signifikante Zunahme der Inzidenz der mikrovaskulären Invasion mit zunehmender

Tumorgroße konnte in diesem Zusammenhang aufgezeigt werden. (25, 84, 87) Bei Tumoren > 5 cm ist mit einer mikrovaskulären Invasion in über 50 % der Fälle zu rechnen.

Über die Milan-Kriterien hinaus werden die Überlebensraten durch das histopathologische Tumorgrading, die Gefäßinvasion und insbesondere durch DNA-zytometrische (DNA-Ploidie, DNA-Index) Faktoren beeinflusst. (24, 25, 28, 47, 28, 87)

Beim HCC in Zirrhose kann nach den Ergebnissen dieser Studie mit der MR-Untersuchung der Leber unter Einsatz des hepatozytenspezifischen Kontrastmittels Primovist® aufgrund des statistisch signifikanten Zusammenhanges zwischen Asymmetriekoeffizient AC_1 (arteriell/venös), also dem Verhältnis der Kontrastmittelaufnahme des Tumors in der arteriellen respektive der venösen Phase in der dynamischen Bildgebung und dem DNA-Index eine Aussage über den Malignitätsgrad bzw. die Aggressivität des Tumors, d. h. dessen biologisches Verhalten, gemacht werden.

Die präoperative Bestimmung dieses Asymmetriekoeffizienten könnte somit beim HCC in Zirrhose die Indikation für das weitere chirurgische Vorgehen (Resektionsausmaß/Transplantationsindikation) beeinflussen bzw. als Prognosefaktor dienen. Weitere Studien – wenn möglich mit größeren Patientenzahlen – sollten diese Ergebnisse bestätigen und somit dazu beitragen, dass die Milan-Kriterien gegebenenfalls um das Kriterium der präoperativ kernspintomographisch erfassten Aufnahme von hepatozytenspezifischem Kontrastmittel bzw. des „wash-out“, d. h. der Bestimmung des Asymmetriekoeffizienten AC_1 , erweitert werden.

9 Zusammenfassung

Mit den Ergebnissen dieser Studie konnte beim hepatozellulären Karzinom (HCC) in Zirrhose erstmalig ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem im Rahmen der präoperativen kernspintomographischen Bildgebung mit hepatozytenspezifischem Kontrastmittel (Primovist®) bestimmten Asymmetriekoeffizienten AC_1 (zwischen der Signalgebung in der arteriellen respektive der venösen Kontrastphase in der dynamischen Bildgebung) und dem DNA-Index, also dem Malignitätspotential des Tumors nachgewiesen werden.

Damit erscheint es möglich, eine präoperative Einschätzung des Malignitätspotentials bzw. der Aggressivität dieser Tumoren und damit einen Hinweis über dessen möglicher Prognose abzugeben.

Der Asymmetriekoeffizient AC_1 könnte somit eine sinnvolle Ergänzung darstellen, um die bildgebenden Informationen wie Lokalisation, Größe und Anzahl der Tumoren einschließlich einer möglichen Angioinvasion auch hinsichtlich des Malignitätsgradings bzw. der Aggressivität dieser Tumoren sowie der damit verbundenen bildgebend, jedoch noch nicht erfassbaren Gefäßinvasion zu erweitern und damit das weitere chirurgische Vorgehen (Resektionsausmaß/Transplantationsindikation) zu beeinflussen bzw. als Prognoseparameter zu dienen.

10 Ergebnistabellen

Abkürzungen und Erläuterungen

G	Geschlecht
M	Männlich
W	Weiblich

Ursache der Zirrhose

2	Hepatitis-B
3	Hepatitis-C
5	Kryptogen
6	Alkohol

MR-Sequenzen (Wichtungen)

T1 TM	native T1-Wichtung ohne Fettsättigung Tumor
T1 TM-SD	native T1-Wichtung ohne Fettsättigung Tumor/Standardabweichung
T1 RL	native T1-Wichtung ohne Fettsättigung Restleber
T1 FS TM	native T1-Wichtung mit Fettsättigung Tumor
T1 FS TM-SD	native T1-Wichtung mit Fettsättigung Tumor/Standardabweichung
T1 FS RL	native T1-Wichtung mit Fettsättigung Restleber
T2 FS TM	native T2-Wichtung mit Fettsättigung Tumor
T2 FS TM-SD	native T2-Wichtung mit Fettsättigung Tumor/Standardabweichung
T2 FS RL	native T2-Wichtung mit Fettsättigung Restleber
Dyn art. TM	arterielle Phase, ca. 20 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung Tumor
Dyn art. TM-SD	arterielle Phase, ca. 20 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung Tumor/Standardabweichung
Dyn art. RL	arterielle Phase, ca. 20 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung Restleber
Dyn ven. TM	venöse Phase, ca. 50 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung Tumor

Dyn ven. TM-SD	venöse Phase, ca. 50 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung Tumor/Standardabweichung
Dyn ven. RL	venöse Phase, ca. 50 s nach i.v.-KM-Applikation in der dyn. Akquisition in der fettgesättigten T1-Wichtung Restleber
T1 KM spät. TM	spätvenöse Kontrastphase (sog. Post-KM-Phase), ca. 20 min nach i.v.-KM-Applikation in der fettgesättigten T1-Wichtung Tumor
T1 KM spät. TM-SD	spätvenöse Kontrastphase (sog. Post-KM-Phase), ca. 20 min nach i.v.-KM-Applikation in der fettgesättigten T1-Wichtung Tumor/Standardabweichung
T1 KM spät. RL	spätvenöse Kontrastphase (sog. Post-KM-Phase), ca. 20 min nach i.v.-KM-Applikation in der fettgesättigten T1-Wichtung Restleber

Segment	Lebersegmente
Fläche	Fläche des Tumors
Grading	Pathohistologischer Differenzierungsgrad
1	gut differenziert
2	mäßig differenziert
3	schlecht differenziert
GX	Differenzierungsgrad nicht bestimmbar
DNA-PG	DNA-Ploidiegrad
1	Aneuploidie
2	Diploidie
3	Tetraploidie
k. ZM	kein Zellmaterial
DI	DNA-Index

Ergebnistabellen

Fall-Nr.	Geb.-Dat.	G.	Urs d. Zirrrose	T1 TM	T1 TM SD	T1 RL	T1 FS TM	T1 FS TM SD	T1 FS RL	T2 FS TM	T2 FS TM SD	T2 FS RL	Dyn art TM	Dyn art TM SD	Dyn art RL
1	02.02.1939	M	2	864,0	55,0	917,0	1113,0	42,0	1022,0	625,0	89,0	409,0	850,0	59,0	499,0
2	20.09.1945	W	5	427,9	18,0	455,7				234,8	11,1	230,4	257,5	37,9	362,9
3	10.05.1931	M	5	455,0	34,0	520,0	156,0	38,0	287,0	337,0	45,0	289,0	202,0	45,0	289,0
4	05.01.1923	M	5	345,3	17,1	458,1				326,6	47,6	152,0	356,8	26,3	289,3
5	05.12.1939	M	6	751,0	116,0	718,0	659,0	86,0	776,0	506,0	73,4	390,0	643,0	53,0	806,0
6	12.07.1942	M	3	644,0	66,0	811,0	1334,0	103,0	1313,0	600,0	131,0	470,0	385,0	46,0	449,0
7	01.08.1936	M	3	728,8	108,0	811,7	1108,6	190,5	1289,6	883,4	138,9	504,3	743,9	183,4	492,0
8	08.06.1939	M	6	862,0	80,0	1000,0	770,0	58,6	898,0	544,0	108,0	294,0	571,0	43,5	594,0
9	26.08.1952	M	2	749,0	53,7	816,0	1321,0	124,0	1099,0	567,6	114,5	368,7	1112,6	83,6	1005,5
10	28.04.1938	M	3	380,5	19,2	439,0				316,0	37,0	259,0	363,0	42,0	384,0
11	02.11.1961	W	6	873,0	63,6	849,0	1290,6	156,0	1417,0	390,0	125,5	130,0	708,0	21,3	980,0
12	07.10.1941	M	6	517,0	37,0	651,0	734,0	125,0	1094,0	994,0	264,0	243,0	569,0	76,0	493,0
13	31.03.1951	M	3	872,9	114,0	835,1	1756,9	130,5	1571,4	703,6	103,4	352,4	718,0	85,5	550,6
14	01.03.1943	M	2 und 3	717,0	46,0	682,0	636,0	70,0	697,0	1411,0	207,0	652,0	1124,0	114,0	1047
15	03.07.1971	W	5	347,0	24,5	491,0				304,2	34,8	182,5	477,2	21,4	377,2
16	05.05.1946	M	6	569,4	30,3	752,6	1105,4	55,3	1089,1	524,7	39,4	454,4	1025,3	90,3	642,7
17	04.12.1946	M	5	1114,7	96,4	906,5	1337,8	134,5	1015,1	504,9	169,8	726,6	1268,2	120,1	1260,7
18	06.09.1956	M	6	660,0	20,0	990,0	1027,0	74,0	1616,0	560,0	112,0	219,0	1574,0	88,0	965,0
19	24.04.1940	M	6	483,0	51,0	659,0	822,0	45,0	982,0	589,0	100,0	209,0	553,0	54,0	830,0
20	20.04.1954	M	3	548,8	45,4	681,1	886,5	67,5	1353,9	475,3	38,2	360,4	515,9	49,7	475,8
21	05.02.1940	M	3	603,0	93,0	747,0	716,0	86,8	818,0	375,0	58,5	130,0	883,0	313,0	526,0
22	09.04.1950	M	6	160,8	27,9	141,7	276,5	10,5	295,8	287,8	36,2	164,2	259,9	34,4	194,9
23	21.11.1936	M	5	711,6	54,6	1054,3	1106,7	48,4	1519,5	1288,0	207,8	676,2	1723,0	54,8	855,7
24	19.01.1936	M	3	306,0	24,0	367,0	123,0	14,0	124,0	171,0	20,0	124,0	294,0	31,0	210,0
25	24.09.1924	W	3	436,0	30,0	485,0	1049,0	37,0	1365,0	677,0	128,0	467,0	735,0	116,0	465,0

Fall-Nr.	Geb.-Dat.	G.	Urs d. Zirrrose	T1 TM	T1 TM SD	T1 RL	T1 FS TM	T1 FSTM SD	T1 FS RL	T2 FS TM	T2 FS TM SD	T2 FS RL	Dyn art TM	Dyn art TM SD	Dyn art RL
26	18.06.1947	M	3	482,9	43,3	380,3				253,4	46,7	161,3	303,9	24,6	186,9
27	24.12.1942	M	5	639,1	32,3	589,5	824,9	69,6	809,9	676,6	163,1	427,9	696,2	178,8	917,1
28	20.11.1956	M	6	707,7	66,4	1095,0	948,7	93,8	1037,6	896,7	235,5	655,0	514,7	80,5	449,0
29	25.03.1934	M	5	523,0	75,4	792,6	833,3	119,4	1145,3	600,2	78,4	231,1	788,3	103,0	1020,0
30	31.03.1939	M	5	697,0	62,9	959,1	876,2	44,6	872,6	490,3	76,5	225,4			
31	27.05.1975	W	5	1360,0	116,8	2156,0	925,0	48,0	1246,0	681,0	91,6	485,0	770,0	52,0	1042,0
32	02.11.1933	M	6	598,0	28,4	1024,0	1018,0	41,8	1511,0				1044,0	89,0	618,0
33	15.11.1944	M	5	752,1	174,8	937,6	889,8	153,4	1050,0	357,9	63,8	237,7	998,6	55,3	974,7
34	13.08.1960	M	3 und 6	800,4	23,8	825,9	895,6	30,9	1005,0	360,8	31,0	316,8	1137,4	82,2	760,0
35	04.04.1952	M	5		37,6	699,2	1100,8	64,8	869,1	670,5	73,4	605,1	776,3	59,8	576,4
36	11.03.1948	M	5				469,2	13,9	435,0	325,7	23,4	179,1	202,9	30,9	187,4
37	15.09.1946	M	5	745,4	82,7	835,0	863,5	151,4	986,0	607,5	70,4	379,3	1211,5	132,3	977,7
38	09.12.1947	W	5	647,8	40,6	836,8	936,1	43,3	1143,9	1008,0	113,8	383,0	1006,8	172,5	795,9
39	02.04.1943	M	2	885,0	73,0	754,0	1320,0	111,3	1066,5	443,4	118,0	295,9	911,4	109,8	676,8
40	06.10.1931	M	5	796,0	56,0	924,0	586,0	38,2	1138,0	548,0	153,0	367,0	456,0	48,0	641,0
41	24.02.1932	M	5	604,0	66,0	795,0	950,0	106,0	1230,0	1126,0	306,0	605,0	693,0	47,0	476,0
42	22.07.1932	M	5	427,0	42,0	533,0				495,0	77,0	350,0	239,0	62,0	259,0
43	02.09.1941	W	3	650,0	40,7	913,6	1035,6	30,1	1428,1	449,7	39,1	318,2	1063,0	55,7	1406,0
44	14.08.1932	M	5	750,0	73,0	733,0	676,0	84,0	852,0	540,0	57,0	454,0	732,0	83,0	513,0
45	12.04.1931	M	3	470,0	26,0	400,0	254,0	34,0	197,0	254,0	32,0	267,0	236,0	24,5	338,0
46	15.08.1951	M	5							287,9	220,1	198,4	332,4	25,9	287,4
47	10.07.1953	M	6	969,0	90,5	87,3	1166,5	100,9	977,6	647,3	89,5	324,2	829,2	35,5	516,3
48	13.04.1939	M	6	548,7	23,0	412,0	233,0	18,9	233,0	304,0	26,0	253,0	373,0	52,0	214,0
49	31.08.1946	M	3	760,6	26,2	712,5	863,9	33,4	860,4	352,5	20,4	332,7	867,5	27,0	837,8
50	15.07.1950	M	3	723,0	38,0	668,0	814,0	48,0	771,0	663,0	77,0	350,0	416,0	42,0	407,0
51	07.01.1944	M	5							386,0	20,2	200,9	254,5	25,6	235,2

Fall-Nr.	Geb.-Dat.	G.	Urs d. Zirrhose	T1 TM	T1 TM SD	T1 RL	T1 FS TM	T1 FS TM SD	T1 FS RL	T2 FS TM	T2 FS TM SD	T2 FS RL	Dyn art TM	Dyn art TM SD	Dyn art RL
52	08.11.1937	M	5	513,3	44,3	854,1	658,1	37,9	1222,5	867,6	141,8	329,5	566,8	169,5	878,1
53	15.06.1940	W	5	647,0	65,0	922,0	950,7	66,0	1282,0	914,0	118,0	619,0	605,0	128,0	623,0
54	11.10.1939	M	6	851,0	31,2	773,0	1040,0	78,0	1041,0	592,0	48,0	798,0	900,0	47,0	581,0
55	02.01.1952	M	2	991,9	134,5	1275,5	1412,6	101,0	1600,2	325,2	81,8	414,6	737,3	149,9	1138,9
56	20.05.1945	W	3	872,8	56,8	929,2	1309,0	45,4	1213,0	541,7	77,1	383,1	668,2	48,5	494,4
57	19.08.1963	M	5	620,0	63,7	791,0	682,3	55,4	1212,0	537,0	43,7	251,0	898,0	98,6	1121,0
58	12.10.1944	W	2	790,1	56,6	579,9	1130,2	57,6	781,6	503,3	44,5	242,8	1042,7	84,3	571,2
59	27.07.1948	M	6	632,3	32,8	704,8	944,7	70,5	694,4	786,3	85,9	451,0	875,3	57,1	612,9
60	02.06.1937	W	3	785,0	22,5	887,0	1037,0	26,2	1195,0	685,0	41,0	393,0	960,0	49,0	692,0
61	08.04.1937	M	5	342,0	20,3	446,0	120,0	16,6	172,0	368,0	54,0	322,0	305,0	23,7	223,0
62	12.05.1938	M	5	643,0	69,5	690,0	881,0	76,0	919,0	525,0	50,1	394,0	830,0	31,3	427,0
63	23.03.1939	M	6	378,0	18,0	433,0	126,0	23,5	258,0	273,0	26,7	333,0	174,4	38,1	226,0

Fall-Nr.	Dyn ven TM	Dyn ven TM SD	Dyn ven RL	T1 KM spät TM	T1 KM spät TM SD	T1 KM spät RL	Segment	Fläche in cm²	Grading	DNA-PG	DI
1	728,0	33,0	724,0	980,0	76,0	1365,0	VI	4,6	3	1	1,50
2	259,3	22,2	350,9	481,2	36,7	561,6	IVb/VIII	152,5	2	1	1,94
3	544,0	36,0	698,0	237,0	51,0	448,0	IV/V/VI/VIII	19,8	2	1	1,60
4	325,7	23,1	321,8	436,9	25,3	560,1	I/VIII	16,6	2	1	1,37
5	463,0	78,0	506,0	874,0	56,0	1263,0	VII	32,4	1	2	1,34
6	772,0	48,0	705,0	1610,0	91,0	1607,0	IV/VIII	2,9	1	2	0,80
7	1014,8	158,0	959,5	1363,6	108,8	1416,4	III	22,1	1	2	1,10
8	496,0	35,2	721,0	997,7	88,2	1444,0	III/IVa-IVb	14,0	2	2	1,10
9	985,7	93,8	1229	1294,2	72,7	1605,4	IV/VIII	2,9	1	2	0,90
10	325,0	27,0	504,0	432,0	12,9	581,0	IV-VIII	67,2	2	k. ZM	
11	642,0	36,0	890,0				II	3,6	2	2	1,00
12	975,0	81,0	706,0	921,0	93,0	1450,0	V/VI/VII	7,0	3	1	1,50
13	518,4	35,1	720,7	833,1	166,9	1440,8	VI	10,8	1	1	1,40
14	1132	114,0	1343,0	1017	87,0	1268	I/II/III	2,9	2	2	0,80
15	417,4	24,6	433,8	346,3	56,1	601,4	V	2,6	1	2	1,05
16	852,6	48,6	986,8	736,1	51,4	1377,5	V	6,6	2	k. ZM	
17	878,9	108,4	1269,2	869,2	112,8	1364,5	II	30,7	GX	1	1,20
18	1084,0	92,6	1132,0	856,0	60,5	1573,0	VIII	5,8	2	3	2,00
19	382,0	58,0	558,0	558,0	38,0	1017,0	V	34,6	1	k. ZM	
20	529,7	23,2	760,0	756,7	46,5	1251,8	V	4,6	1	k. ZM	
21	977,0	242,0	814,0	1254	195,0	1424,0	VIII	3,3	1	3	1,34
22	218,1	16,1	187,6	316,1	20,5	305,3	VIII	9,6	1	1	1,20
23	1396,1	78,3	1253,5				VIII	2,3	2	1	1,60

Fall-Nr.	Dyn ven TM	Dyn ven TM SD	Dyn ven RL	T1 KM spät TM	T1 KM spät TM SD	T1 KM spät RL	Segment	Fläche in cm ²	Grading	DNA-PG	DI
24	307,0	36,0	295,0	200,0	30,0	290,0	II	7,6	1	1	1,50
25	824,0	42,0	808,0	1401,0	65,0	1482,0	VIII	5,4	3	2	1,10
26	340,3	26,0	262,6	595,5	28,2	588,6	VII	8,6	2	1	1,48
27	958,4	82,0	1235,6	1345,6	106,9	1309,9	VI	22,7	1	2	1,20
28	464,5	90,5	681,0	857,3	75,1	1161,4	VIII	17,9	1	k. ZM	
29	736,0	100,3	1001,0	552,8	49,2	1071,0	V/VIII	30,5	2	1	1,80
30				875,6	73,4	1455,5	III	3,8	2	1	2,10
31	886,0	64,0	1100,0	925,0	70,0	1574,0	IVa	6,9	1	2	1,04
32	946,0	45,0	997,0				IV/V	13,9	1	2	1,40
33	1256,1	76,9	1254,6	1343,5	358,5	1572,5	III	8,0	2	k. ZM	
34	1034,0	62,0	1000,0	1375,0	51,0	1504,0	VI / VII	25,5	1	k. ZM	
35	775,1	56,8	742,5	1492,6	85,3	1470,0	V/VIII	5,0	1	1	1,77
36	391,3	38,7	302,9	504,3	15,1	476,0	VII/ VIII	14,7	3	1	1,30
37	1040,2	193,4	1282,6	970,2	293,9	1713,4	VI	0,4	1	k. ZM	
38	980,1	83,1	807,0	1035,5	72,4	1342,7	VII	16,0	2	1	1,40
39	790,8	108,8	906,1	808,3	91,8	359,4	II/III	111,2	2	1	2,30
40	523,0	44,0	974,0	896,0	62,0	1124,0	VII/VIII	35,9	2	1	1,65
41	656,0	67,0	831,0	912,0	68,0	1517,0	II	57,1	2	3	2,70
42	507,0	57,0	622,0	240,0	49,0	404,0	VII	68,6	2	1	1,15
43	1751,0	40,0	1573,7	968,0	107,5	1719,9	IV/VIII	1,8	3	k. ZM	
44	514,0	17,3	488,0	597,0	58,6	970,0	VI	13,6	1	2	1,20
45	253,0	23,0	322,0	486,0	19,0	501,0	IV	4,8	1	2	1,20
46	263,4	22,3	274,9	229,8	22,3	326,9	VIII	8,9	2	1	1,50
47	855,4	26,3	757,5	1275,0	39,1	1670,2	V	8,6	1	k. ZM	
48	334,0	34,9	278,0	572,0	54,0	474,0	VIII	15,2	1	k. ZM	
49	817,4	73,8	542,6	981,0	29,0	1406,3	IV	3,6	2	2	0,90

Fall-Nr.	Dyn ven TM	Dyn ven TM SD	Dyn ven RL	T1 KM spät TM	T1 KM spät TM SD	T1 KM spät RL	Segment	Fläche in cm²	Grading	DNA-PG	DI
50	775,0	70,0	803,0	1502,0	73,0	1466,0	IV - VIII	5,4	1	2	0,98
51	194,8	13,4	226,2	185,3	22,2	218,5	VIII	3,3	1	3	0,98
52	422,7	102,5	613,7	907,8	105,7	1889,0	IV	59,4	2	1	1,60
53	725,0	128,0	992,0	812,0	88,0	1641,0	VI/VII	49,6	3	3	1,20
54	811,0	25,0	780,0	1122,0	52,0	1700,0	VI	2,3	2	1	1,22
55	785,7	52,2	898,0	579,6	63,7	1474,0	VIII	11,4	1	2	1,10
56	721,9	42,9	722,8	1261,7	148,9	1364,7	V/VI	3,0	2	3	1,84
57	829,0	67,4	1210,0	1171,6	50,5	1960,0	VI/VII	19,5	2	2	1,05
58	1051,4	82,7	958,1	920,0	38,6	741,8	VI	3,2	2	1	1,10
59	762,5	46,4	770,6	945,2	35,0	1228,6	II	4,4	3	3	2,10
60	782,0	41,0	1132,0	887,0	68,0	1538,0	II	10,2	2	3	2,60
61	154,0	22,0	254,0	392,0	15,3	585,0	III	76,0	1	2	1,47
62	683,0	77,0	730,0	763,0	83,0	1363,0	VI	23,8	3	1	2,80
63	148,3	27,4	252,0	370,0	18,5	495,6	VII	205,0	2	1	1,60

Literaturverzeichnis

- 1 Layer G , Gallowski U: Lebertumoren. In: Radiologische Diagnostik in der Onkologie, Bd. 2 Gastrointestinum, Urogenitaltrakt, Retroperitoneum/G. Layer u. a. (Hrsg.). Berlin: Springer, 2008:87-119.
- 2 Habermann CR, Weiss F, Hillner M, Staedler C, Schoder V, Welger J, Bücheler E, Adam G: Stellenwert der dreiphasischen Spiral-CT in der Detektion des hepatozellulären Karzinoms bei Leberzirrhose, Röfo. 2002;174 (1):96-100.
- 3 Blum HE: Treatment of hepatocellular carcinoma Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2005;19 (1):129-145.
- 4 Meßmer K: Was gibt es Neues in der Chirurgie? Berichte zur chirurgischen Fort- und Weiterbildung. Landsberg/Lech: ecomed, 2007.
- 5 Denecke T, Grieser C, Fröling V, Steffen IG, Rudolph B, Stelter L, Lehmkuhl L, Streitparth F, Langrehr J, Neuhaus P, Lopez HE: Multislice computed tomography using a triple-phase contrast protocol for preoperative assessment of hepatic tumour load in patients with hepatocellular carcinoma before liver transplantation. Transpl Int. 2009;22 (4):395-402.
- 6 Hentrich HR, Grazioli L, Morana G, Kirchin MA, Pirovano G, Spinazzi A, Lodemann KP: Spätaufnahmen beim hepatozellulären Karzinom (HCC) mit MultiHance R (Gd-BOPTA): Korrelation mit histopathologischen Befunden. Röfo. 2000 Poster Hepatobiliäres System.
- 7 Hentrich HR, Marti-Bonmati L, Vanzulli A, Kirchin MA, Piorovano G, Spinazzi A, Lodemann KP: Charakterisierung fokaler Leberläsionen: Wertigkeit von MultiHance (Gd-BOPTA) in der kontrastverstärkten MR-Bildgebung. Röfo. 2000 Poster Hepatobiliäres System.
- 8 Horigome H, Nomura T, Saso K, Itoh M, Joh T, Ohara H: Limitation of imaging diagnosis for small hepatocellular carcinoma: comparison with histological findings. J Gastroenterol Hepatol. 1999;14 (6):559-65.
- 9 Kanematsu M, Hoshi H, Yamada T, Murakami T, Kim T, Kato M, Yokoyama R, Nakamura H: Small hepatic nodules in cirrhosis: ultrasonic, CT, and MR imaging findings. Abdom Imaging. 1999;24 (1):47-55.

- 10 Scharitzer M: Characterization of hepatocellular tumors: value of mangafodipir-enhanced magnetic resonance imaging. *J Comput Assist Tomogr.* 2005;29 (2):181-90.
- 11 Schneider G, Altmeyer K, Seidel R, Lodemann K, Kramann B: MRT primärer Leberläsionen in der dynamischen Untersuchung nach Gabe eines hepatobiliären MRT-Kontrastmittels (Gd-BOPTA). *Röfo.* 2000 Poster Hepatobiliäres System.
- 12 Yamashita Y, Mitsuzaki K, Yi T: Small hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver damage: prospective comparison of detection with MR imaging and heliacal CT of the whole liver. *Radiology.* 1996;200 (1):79-84.
- 13 Vogl TJ, Eichler K, Zangos S, Mack M, Hammerstingl R: Das hepatozelluläre Karzinom: Rolle der Bildgebung zur Detektion, Therapieplanung und Therapiekontrolle. *Fortschr Röntgenstr.* 2002;174 (11):1358-68.
- 14 Allgaier HP: Das hepatozelluläre Karzinom. Bremen: UNI-MED-Verl., 2002.
- 15 Praxis der Viszeralchirurgie: Onkologische Chirurgie/hrsg. v. JR. Siewert 2. Aufl. Berlin: Springer, 2006.
- 16 Primovist® Basisinformationen: Leberkontrastmittel für T1-gewichtete MRT. Detektion und Charakterisierung in einem Untersuchungsgang. Information für Radiologen/Bayer Health Care AG. Leverkusen: Bayer Health Care, 2007.
- 17 Kolkman FW: Die Bedeutung der statischen DNA-Zytometrie in Diagnostik und Therapie: 21. Interdisziplinäres Forum der Bundesärztekammer „Fortschritt und Fortbildung in der Medizin“ vom 27. bis 30. November 1996. *Deutsches Ärzteblatt.* 1997;94 (14): A-924.
- 18 Abou-Rebyeh H, Borgmann V, Nagel R, Al-Abadi H: DNA ploidy is a valuable predictor for prognosis of patients with resected renal cell carcinoma. *Cancer.* 2001;92 (9):2280-5.
- 19 Abou-Rebyeh H, Al-Abadi H, Jonas S, Rotter I, Bechstein WO, Neuhaus P: DNA analysis of cholangiocarcinoma cells: prognostic and clinical importance. *Cancer Detect Prev.* 2002;26 (4):313-9.

- 20 Al-Abadi H, Jonas S, Neuhaus P: DNA-content and survival rate of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Detect Prev.* 1998;22 (Suppl 1):180.
- 21 Al-Abadi H, Nagel R: Zellkern-DNA-Analyse bei Nierenzellkarzinomen unter Berücksichtigung des morphologischen Malignitätsgrades. *Akt Urol.* 1987;18:137-41.
- 22 Al-Abadi H, Nagel R: Clinical relevance of DNA ploidy and cell cycle phases in transitional cell carcinoma of the renal pelvis and ureter: a study by means of static DNA-cytophotometry. In: *The cell cycle: regulators, targets and clinical applications/ed. by V.W. Hu.* New York: Plenum Press, 1994:411-9.
- 23 Blöndal T, Ponten J: DNA ploidy in small cell carcinoma of the lung *Anticancer Res.* 1983;3 (1):47-52.
- 24 Jonas S, Al-Abadi H, Benckert Ch, Thelen A, Hippler-Benscheid M, Saribeyoglu K, Radtke B, Pratschke J, Neuhaus P: Prognostic significance of the DNA-Index in liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Ann Surg.* 2009;250 (6):1008-13.
- 25 Jonas S, Bechstein WO, Steinmüller T, Herrmann R, Radke C, Berg T, Settmacher U, Neuhaus P: Vascular invasion and histopathologic grading determine outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Hepatology.* 2001;33 (5):1080-86.
- 26 Gustafson H, Tribukait B, Eposti PL: DNA profile and progression in patient with superficial bladder tumors. *Urol Res.* 1982;10 (1):13-8.
- 27 Ljungberg B, Cewrien G, Stenling R, Zetterberg A: The prognostic significance of nuclear DNA content in renal cell carcinoma. *J Urol.* 1986;135 (2):422-6.
- 28 Al-Abadi H, Jonas S, Bechstein WO, Neuhaus P: [Poster]. – Halkidiki: EACR – XVI – European Association for Cancer Research Biennial Meeting, 30.05.-04.06.2000.
- 29 Böcking A: *Praxis der klinischen Zytodiagnostik.* Düsseldorf: Univ. Düsseldorf, 2010. <http://www.med.uni-duesseldorf.de/Cytopathologie/lf8.htm> (Stand: 31.01.2010)
- 30 Schulte-Frohlinde E.: Primäre Lebermalignome. In: *Gastrointestinale Tumoren.* Hrsg. Tumorzentrum München. München: Zuckschwerdt, 2001:54-76.

- 31 Kern MA, Breuhahn K, Schuchmann M, Schirmacher P: Molekulare Pathogenese des hepatozellulären Karzinoms. *Pathologe*. 2007;28 (4):261-68.
- 32 Spangenberg HC, Thimme R, von Weizsäcker F, Blum HE: Hepatozelluläres Karzinom. *Internist*. 2004;45 (7):777-85.
- 33 Lang H, Mischinger HJ: Primäre Malignome der Leber In: *Chirurgische Onkologie: Strategien und Standards für die Praxis/M. Gnant u. a. (Hrsg.). Wien: Springer, 2008.*
- 34 Di Bisceglie AM: Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis*. 1995;15 (1):64-9.
- 35 Ozturk M: Genetic aspects of hepatocellular carcinogenesis. *Semin Liver Dis*. 1999;19:235-242.
- 36 Boutron M, Faivre J, Milan C: Primary liver cancer in Côte d'Or. *Int J Epidemiol*. 1988;17 (1):21-6.
- 37 Bechtel DH: Molecular dosimetry of hepatic aflatoxin B1-DNA adducts: linear correlation with hepatic cancer risk. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1989;10 (1):74-81.
- 38 Ishak KG, Goodman ZD, Stocker JT: Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts. Washington, D.C.: Armed Forces Inst. of Pathology, 2001. (Atlas of Tumor Pathology;3,31)
- 39 Sturm JW, Keese M: Multimodal Treatment of Hepatocellular Carcinoma (HCC). *Onkologie*. 2004;27 (3):294-303.
- 40 Wittekind C, Meyer HJ, Bootz F: TNM-Klassifikation maligner Tumoren. 6. Aufl. Berlin: Springer, 2005:74-76.
- 41 Kimura H, Nakajima T, Kagawa K, Deguchi T, Kakusui M, Katagishi T: Angiogenesis in hepatocellular carcinoma as evaluated by CD 34 immunohistochemistry. *Liver*. 1998;18 (1):14-9.

- 42 Llovet JM, Bru C, Bruix J: Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis.* 1999;19 (3):329-38.
- 43 Bruix J, Sherman M, Llovet JM: Clinical management of hepatocellular carcinoma: conclusion of the Barcelona EASL Consensus Conference. *Hepatology.* 2001;35 (3):421-30.
- 44 Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, Dominats M, Kayaking, Hasegawa H: Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. *Cancer.* 1985;56 (4):918-28.
- 45 Villa E: Natural history of inoperable carcinoma: estrogens receptor's status in the tumor in the strongest prognostic factor for survival. *Hepatology.* 2000;32 (2):233-8.
- 46 Fong Y, Sun R, Jarnagin W, Blumgart L: An analysis of 412 cases of hepatocellular carcinoma at a western center. *Ann Surg.* 1999;229 (6):790-800.
- 47 Jonas S, Steinmüller T, Settmacher U, Langrehr J, Müller A, Neuhaus P: Liver transplantation for recurrent hepatocellular carcinoma in Europe. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2001;8:422-426.
- 48 Poon RT, Fan ST, Lo CM: Intrahepatic recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma: long-term results of treatment and prognostic factors. *Ann Surg.* 1999;229 (2):2:16-22.
- 49 Belghiti J, Panis Y, Farges O, Benhamou JP, Fekete F: Intrahepatic recurrence after resection of hepatocellular carcinoma complicating cirrhosis. *Ann Surg.* 1999;214 (2):114-7.
- 50 Bartolozzi C, Lencioni R, Caramella D, Palla A, Bassi AM, Di Candio G: Small hepatocellular carcinoma: detection with US, CT, MR imaging, DSA and Lipiodol-CT. *Acta Radiol.* 1996;37 (1):69-74.
- 51 Trojan J, Raedle J, Zeuzem S: Serum tests for diagnosis and follow-up of hepatocellular carcinoma after treatment. *Digestion.* 1998;59 Suppl 2:72-4.

- 52 Johnson PJ: Role of alpha-fetoprotein in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Hepatol.* 1999;14,Suppl:32-6.
- 53 Johnson PJ, Poon TC, Hjelm NM, Ho CS, Blake C, Ho SK: Structures of disease-specific serum alpha-fetoprotein isoforms. *Br J Cancer.* 2000;83 (10):1330-37.
- 54 Bruix J: Treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 1997;25 (2):259-62.
- 55 Kudo M: Imaging diagnosis of hepatocellular carcinomas and premalignant/borderline lesions. *Semin Liver Dis.* 1999;19 (3):297-309.
- 56 Murakami T, Kim T, Takamura M: Hypervascular hepatocellular carcinoma: detection with double arterial phase multi-detector row helial CT. *Radiology.* 2001;218 (3):763-7.
- 57 Kim SK, Lim HK, Lee WJ: Detection of hepatocellular carcinoma: comparison of dynamic three-phase computed tomography images and four-phase computed tomography images using multidetector row helical computed tomography. *J Comput Assist Tomogr.* 2002;26 (5):691-8.
- 58 Fujishima T: Analysis of factors influencing hepatocellular carcinoma detection: efficient use of computed tomography during arterial portography and during hepatic arteriography. *J Gastroenterol.* 2005;40 (3):266-73.
- 59 Selzner M: Does the novel PET/CT imaging modality impact on the treatment of patients with metastatic colorectal cancer of the liver? *Ann Surg.* 2004;240 (6):1027-34.
- 60 Oi H, Murakami T, Kim T, Matsushita M, Kishimoto H, Nakamura H: Dynamic MR imaging and early-phase heliacal CT for detection small intrahepatic metastases of hepatocellular carcinoma. *Am J Roentgenol.* 1996;166 (2):369-74.
- 61 Torzilli G, Minagawa M, Takayama T: Accurate preoperative evaluation of liver mass lesions without fine-needle biopsy. *Hepatology.* 1999;30 (4):889-93.
- 62 Tang Y, Yamashita Y: Detection of hepatocellular carcinoma arising in cirrhotic livers: comparison of gadolinium- and ferroxides-enhanced MR imagin. *Am J Roentgenolog.*

1999;172 (6):1547-54.

63 Kondo H: Does t2-weighted MR imaging improve preoperative detection of malignant hepatic tumors? Observer performance study in 49 surgically proven cases. *Magn Reson Imaging*. 2005;23 (1):89-95.

64 Llovet JM, Real MI, Montana X: Chemoembolization improved survival of stringently selected patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2002;359 (9319):1734-9.

65 Kluge R, Schmidt F, Caca K: Positron emission tomography with (18) F fluoro-2-deoxy-D-glucose for diagnosis and staging of the bile duct cancer. *Hepatology*. 2001;32 (5):1029-35.

66 Kurzgefasste Interdisziplinäre Leitlinie der Deutschen Krebsgesellschaft und der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie: Primäre Leberzellkarzinome/AWMF. http://www.med.uni-duesseldorf.de/AWMFII/II_list.htm (Stand: 31.01.2010)

67 Takamori R, Wong LL, Dang C: Needle-tract-implantation from hepatocellular cancer: is needle biopsy of the liver always necessary? *Liver Transplant*. 2000;6 (1):67-72.

68 Atkin NB, Kay R: Prognostic significance of modal DNA value and other factors in malignant tumors, based on 1465 cases. *Brit J Cancer*. 1979;40 (2):210-21.

69 Böhm N, Sandritter W: DNA in human tumors: a cytophotometric study. *Current Topics in Pathology*. 1975;60:151-219.

70 Hofstätter F, Ehlich P: DNS- Feulgenzytrophotometrie bei Nieren-Parenchymkarzinomen verschiedenen Malignitätsgrades. *Verh. Dtsch. Ges. Path*. 1978;62:375.

71 Leistenschneider W, Nagel R: Zellkern-DNA-Analysen an unbehandelten und behandelten Prostatakarzinomen mit Scanning-Einzelzellzytrophotometrie. *Akt Urol*. 1979;10:353-8.

72 Olszewsky W, Darzynkiewicz Z, Claps ML, Melamed MR: Flow cytophotometry of lung carcinoma: a comparison of DNA stemline and cell cycle distribution with histology. *Anal Quant Cytol*. 1982;4 (2):90-8.

- 73 Al-Abadi H, Jonas S, Bechstein WO, Neuhaus P: Immunohistochemical detection of p53 and proliferative activity in correlation to DNA ploidy and TNM classification in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2000;126 (Suppl 1).
- 74 Haroske G, Giroud F, Reith A, Böcking A: 1997 ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. Part I: basic considerations and recommendations for preparation, measurement and interpretation. *European Society for Analytical Cellular Pathology. Anal Cell Pathol.* 1998;17:189-200.
- 75 Borgmann V, Nagel R, Al-Abadi H, Schmidt-Gollwitzer M: Treatment of prostatic cancer with LH-RH analogues. *The Prostate.* 1983;4 (6):553-68.
- 76 Fuhrmann SA, Lasky LC, Limas C: Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1982;6 (7):655-63.
- 77 Hop W C J, van der Werf-Messing BHP: Prognostic indexes for renal cell carcinoma. *Eur J Cancer.* 1980;16 (6):833-40.
- 78 Kraemer PM, Petersen DF, Van Dilla MA: DNA constancy in heteroploidy and the stem line theory of tumors. *Science.* 1971;174 (10):714-7.
- 79 Leuchtenberger CR, Leuchtenberger A, Davis A: A microspectrophotometric study of the desoxyribose nucleic acid (DNA) content in cells of normal and malignant human tissues. *Am J Path.* 1954;30 (1):65-85.
- 80 Sandritter W: Methods and results in quantitative cytochemistry. In: *Introduction quantitative cytochemistry* /ed. by G. L. Wied. New York: Acad. Press, 1966:159-182.
- 81 Werner M, Delling G: Vergleichende DNA-zytometrische Untersuchungen an aneurysmatischen Knochenzysten und Riesenzelltumoren. *Pathologe.* 2002;23:340-350.
- 82 Koike Y, Shiratori Y, Sato S: Risk factors for recurring hepatocellular carcinoma differ according to infected hepatitis virus. *Hepatology.* 2000;32 (6):1216-23.
- 83 Imamura H, Matsuyama Y, Tanaka E: Risk factors contributing to early and late phase intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *J Hepatol.* 2003;38 (2):200-7.

- 84 Mazzaferro V, Regalia E, Doci R: Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med.* 1996;334 (11):693-9.
- 85 Yokoyama I, Carr B, Saito H, Iwatsuki S, Starzl TE: Accelerated growth rates of recurrent hepatocellular carcinoma after transplantation. *Cancer.* 1991;68 (10):2095-100.
- 86 Brosius F: SPSS 8: professionelle Statistik unter Windows. Bonn: MITP-Verl., 1999.
- 87 Benckert C, Jonas S, Thelen A, Spinelli A, Schumacher G, Heise M, Langrehr J, Neuhaus P: Liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis: prognostic parameters. *Transplant Proc.* 2005;37 (4):1693-4.

Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Rainer Röttgen, der mir diese Dissertation ermöglicht hat, jederzeit meiner Arbeit Interesse entgegengebracht, dabei stets für offene Fragen ansprechbar war und mich während der gesamten Zeit motivieren konnte.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dipl.-Math. Christine Gericke sowie Herrn Priv.-Doz. Dr. Lutz Lüdemann, die bei Fragestellungen im Rahmen der statistischen Auswertung immer für mich Zeit fanden.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Hussain Al-Abadi und Frau Angelika Dürr danke ich, dass sie mich mit ihren Erfahrungen in der DNA-Zytometrie unterstützt haben.

Zum Schluss gilt mein besonderer Dank meiner Familie, ohne dessen Rücksichtnahme, Hilfe sowie persönlicher Motivation ich diese Dissertation nicht hätte schreiben können.

Erklärung

„Ich, Siegbert Kobi, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Die Magnetresonanztomographie des hepatozellulären Karzinoms in Zirrhose mit hepatozytenspezifischem Kontrastmittel Gd-EOB-DTPA und Korrelation mit dem zytometrisch bestimmten DNA-Index 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.“

Berlin,

Siegbert Kobi