

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Evaluation der Tumorgefäßperfusion von Mammakarzinomen  
mittels kontrastverstärkten Ultraschalls im Verlauf einer primär  
systemischen Therapie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jana Kroße

aus Rodewisch

Gutachter:       1. Prof. Dr. med. J.-U. Blohmer  
                      2. Prof. Dr. med. G. v. Minckwitz  
                      3. Priv.-Doz. Dr. med. S. Kümmel

Datum der Promotion: 08.04.2011

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Tumorangiogenese .....	1
1.1.1	Historischer Überblick .....	1
1.1.2	Ablauf der Tumorangiogenese, der „angiogene switch“ und Besonderheiten von Tumorgefäßen.....	1
1.2	Die primär systemische Therapie .....	3
1.3	Die histologische Komplettremission .....	6
1.4	Therapiemonitoring der primär systemischen Therapie.....	7
1.5	Die kontrastverstärkte Dopplersonographie .....	9
1.5.1	Grundlagen der Dopplersonographie.....	9
1.5.2	Ultraschallkontrastmittel Levovist® .....	10
1.6	Herleitung der Aufgabenstellung .....	11
2	Patientinnen und Methoden .....	12
2.1	Patientinnen und eingesetzte primär systemische Therapien .....	12
2.2	Therapiemonitoring und Einschätzung der Remission .....	13
2.3	Ultraschallkontrastmittel-Videodensitometrie.....	17
2.4	Statistische Analyse .....	21
3	Ergebnisse.....	23
3.1	Videodensitometrie vor und nach der PST im Gesamtkollektiv.....	23
3.2	Videodensitometrie vor und nach der PST in Bezug auf die histologische Remission.....	24
3.3	Videodensitometrie vor und nach der PST in Bezug auf das klinische Therapieansprechen .....	28
3.3.1	Vergleich von „klinischer Komplettremission“ und „keiner klinischen Komplettremission“ .....	28
3.3.2	Vergleich von klinischem „Therapieansprechen“ und „Therapieresistenz“.....	32
3.4	Therapiemonitoring mittels Videodensitometrie .....	36
3.5	Vergleich der klinischen und bildgebenden Methoden zur Prädiktion einer histologischen Remission .....	39
3.6	Univarianz- und Multivarianzanalyse der histologischen Remission .....	40

4	Diskussion .....	43
4.1	Videodensitometrie zur Darstellung der Gefäßversorgung unter primär systemischer Therapie des Mammakarzinoms.....	43
4.2	Methoden des Therapiemonitorings im Vergleich.....	51
4.2.1	Die klinische Untersuchung .....	52
4.2.2	Mammographie.....	53
4.2.3	Sonographie.....	54
5	Zusammenfassung .....	56
6	Literaturverzeichnis .....	57
7	Erklärung .....	71
8	Lebenslauf .....	72
9	Danksagung.....	73

## 1 Einleitung

### 1.1 Tumorangiogenese

#### 1.1.1 Historischer Überblick

Der Begriff „Angiogenese“ wurde von Goldman 1907 zum ersten Mal im Zusammenhang mit Tumoren benutzt und beschrieb deren hohe Gefäßdichte (Goldman, 1907). An Epitheliomen des Kaninchens untersuchten und dokumentierten Ide et al. 1939 erste Bilder von aussprossenden Gefäßen in vivo und stellten die Hypothese auf, dass spezielle Stoffe von Tumoren gebildet werden, die das Gefäßwachstum fördern (Ide et al., 1939). Algire et al. bestätigten 1945, dass das Tumorwachstum eng an das Gefäßwachstum gebunden ist (Algire et al., 1945). Die entscheidende Hypothese für die heutige Angiogeneseforschung ging 1971 von Judah Folkman aus, der postulierte, dass erst durch die Gefäßneubildung in und um den Tumor dessen Wachstum ermöglicht wird und dass dafür spezifische Tumorfaktoren notwendig sind (Folkman, 1971).

#### 1.1.2 Ablauf der Tumorangiogenese, der „angiogene switch“ und Besonderheiten von Tumorgefäßen

Ab einer Tumorgröße von 1-2 mm<sup>3</sup>, das entspricht zirka 10<sup>6</sup> Tumorzellen, ist die Sauerstoff- und Nährstoffversorgung durch Diffusion nicht mehr ausreichend gewährleistet. Für eine weitere Proliferation des Tumors ist die Versorgung durch Gefäße notwendig (Folkman, 1990; Pluda, 1997). Die Regulation der Angiogenese erfolgt im gesunden Organismus durch Angiogenesestimulatoren und Angiogeneseinhibitoren, die im Gleichgewicht stehen. Auch im Tumorgewebe kann ein Gleichgewicht an angiogenen und antiangiogenen Faktoren vorherrschen. Es handelt sich dann um einen nicht expandierenden, mikroskopischen Tumor, bei dem sich die Rate von Apoptose und Proliferation die Waage hält (Holmngren et al., 1995). Aufgrund der expandierenden Tumormasse und unter der zunehmenden Hypoxie kommt es zum Überwiegen der angiogenen Faktoren (z.B. VEGF, FGF und Interleukin (IL)-8), dem sogenannten „angiogenic switch“ (Naumov et al., 2006). Tumorzellen selbst sind nicht in der Lage neue Gefäßstrukturen zu bilden, sie stimulieren zunächst ein präexistentes Blutgefäß in Tumornähe (Holash et al., 1999). Die extrazelluläre Matrix und die Basalmembran des Gefäßes werden aufgelöst. Die Endothelzellen lösen

sich aus dem Zellverbund und migrieren in Richtung der angiogenen Substanzen, die der Tumor produziert. Es bilden sich gefäßähnliche Strukturen. Antiangiogene Substanzen werden ab einer Zellmasse von  $10^9$  Tumorzellen gebildet (Folkman, 1995), wodurch die endotheliale Apoptose ausgelöst wird und sich Gefäße zurückbilden. Nicht mehr vaskularisierte Tumorareale schütten erneut angiogene Faktoren aus und stimulieren wiederum die Neovaskularisation (Yancopoulos et al., 2000). Die gegenseitige metabolisch-nutritive und parakrine Beeinflussung von Tumorzellen und Endothelzellen beschrieb Folkman als „two-cell compartment-model of a tumor“ (Folkman, 1997). Der Grad der Veränderung der vaskulären Anatomie ist wahrscheinlich davon abhängig, ob die strukturelle Reifung mit der Angiogenese schritthalten kann, so gibt es eine beinahe physiologische Gefäßarchitektur, wie in hochdifferenzierten Tumoren, wohingegen anaplastische Tumoren nur ein chaotisches Netzwerk von irregulären Gefäßen zeigen.

Strukturell und funktionell können Tumorgefäße einige Besonderheiten aufweisen:

- Ausgeprägte Gefäßkaliberschwankungen, Gefäßabbrüche und Gefäßkonvolute mit Elongationen und Spiralenbildung sind sehr häufig zu beobachten. Das Netzwerk ist anarchisch aufgebaut. Die präkapillare dichotome Verzweigung mit abnehmendem Gefäßdurchmesser ist häufig aufgehoben (Carmeliet et al., 1996).
- Es bilden sich arterio-venöse Shunts und veno-venöse Verbindungen, vaskuläre Ringe und sinusoidale Plexus, so dass das Kapillarbett umgangen werden kann (Less et al., 1991).
- Trotz des generell niedrigen Fließwiderstandes und des insgesamt hohen Blutflusses im Tumor ist ein wechselnder Anteil des Tumors von der Blutversorgung abgeschnitten. Durch die langsame Fließgeschwindigkeit und die niedrige Sauerstoffsättigung des zuführenden Blutes ist das Gewebe im Bereich veno-venöser Blutflüsse hypoxisch (Delorme, 1998).
- Durch Endothelzellanrissen und -fenstern und einer unvollständigen Basalmembran tritt direkter Blut-Tumor-Kontakt auf. Die Gefäßwand kann aus einem Mosaik von Tumorzellen und Endothelzellen bestehen. Teilweise kann das Gefäß auch von Tumorzellen okkludiert werden (Chang et al., 2000). Der Gefäßwand fehlen funktionierende Perizyten (Benjamin et al., 1999).

- Es gibt keine Tunica media und somit keine glatte Muskulatur, keine Nervenversorgung oder drainierende Lymphgefäße (Konerding et al., 1998).
- Die transkapilläre Permeabilität steigt bis auf das Achtfache der Norm. Es entstehen Extravasate. Dies führt zur steigenden Hämokonzentration, erhöht den viskösen Fließwiderstand und verlangsamt die Fließgeschwindigkeit. Das im Extravasat enthaltene Fibrin ist die Voraussetzung für das zum Tumorwachstum notwendige Tumorstroma (Vaupel, 1998).
- Der interstitielle Druck liegt im Tumorgewebe bei 45 mmHg, zum Vergleich im normalen Gewebe in der Nähe atmosphärischer Werte von 5-20 mmHg (Cohen et al., 1995). Der interstitielle Raum ist für gewöhnlich 3-5mal größer als im normalen Gewebe. Die interstitielle Flüssigkeit des Tumorzentrums fließt entlang des Druckgradienten zur Tumorperipherie, wo ein peritumoröses Ödem entsteht (Endrich und Vaupel, 1998).
- Der Gefäßwiderstand ist trotz hoher Gefäßanzahl aufgrund der anarchischen Gefäßanordnung, der wechselnden Gefäßdurchmesser und des hohen interstitiellen Druckes erhöht (Jain, 1991).

Die Erkenntnisse über die Tumorangiogenese und die Besonderheiten des tumoralen Gefäßsystems führten zur Entwicklung zahlreicher antiangiogener und antitumoraler Therapien. Durch den Einsatz antiangiogen wirkender Medikamente kann der hydrostatische Druck im Tumor gesenkt werden und die intravasalen Chemotherapeutika ins Tumorinterstitium gelangen (Folkman, 1990). Im Rahmen primär systemischer Therapien lassen sich diese Veränderungen möglicherweise bildgebend darstellen.

## **1.2 Die primär systemische Therapie**

Die klassische Indikation zur primär systemischen Therapie (PST), Synonyme sind „neoadjuvante“, „präoperative“ oder „Induktions“-Therapie, war das inflammatorische Mammakarzinom und das lokal fortgeschrittene Mammakarzinom. Ziel war es, eine ausreichende lokale Tumorkontrolle zu erreichen und eine Operation in sano zu ermöglichen.

Entsprechend der aktuellen Datenlage wird der Einsatz einer primär systemischen Therapie für Patientinnen empfohlen, die postoperativ eine Indikation für eine adjuvante Therapie haben. Eine PST ist für Patientinnen zu bevorzugen, bei denen eine

brusterhaltende Therapie nicht möglich ist oder aus kosmetischen Aspekten suboptimal erscheint sowie für Patientinnen, deren Tumor Merkmale für ein gutes Ansprechen auf eine Chemotherapie trägt (niedriger bzw. kein Hormonrezeptorstatus, hohes Grading, nicht-lobuläre invasive Histologie, hohes Ki67, tumorassoziierte Lymphozyten) (Kaufmann et al., 2006; Kaufmann et al., 2007; Denkert et al., 2010).

Im Rahmen der NSABP-B18-Studie (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18) wurde der Äquieffekt der PST und der adjuvanten Chemotherapie für operable Mammakarzinome erwiesen. In dieser prospektiv randomisierten Studie erhielten 1.523 Patientinnen mit einem operablen Mammakarzinom je vier Zyklen Doxorubicin und Cyclophosphamid prä- oder postoperativ. Nach 9 Jahren konnte kein statistisch signifikanter Unterschied der Gesamtüberlebensraten (69% vs. 70%,  $p=0,8$ ) und des krankheitsfreien Überlebens (55% vs. 53%,  $p=0,50$ ) zwischen der präoperativen oder postoperativen Chemotherapie festgestellt werden (Fisher et al., 1997). Sowohl das klinische als auch das histologische Ansprechen korrelierte signifikant mit der Prognose der Patientinnen. Die histologische Komplettremission lag bei 13% in der präoperativ behandelten Gruppe und wurde auch als prädiktiver Faktor für das Überleben angesehen (Wolmark et al., 2001).

In den folgenden Studien wurde zunehmend der Einsatz von Taxanen in alternativen Studienprotokollen untersucht. Die ECTO-Studie (European Cooperative Trial in Operable Breast Cancer) verwendete Taxane in der prä- und postoperativen Chemotherapie. Insgesamt wurden 1.355 Frauen randomisiert. Im primär systemischen Untersuchungsbereich konnte eine histologische Komplettremissionsrate (inklusive in-situ Komponenten) von 23% in der Kombination von Paclitaxel mit einem Anthrazyklin gefolgt von CMF erreicht werden (Gianni et al., 2002).

Auch die GeparDuo-Studie (von Minckwitz et al., 2002), aus der Patientinnen in der vorgestellten Arbeit rekrutiert wurden, verwendete präoperativ ein taxanhaltiges Therapieschema in kombinierter dosisdichter oder sequenzieller Abfolge. Von den 913 Patientinnen mit einem operablen Mammakarzinom (T2-3) erreichten im sequentiellen Arm 14,3% Patientinnen ( $n=63$ ) und im dosisdichten Kombinationsarm 7,0% ( $n=31$ ;  $p=0,001$ ) eine histologische Komplettremission. Als prädiktive Faktoren für eine histologische Komplettremission wurde das sequentielle Therapieschema, eine schlechte Tumordifferenzierung (Grading) und der negative Hormonrezeptorstatus verifiziert. Das klinische Ansprechen war im sequentiellen Arm (85,0%) signifikant höher



als im dosisdichten Therapiearm (75,2%,  $p=0,001$ ). Damit bewährten sich die Taxane mit sehr hohen Ansprechraten in einem sequentiellen Therapieschema.

Die dreiarmlige NSABP-B27-Studie untersuchte den Effekt des Taxans Docetaxel in sequentieller Folge mit Doxorubicin/Cyclophosphamid (AC) hinsichtlich der Gesamtüberlebensraten und des krankheitsfreien Überlebens. Die Rate der histologischen Komplettremissionen konnte durch die Zugabe von Docetaxel verdoppelt werden und war ein signifikanter Parameter für das Gesamtüberleben unabhängig vom Behandlungsschema ( $p<0,0001$ ) (Bear et al., 2003). Nach einer Nachbeobachtungszeit von sechs Jahren zeigte sich jedoch in keinem der Studienarme ein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben bzw. krankheitsfreien Intervall. Die Subgruppenanalyse erwies eine signifikante Verlängerung des krankheitsfreien Intervalls bei einer präoperativen Gabe von Docetaxel für Patientinnen, die unter AC eine klinische Partialremission erreicht hatten ( $p=0,007$ ) (Bear et al., 2006).

Die Wirksamkeit der endokrinen Therapieformen bei der postmenopausalen Patientin mit einem hormonrezeptorpositiven Mammakarzinom ist in der Adjuvanz bewiesen und die adjuvante Gabe von Tamoxifen galt lange Zeit als Goldstandard (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group, 1998). Die Oxford-Metaanalyse 2000 zeigte, dass die Effektivität einer adjuvanten Chemotherapie mit dem Alter abnimmt und dass vor allem Patientinnen mit einem hormonrezeptornegativen Tumor von einer (präoperativen) Chemotherapie profitieren (Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group, 2005). Viele Chemotherapieregime haben ein vorhersagbares Nebenwirkungsprofil, das für ältere oder durch Begleiterkrankungen eingeschränkte Patientinnen nicht tolerabel ist. Für diese Patientinnen scheint bei positivem Hormonrezeptorstatus des Tumors die primäre endokrine Therapie eine effektive Alternative zu sein (von Minckwitz, 2008). Ebenso profitieren Patientinnen von einer primär endokrinen Therapie, bei denen der Tumor primär inoperabel, eine brusterhaltende Therapie nicht möglich ist oder kosmetisch suboptimal erscheint (Kaufmann et al., 2007).

Studien zeigten die Effektivität von Tamoxifen in der Primärbehandlung bei lokal fortgeschrittenen Mammakarzinomen (Tan et al., 2001; Mauriac et al., 2002) und die Vorteile in der Behandlung der älteren Frau (Robertson et al., 1992; Mustacchi et al., 2003). Mit dem Nachweis der Überlegenheit von Aromataseinhibitoren über Tamoxifen in der adjuvanten Situation (ATAC Trialist' Group, 2008, Coombes et al., 2007; Coates et al., 2007) wurden auch für die primäre Situation Studien aufgelegt, die die

Ergebnisse einer endokrinen Therapie mit Aromatasehemmer im Vergleich zu Tamoxifen prüften (Eiermann et al., 2001; Koeberle und Thürlimann, 2007; Dixon et al., 2001; Rasmussen et al., 2008; Dowsett et al., 2008; Smith et al., 2005; Cataliotti et al., 2006; Barnadas et al., 2009; Tubiana-Hulin et al., 2007). Zusammenfassend sprechen die Daten dieser Studien hinsichtlich des Therapieansprechens und der Rate an brusterhaltenden Operationen für den Einsatz der Aromataseinhibitoren. Dieses Ergebnis wurde durch eine Meta-Analyse mit 1160 Patientinnen, die die höheren klinischen und sonographischen Ansprechraten sowie mehr brusterhaltende Operationen unter Aromataseinhibitoren im Vergleich zur Gabe von Tamoxifen präoperativ nachwies, unterstrichen (Seo et al., 2009).

### **1.3 Die histologische Komplettremission**

Aus diesen Studien ging die histologische Komplettremission als prädiktiver Faktor für das Überleben der Patientinnen hervor, so dass im Rahmen des 2. Deutschen Konsensus-Workshops 06/1999 in Frankfurt/Gravenbruch die histologische Komplettremission als wichtigster Surrogatmarker für das Überleben definiert wurde und die Erhöhung der histologischen Komplettremissionsrate Hauptziel in weiteren Studien wurde (Kreienberg R, 1999). Dabei richtete sich das Ziel der Forschung auf die Vorhersage von Ansprechen oder Resistenz vor Beginn der Therapie. Patientinnen mit einer niedrigen Chance auf eine histologische Komplettremission und auch mit einer geringen Wahrscheinlichkeit auf ein sinnvolles klinisches Ansprechen können vor unnötiger Toxizität verschont werden (Mamounas, 2006). Bei einem negativen Hormonrezeptorstatus ist das Erreichen einer histologischen Komplettremission unter einer PST drei- bis viermal wahrscheinlicher als bei einem hormonrezeptorpositiven Tumor (Gianni et al., 2002; von Minckwitz et al., 2005; Untch et al., 2002; Kaufmann et al., 2007; Gralow et al., 2008; Costa et al., 2010). Tumoren, die absolut keinen Hormonrezeptor aufweisen, sind besonders sensitiv auf eine präoperative Chemotherapie, können eine histologische Komplettremissionsrate von 40% erreichen. Allerdings wurde auch von einem kürzeren Gesamtüberleben der Patientinnen mit diesem Phenotyp berichtet, im Vergleich zu Patientinnen mit einem hormonrezeptorpositiven Tumor (Kaufmann et al. 2007). Einige Studien fanden eine niedrigere Ansprechraten für das operable lobulär invasive Mammakarzinom (Untch und von Minckwitz, 2009). Der HER-2/neu-Status ist einer der am häufigsten untersuchten biologischen Marker hinsichtlich der histologischen Komplettremission. Derzeit gibt es

aber keine klare Evidenz, dass HER-2/neu-positive Tumoren besser auf eine Anthrazyklin- und Taxanhaltige PST ansprechen als HER-2/neu-negative (Loible et al., 2005; Bozzetti et al., 2006). HER-2/neu-negative Tumore scheinen sich besser mit einer Taxan-, denn einer Anthrazyklinhaltigen Chemotherapie therapieren zu lassen (Learn et al., 2005). Generell scheint eher eine Kombination biologischer Marker notwendig zu sein, um die Chance auf eine histologische Komplettremission besser vorherzusagen. Zusätzlich zur Hormonrezeptornegativität korrelierte in der Studie von Tan et al. in der multivariaten Analyse die HER-2/neu-Überexpression und der negative Lymphknotenstatus mit der histologischen Komplettremission (Tan et al., 2009). Neben der Auswahl der Patientinnen, die von einer primär systemischen Therapie profitieren, ist auch die Beurteilung des Ansprechens des Tumors auf die Therapie für die Prognose der Patientin und die weitere Therapieplanung wichtig.

#### **1.4 Therapiemonitoring der primär systemischen Therapie**

Der Vorteil einer PST liegt in der frühen Erkennung eines Therapieansprechens oder Therapieversagens und der Möglichkeit einer „maßgeschneiderten“ Therapie hinsichtlich des Ansprechens und der Berücksichtigung biologischer oder histologischer Merkmale. Mit dem Nachweis des Tumoransprechens unter einer primären systemischen Therapie steht ein „In-vivo-Chemosensitivitätstest“ zur Verfügung, der die Wirksamkeit der Behandlung anhand des klinischen und histologischen Tumoransprechens darzustellen vermag. Ein „sichtbarer“ Erfolg kann zur Motivation der Patientin hinsichtlich langer Therapieverläufe und zur besseren Akzeptanz der Nebenwirkungen genutzt werden. Die Identifikation therapieresistenter Tumore ermöglicht es, ineffektive Substanzen abzusetzen und toxische Nebenwirkungen zu vermeiden. Die Umstellung auf nicht-kreuzresistente Kombinationen senkt das Risiko von Metastasen unter ineffektiver Chemotherapie und reduziert den Zeitverlust bis zur definitiven Operation. Diese Hypothese wurde in der GeparTRIO-Studie und im Aberdeen-Trail aufgegriffen, wo nach ausbleibender klinischer Remission die PST mit einer nichtkreuzresistenten Chemotherapie fortgesetzt wurde (von Minckwitz et al., 2005; Hutcheon et al., 2003). Daten aus der GeparTRIO-Studie demonstrieren aber auch einen vergleichbaren Benefit für Patientinnen mit einem lokal fortgeschrittenen Mammakarzinom (von Minckwitz et al., 2006; Costa et al., 2010).

Das Ziel der Verlaufskontrolle liegt allerdings nicht nur im möglichst frühzeitigen Nachweis der Remission, sondern auch in einer genauen Abschätzung des

Residualtumors und zur Festlegung des angemessenen Operationsverfahrens. Bei früher klinischer Komplettremission gewährleistet die rechtzeitige Markierung des Tumorbettes eine spätere sichere histologische Beurteilung am Operationspräparat. Bei der Beurteilung des Therapieeffekts und Planung des Operationsverfahrens sind die unterschiedlichen Regressionsformen von Tumoren zu beachten. Eine konzentrische Regredienz bis zum Verschwinden des Tumors ist genauso denkbar, wie das „Ausdünnen“ des Tumors (Bauerfeind et al., 2005). Klinisch und apparativ ist fraglicher Resttumor von therapiebedingtem narbig indurierterm Gewebe teilweise schwer zu unterscheiden. Andererseits könnte der Patientin die Operation theoretisch sogar erspart werden, wenn diagnostische Methoden zur Verfügung stünden, die eine Komplettremission sicher nachweisen könnten. Zur Zeit fehlen allerdings valide Daten, wieweit die klinische Untersuchung und die Bildgebung dem Operateur Aufschluss über die histologischen Veränderungen geben können (Ring et al., 2003). Das Therapiemonitoring erfolgt meist durch Palpation, Mammographie (Junkermann und Fournier, 1997) oder B-Bild-Sonographie (von Minckwitz et al., 1999 und 2005) - Methoden, die die Tumormorphologie beurteilen. Im Falle unterschiedlicher Ergebnisse, Multizentrität oder lobulär invasiver Karzinome kann die quantitative MRT-Untersuchung hilfreich sein und die Signalkurven im Therapieverlauf verifiziert werden (Feldmann et al., 1993; Kurtz et al., 1996; Fischer et al., 1999; Manton et al., 2006; Peintinger et al., 2006; Chagpar et al., 2006; Ah-See et al., 2008). In einzelnen Studien wurde auch die dreidimensionale Sonographie (Bader et al., 1994) oder die MRT-Spektroskopie (Knopp et al., 1993) zur Verlaufskontrolle während einer PST vorgestellt. Alternative Methoden, wie die Fluordesoxyglukose-Positronenemissionstomographie (FDG-PET) oder die Mammaszintigraphie ermöglichen die Bildgebung metabolischer Prozesse, da die maligne Transformation von Zellen häufig mit einer erhöhten metabolischen Aktivität assoziiert ist (Laubenbacher et al., 1998; Schelling et al., 2000; Tiling et al., 2001; Zangheri et al., 2004; Mankoff et al., 2005; Rousseau et al., 2006). Die Dopplersonographie bietet sowohl die morphologische als auch vaskuläre Analyse des Tumors (Huber et al., 2000; Singh et al., 2005). Die zusätzliche Verwendung von Ultraschallkontrastmitteln verbessert die Darstellung intra- und peritumoraler Gefäße mit langsamen Fließgeschwindigkeiten (Huber et al., 1998; Forsberg et al., 2008). Die Verwendung und Auswertung des kontrastverstärkten Ultraschalls im Rahmen einer PST ist Gegenstand dieser Arbeit und wird mit der Palpation, Mammographie und Sonographie im Diskussionsteil verglichen.

## 1.5 Die kontrastverstärkte Dopplersonographie

### 1.5.1 Grundlagen der Dopplersonographie

Der kontrastverstärkte Ultraschall basiert auf der Farbdopplersonographie bzw. der Power Doppler Sonographie. In der Dopplersonographie nutzt man die Eigenschaft von Schallwellen aus, ihre Frequenz zu ändern, wenn sie auf ein bewegtes echogenes Medium treffen. Die Frequenzverschiebung der Ultraschallwellen wird in der Dopplerhüllkurve kodiert:  $V \text{ (m/s)} = fD \text{ (Hz)} \times c \text{ (m/s)} / f_0 \text{ (Hz)} \times 2 \times \cos \alpha$  ( $fD$  = Frequenzverschiebung,  $c$  = Schallgeschwindigkeit,  $f_0$  = Frequenz des Dopplerschallkopfes,  $\alpha$  = Winkel der Schallwellen zum Blutgefäß oder auch Dopplerwinkel) und erlaubt die Wiedergabe quantitativer Flussmerkmale, wie der systolischen Maximalgeschwindigkeit ( $V_{\max}$ ), der enddiastolischen Maximalgeschwindigkeit ( $V_{\min}$ ) und der Indizes für den peripheren Gefäßwiderstand: Resistance Index  $RI = V_{\max} - V_{\min} / V_{\max}$  und Pulsatilitätsindex  $PI = V_{\max} - V_{\min} / V_{\text{mean}}$ . In der Farbdopplersonographie wird die Frequenzverschiebung des Blutflusses farbkodiert. Dies ermöglicht das rasche Auffinden von Gefäßen, die Darstellung der Gefäßarchitektur und der Fließrichtung in einem Gefäß, die gezielte Platzierung des gepulsten Messvolumens und winkelkorrigierte Messungen. Der Power Doppler-Modus (Color-Power-Angiographie oder Color Power Angiomode) differenziert und farbkodiert Ultraschallsignale aus Gewebe oder Blut nach deren Signalintensität (Amplitude). Die Amplitude wird durch die Menge der korpuskulären Blutzellbestandteile, in erster Linie Erythrozyten, bestimmt und unabhängig von der Flussrichtung und dem Winkel von Ultraschallstrahl und Gefäß sichtbar gemacht. Kalkulationen unter Berücksichtigung des Dopplerwinkels, wie im Farbdoppler, sind nicht notwendig. Durch eine wesentlich höhere Sensitivität lässt der Power Doppler auch sehr langsame Fließgeschwindigkeiten zur Darstellung kommen und erlaubt eine bessere Darstellung von Flussignalen, auch in tief gelegenen Brustregionen durch Lokalisation der Blutzelldichte und nicht der Fließgeschwindigkeit. Daraus ergibt sich, dass in der vorliegenden Arbeit der Power Doppler-Modus verwendet wurde. In den Arbeiten von Blohmer und Grineisen erfolgte der Nachweis, dass der Power Doppler-Modus dem Farbdoppler im Nachweis von Tumorgefäßen im Mammakarzinom als überlegen eingestuft wird. Es konnten signifikant mehr Gefäße vor allem mit langsamen Fließgeschwindigkeiten detektiert werden (Blohmer, 2000; Grineisen, 2004).

### 1.5.2 Ultraschallkontrastmittel Levovist®

Ultraschallkontrastmittel sind feinste Gasbläschen, die mit dem Blutfluss transportiert werden. Die einfallenden Schallwellen werden an der Oberfläche der Gasbläschen reflektiert und Erreichen eine hohe Echogenität, besonders bei langsamen Fließgeschwindigkeiten und verbessern die Darstellung des intravasalen langsamen Blutflusses. Aufgrund der Partikelgröße erreichen Ultraschallkontrastmittel auch das Kapillarbett. Das Signal hängt von der Konzentration des am Ort anwesenden Kontrastmittels ab (Schlief und Baur, 1996). In der vorliegenden Dissertationsschrift wurde das seit 1996 in Deutschland zugelassene Kontrastmittel Levovist® der Firma AG Schering Berlin verwendet. Es ist eine mikrokristalline Suspension aus 99,9% Galaktose und 0,1% Palmitinsäure, die nach Mischen und Aufschütteln mit physiologischer Kochsalzlösung und dem Einschluss von Luftbläschen entsteht. Die Mikrobläschen sind im Median 5µm (2-8µm) groß. Beide Stoffe sind natürliche Nahrungsbestandteile. Sie werden bis auf die seltenen Fälle einer Galaktosämie problemlos vertragen. Galaktose wird hepatisch metabolisiert und als Galaktose-1-Phosphat in der Leber gespeichert oder nach Isomerisierung zu Glukose-1-Phosphat und Metabolisierung zu CO<sub>2</sub> verstoffwechselt. Die Halbwertszeit beträgt im Plasma 11 Minuten (Angaben der Firma AG Schering). Durch die Palmitinsäure in Levovist® wird die Stabilität der Mikrobläschen so stark erhöht, dass eine Leber- und Lungenkapillarpassage auch mehrmals möglich ist. Etwa 20 bis 25 Sekunden nach der peripher intravenösen Injektion steigt die Dopplersignalintensität um 10 bis 20 Dezibel an. Der signalverstärkende Effekt bleibt bis zu 8 Minuten erhalten (Schlief und Bauer, 1996; Kedar et al., 1996). Der kontrastverstärkte Ultraschall bietet die Möglichkeit der computerassistierten Auswertung und Quantifizierung der Kontrastmittelkinetik. Die Echosignale, die durch die Kinetik des Kontrastmittels im Tumorgefäß entstehen, werden aufgezeichnet und nach Digitalisierung als Füllungskurven dargestellt (Huber et al., 1994; Kedar et al., 1996; Huber et al., 1998).

## 1.6 Herleitung der Aufgabenstellung

Seit 1993 wurden von Prof. Dr. med. J.-U. Blohmer an der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Campus Charité Mitte, Charité Universitätsmedizin Berlin, Studien zu Differentialdiagnose, Prognoseeinschätzung und Therapiemonitoring des Mammakarzinoms anhand der Durchblutungsdiagnostik der Brust durchgeführt. Dabei konnten mit der farbkodierten Dopplersonographie signifikante Unterschiede der Dopplerparameter in der Differentialdiagnose festgelegt werden (Blohmer et al., 1998). Im Therapiemonitoring wurde mit der Farbdopplersonografie gezeigt, dass Änderungen der Durchblutung, speziell der Gefäßzahl unter einer PST auftreten und der klinischen Remission entsprechen. Die Schwierigkeit dieser Methode war, die Ergebnisse zu reproduzieren und zu objektivieren, da vom Untersucher unabhängige Verfahren zur Quantifizierung der messbaren Tumordurchblutung fehlten (Blohmer et al., 1999). Nach der Einführung des hochfrequenten Power Doppler Modus entwickelte die Arbeitsgruppe nach Zulassung des Ultraschallkontrastmittels Levovist® der Schering AG 1996 die Videodensitometrie. Die Implementierung der computerassistierten automatisierten Analyse ermöglichte die Definition reproduzierbarer Parameter der Kontrastmittelkinetik und des Blutflusses und somit eine objektive Auswertung und Berechnung der Ergebnisse. Mit einer Spezifität von bis zu 92% konnte in der sich anschließenden Studie sicher zwischen benignen und malignen Herdbefunden unterschieden werden (Blohmer et al., 1999 und 2006). Im Rahmen des Therapiemonitoring wurde eine kleine Gruppe von 6 Patientinnen mit lokal fortgeschrittenem Mammakarzinom mit der Videodensitometrie vor und nach einer primären Chemotherapie untersucht. Es zeigte sich, dass sich bei klinischer Remission die Zeit-Helligkeits-Parameter denen benignen Befunde annäherten.

In der vorliegenden Dissertationsschrift wurde diese Untersuchung aufgegriffen und Patientinnen, die eine primäre systemische Chemo- oder Hormotherapie erhielten, mit der Videodensitometrie vor, während und nach der Therapie untersucht. Ziel war es, Parameter der Füllungskurven festzulegen, die eine histologische Komplettremission, klinische Komplettremission oder klinisches Ansprechen vorhersagen können, und den Zeitpunkt zu bestimmen, an dem Aussagen über ein Ansprechen möglich sind. Es sollten die Einflussfaktoren auf die histologische Komplettremission im Untersuchungskollektiv untersucht werden und die Methode mit den derzeitigen klinischen Standards Palpation, Sonographie und Mammographie in ihrer Vorhersagekraft verglichen werden.

## 2 Patientinnen und Methoden

### 2.1 Patientinnen und eingesetzte primär systemische Therapien

Zwischen Mai 2000 und März 2001 wurden 33 Patientinnen mit lokal fortgeschrittenem Mammakarzinom primär systemisch behandelt. Die Patientinnen waren zwischen 31 und 80 Jahre (Median 59,5 Jahre) alt und erhielten nach histologischer Sicherung des Mammakarzinoms durch die Hochgeschwindigkeits- oder Vakuumbiopsie eine primär systemische Chemo- oder endokrine Therapie. Eine Fernmetastasierung wurde bei allen Patientinnen durch die Röntgenuntersuchung des Thorax, Sonographie des Abdomens und Skelettszintigraphie ausgeschlossen. Zum Therapiemonitoring wurde vor jedem Zyklus bzw. bei jeder Kontrolluntersuchung eine Palpation, Mammasonographie und die Ultraschallkontrastmittel-Videodensitometrie (USKM-VDM) durchgeführt. Die Datenerfassung erfolgte prospektiv und wurde mit dem klinischen und histologischen Ansprechen verglichen.

#### Primär systemische Therapien und sekundäre Operation

Zehn der dreiunddreißig Patientinnen erhielten im Rahmen der German Neoadjuvant Aromasin Initiative-Studie (Wolf et al., 2002) präoperativ 2 x 6 Zyklen Docetaxel (Taxotere<sup>®</sup>, Sanofi-Aventis, Berlin) 60mg/m<sup>2</sup> i.v. wöchentlich und Exemestan (Pfizer, Berlin) 25 mg per os täglich bis zur Operation (Doc/Exe).

Im GeparDUO-Studiendesign erhielten weitere 6 der untersuchten Patientinnen das sequentielle Therapieschema mit 4 Zyklen Doxorubicin 60mg/m<sup>2</sup> i.v. (Doxorubicin<sup>®</sup>) und Cyclophosphamid 600mg/m<sup>2</sup> i.v. (Endoxan<sup>®</sup> von AstaMedica, Frankfurt/Main) alle 3 Wochen gefolgt von 4 Zyklen Docetaxel 100mg/m<sup>2</sup> i.v. (Taxotere<sup>®</sup>, Sanofi-Aventis, Berlin) alle 3 Wochen und paralleler Einnahme von 20mg Tamoxifen p.o. (Tamoxifen<sup>®</sup>) täglich (AC-Doc). Sieben Patientinnen erhielten die kombinierte dosisdichte Therapie mit 4x Doxorubicin 50mg/m<sup>2</sup> i.v. und Docetaxel 75mg/m<sup>2</sup> i.v., alle 14 Tage sowie 20mg Tamoxifen p.o. täglich (ADoc).

Eine primäre endokrine Therapie erhielten 10 der rekrutierten Patientinnen im Rahmen der FEM-D-1-Studie (Paepke et al., 2001). Diese postmenopausalen Patientinnen litten an einem progesteronrezeptorpositiven lokal fortgeschrittenen Mammakarzinom, das primär nicht brusterhaltend operiert werden konnte oder inoperabel war (Tumorstadium T2-4, N0-1). Die Einnahme des Aromatasehemmers Letrozole 2,5mg täglich (Femara<sup>®</sup>,



Novartis Pharma, Basel Schweiz) erfolgte mindestens 4 und maximal 8 Monate lang, je nach klinischer und bildgebender Ansprechrate. Es wurde protokollgemäß ein monatliches Therapiemonitoring durchgeführt.

In allen Fällen schloss sich die Operation 14-21 Tage nach Beendigung der PST an. Zur Festlegung des Operationsverfahrens wurde die Tumorgroße prätherapeutisch herangezogen. Es wurden 22 (66,7%) brusterhaltende Operationen, 11 Ablationen (33,3%) sowie bei allen Patientinnen die axilläre Lymphonodektomie durchgeführt. Die histologische Aufarbeitung des entnommenen Gewebes erfolgte im Pathologischen Institut der Charité, Campus Mitte (Leitung Prof. Dietel). Die Bestimmung der histologischen Regressionsgrade erfolgte nach Sinn (Sinn et al., 1995) (Tab. 1).

Regressionsgrad 0	kein Effekt auf die systemische Therapie
Regressionsgrad 1	vermehrt Tumorsklerose mit resorptiver Entzündung und/oder deutliche zytopathische Effekte
Regressionsgrad 2	minimaler, evtl. multifokaler invasiver Residualtumor <0,5cm, weitgehend Tumorsklerose mit Verlust der Tumorkontinuität, häufig ausgedehnte intraduktale Tumorausbreitung
Regressionsgrad 3	nicht-invasiver Residualtumor, kein invasiver Tumorrest
Regressionsgrad 4	kein Resttumor

Tab. 1: Regressionsgrad nach Sinn et al.

## 2.2 Therapiemonitoring und Einschätzung der Remission

Die Untersuchungen fanden vor Beginn der Therapie, zu jedem weiteren Therapiezyklus, bzw. den monatlichen Kontrollterminen und präoperativ statt. In der klinischen Untersuchung erfolgte inspektorisch und palpatorisch die Einschätzung der Tumorgroße bzw. der Hautveränderungen. Sonographisch wurden die beiden größten aufeinanderstehenden Durchmesser des Tumors sowie die Malignitätskriterien dokumentiert. Die Untersuchung und Festlegung des klinischen und bildgebenden Remissionsgrades nach den WHO-Kriterien erfolgte durch die behandelnden Spezialisten (Tab. 2). Es schloss sich die Ultraschallkontrastmittel-Videodensitometrie an. Eine Patientin zeigte nach der zweiten Gabe des Kontrastmittels Levovist® eine

Unverträglichkeitsreaktion mit Pruritus und leichtem Exanthem am ganzen Körper. Die Symptome klangen ohne weitere Therapie wieder ab. Von weiteren Untersuchungen wurde abgesehen, um eine zunehmende Sensibilisierung zu vermeiden. Bei allen anderen Patientinnen konnte im gesamten Untersuchungsablauf Levovist® komplikationslos appliziert werden. Die Mammographien wurden in den meisten Fällen zum Zeitpunkt der Diagnose und präoperativ durchgeführt. Einundzwanzig Patientinnen stimmten mammographischen Verlaufskontrollen zu. Diese Untersuchungen wurden im Radiologischen Institut der Charité, Berlin unter der Leitung von Prof. Dr. med. Hamm durchgeführt.

Eine videodensitometrische Ausgangsuntersuchung vor Beginn der PST erhielten 24 Patientinnen. Eine Patientin wünschte keine weiteren Untersuchungen, bei einer zweiten Patientin mussten wir, wie bereits erwähnt, aufgrund von Unverträglichkeitsreaktionen nach Kontrastmittelapplikation von weiteren Untersuchungen absehen. Da sich ein Teil der Patientinnen zu Studienbeginn bereits unter primär systemischer Therapie befand (6 Patientinnen) oder diese bereits abgeschlossen hatte (3 Patientinnen), wurden bei diesen Frauen Verlaufsuntersuchungen mit der Videodensitometrie unter oder nach der PST durchgeführt. Dies ergab ein Kollektiv von 31 Patientinnen, die eine videodensitometrische Untersuchung nach Abschluss der PST erhielten. Von diesen Patientinnen konnte in 22 Fällen die Videodensitometrie vor und nach der PST verglichen werden. Von insgesamt 18 Patientinnen konnten je 4 Verlaufsmessungen für das Therapiemonitoring dokumentiert werden.

Die klinische Remission wurde nach den WHO-Kriterien beurteilt (Miller et al., 1981):

<u>Klinische Komplettremission (cCR):</u>	vollständiger Rückgang sämtlicher Tumorbefunde für mindestens 4 Wochen
<u>Klinische Partialremission (cPR):</u>	Rückgang aller messbaren Tumorparameter um mindestens 50% der initialen Größe für mindestens 4 Wochen
<u>Klinisch stabile Tumorerkrankung (cNC = „No change“):</u>	weniger als 50% Verkleinerung der Tumordimension, weniger als 25% Vergrößerung der Tumordimension in einem oder mehreren Herden für mindestens 4 Wochen
<u>Klinische Tumorprogression (cPD = „Progressive Disease“):</u>	Tumorzunahme von mehr als 25% in einem oder mehreren Tumorherden oder das Auftreten von neuen Tumormanifestationen

Tab. 2: Klinischer Remissionsgrad

## Übersicht über die Patientinnen- und Tumorcharakteristik:

Pat.	Alter	Meno- pause	T	N	Grading	ER	PgR	c-erb	Histologie	PST	U	OP	CRem	PReg
1	52	post	2	0	2	+	+	3	DCI	Doc/Exe	5	BET	3	2
2	55	post	2	0	1	+	+	1	DCI	Doc/Exe	7	BET	2	1
3	58	post	2	0	3	-	-	0	DCI	Doc/Exe	1	BET	2	1
4	59	post	2	0	3	-	-	2	DCI	Doc/Exe	4	M	3	1
5	59	post	2	0	1	+	+	1	LCI	Doc/Exe	1	M	2	1
6	60	post	3	0	3	+	+	3	DCI	Doc/Exe	12	M	3	0
7	62	post	2	1	2	+	-	3	DCI	Doc/Exe	10	BET	1	4
8	65	post	4	0	2	+	+	3	DCI	Doc/Exe	13	M	2	1
9	68	post	2	0	1	+	+	2	DCI	Doc/Exe	2	BET	2	1
10	70	post	2	1	2	+	+	2	LCI	Doc/Exe	6	M	2	1
11	32	prä	2	1	3	+	+	3	DCI	ADoc	5	BET	1	4
12	39	prä	2	0	2	+	+	2	LCI	ADoc	3	BET	2	2
13	51	prä	2	1	2	+	+	2	DCI	ADoc	3	BET	2	2
14	55	post	3	1	3	+	+	2	DCI	ADoc	5	BET	2	1
15	56	post	2	1	2	+	+	0	DC/LCI	ADoc	5	M	2	0
16	61	prä	3	2	3	+	+	3	DCI	ADoc	1	BET	1	2
17	64	post	2	0	2	-	-	3	DCI	ADoc	2	M	1	4
18	31	prä	2	0	3	+	-	3	adenoid-zyst.	AC-Doc	8	BET	1	2
19	36	prä	2	0	3	-	-	0	DCI	AC-Doc	3	BET	1	4
20	43	prä	3	1	3	+	+	2	DCI	AC-Doc	5	BET	1	4
21	59	post	3	1	3	-	-	3	DCI	AC-Doc	4	BET	1	4
22	60	post	2	1	1	+	-	3	DCI	AC-Doc	2	BET	2	1
23	64	post	3	1	2	+	-	3	LCI	AC-Doc	6	BET	1	4
24	57	post	2	0	2	+	+	1	LCI/Siegelring	L	4	BET	2	1
25	59	post	4	0	1	+	+	3	DCI	L	2	BET	3	1
26	65	post	2	0	2	+	+	1	DCI	L	3	BET	2	0
27	65	post	2	1	1	+	-	0	LCI	L	9	BET	2	1
28	66	post	2	1	3	+	-	3	DCI	L	4	M	4	0
29	72	post	2	0	3	+	+	3	DCI	L	4	M	2	1
30	73	post	3	0	2	+	+	3	DCI	L	2	BET	1	1
31	73	post	2	1	2	+	-	0	DCI	L	4	BET	2	1
32	76	post	4	1	2	+	-	0	DCI	L	6	M	2	0
33	80	post	2	1	2	+	+	2	DCI	L	2	M	3	1

Tab. 3: prä – prämenopausal, post – postmenopausal, ER – Östrogenrezeptorstatus, PgR – Progesteronrezeptorstatus, + positiv, - negativ, DCI – invasiv duktales Karzinom, LCI – invasiv lobuläres Karzinom, adenoid-zystisches Karzinom, Doc/Exe – Docetaxel/Exemestan, ADoc – Doxorubicin/Docetaxel, AC-Doc – Doxorubicin/Cyclophosphamid-Docetaxel, L – Letrozole, BET – brusterhaltende Therapie, M – Mastektomie, U – Anzahl der Untersuchungen, CRem – Klinischer Remissionsgrad, PReg – histologischer Regressionsgrad

### 2.3 Ultraschallkontrastmittel-Videodensitometrie

Für diese Studie wurde das Ultraschallgerät Logic 700 von Kranzbühler mit dem entsprechenden Linearschallkopf LA-39 (12 MHz) eingesetzt. Die Patientin lag auf der Untersuchungsliege in Rückenlage. Zu Beginn wurde im B-Bild-Modus das Mammakarzinom dargestellt. Es erfolgte die Dokumentation der Tumorgroße, indem die zwei größten senkrecht aufeinanderstehenden Durchmesser gewählt wurden. Danach wurde das Power Doppler-Fenster - Region Of Interest (ROI) – auf den Herdbefund gelegt. Zur Power Doppler-Messung wurde eine maximale Farbpriorität, minimaler Farbfilter, eine hohe Pulswiederholungsfrequenz (PRF) gewählt. Das Power Doppler-Fenster wurde der Größe der betreffenden Läsion angepasst und die Tumorgefäße dargestellt. Bei allen Patientinnen ließen sich Gefäße des Herdbefundes im Power Doppler-Modus nachweisen. Vor Beginn der Messung erfolgte die maximale Farbverstärkung - Color Gain - und die Reduktion soweit, dass gerade noch ein leises Farbrauschen zu erkennen war. Diese individuelle Einstellung wurde während der gesamten Untersuchung beibehalten.

Das Ultraschallkontrastmittel Levovist<sup>®</sup> wurde anschließend intravenös als Bolus über 5-10 Sekunden in einer Konzentration von 300 mg/ml (7 ml Lösung) in die Kubitalvene injiziert. Mit dem Schallkopf wurde während der Untersuchung jeglicher Druck auf das Gewebe vermieden. Die Patientin wurde angehalten, während der Untersuchung nicht zu sprechen und möglichst flach in den Bauch zu atmen, um Artefakte durch Atemexkursionen und Stimmfremitus zu vermeiden. Die gesamte Untersuchung dauerte ca. 2½ Minuten und wurde auf ein S-VHS-Videoband aufgenommen.

#### Auswertung der Videodensitometrie

Zur Auswertung der aufgezeichneten Videosequenzen ist eine kommerziell erhältliche Hard- und Software notwendig. Als Betriebssystem wurde Microsoft Windows<sup>®</sup> 95 in der Revision B verwendet. Zusätzlich waren DirectX<sup>®</sup> in der Version 5.0 und Direct Media<sup>®</sup> in der Version 6.31 installiert. Als Videoschnittkarte kam jeweils das Modell AV Master 98 von Fa. FAST Multimedia, München, Deutschland zum Einsatz. Das Auswertungsprogramm wurde mit dem C++ - Compiler der Visual Studio Version 6.0 Standard Edition von Firma Microsoft, Redmond, Washington, USA entwickelt. Obwohl die erstellten Kurven mit der Software direkt auszudrucken waren, wurden sie zur einfacheren Weiterverarbeitung in Microsoft Excel<sup>®</sup> 97 erstellt. Die Verarbeitung des

Videosignals erfolgte online, das bedeutet: das Video wurde während der Laufzeit digitalisiert. Hierbei wurde 25mal in der Sekunde aus dem Videosignal ein Einzelbild geschnitten und in digitaler Form abgelegt. Das Signal der Videoschnittkarte wurde unmittelbar in den Bildschirmspeicher geschrieben. Die Software kopierte das aktuelle Einzelbild in den Arbeitsspeicher zur schnelleren Durchführung der Berechnungen. Danach erfolgte die Auswertung des Einzelbildes. Das Resultat wurde anschließend zur Visualisierung zurück in den Bildschirmspeicher geschrieben und als digitalisiertes Video abgespielt.

Ein Digitalvideo ist die schnelle Abfolge einzelner Computergrafiken. Eine Computergrafik setzt sich aus einer definierten Anzahl von Bildpunkten (Pixel) zusammen. Die Pixel sind rasterförmig angeordnet. Jedes Pixel hat drei Werte, die die Farbinformation verschlüsseln. Jede Farbe setzt sich aus den drei Grundfarben Rot, Grün und Blau (RGB) zusammen. Durch das Prinzip der additiven Farbmischung der drei Grundfarben ergibt sich die Farbe des Pixels. Diese Art der Farbgestaltung wird RGB-Modus genannt. Eine Farbe ist umso heller, je höher der Anteil einer einzelnen Farbkomponente ist. Wenn alle drei Farbkomponenten den Maximalwert von 255 annehmen, resultiert daraus Weiß, wenn alle drei Farbkomponenten den Minimalwert von 0 haben, resultiert daraus Schwarz. Grautöne zeichnen sich durch gleiche Anteile der einzelnen Farbkomponenten aus. Andere Farben werden durch Überwiegen einzelner Farbkomponenten gemischt. Im Videospeicher stehen drei Zahlen zwischen 0 und 255, die echte Farbe liegt in einer Tabelle, der Palette. Die Zahl im Videospeicher zeigt nur die Position des echten Farbwertes in dieser Tabelle an.

Zur Auswertung müssen die informationstragenden Pixel von nicht informationstragenden Pixel getrennt werden, das heißt, dass nur die Information des farbigen Power Doppler-Signals gespeichert und das B-Bild und weitere nicht relevante Bildschirminformationen herausgefiltert werden. Die Trennung erfolgt über den Farbcharakter der einzelnen Pixel. Das Power Doppler-Signal unterscheidet sich vom B-Bild durch seine spezifische Farbigkeit. Der Filterprozess stellt fest, ob ein Pixel einem Dopplersignal entspricht. Jeder einzelne Bildpunkt wird in seine Grundfarben Rot, Grün, Blau zerlegt. Die Überprüfung auf Gültigkeit erfolgt über den Farbcharakter der Bildpunkte. Die Farbkomponenten müssen über einem Minimalwert liegen. Liegen sie darunter, handelt es sich um einen schwarzen oder sehr dunklen Bereich. Dieser Wert wird auf Null gesetzt und geht nicht in die Auswertung ein. Als nächstes wird die Differenz zweier Farbkomponenten ermittelt. Ist diese Null, handelt es sich um einen

grauen Pixel (B-Bild). Die Werte dieser Farbkomponenten werden auch auf Null gesetzt und erscheinen in der Bildschirmwiedergabe schwarz. Ist der Wert von der Filterprozedur als gültig gewertet worden, geht er in die Auswertung des Einzelbildes, d. h. in die Quantifizierung des Dopplersignals ein.

Nach Injektion des Kontrastmittels kommt es zum Anstieg des Power Doppler-Signals, welcher sowohl als Zunahme der Gesamthelligkeit, also der Farbwerte, als auch als Zunahme der Fläche, der Pixelzahl, dargestellt wird. Zur Auswertung liegen die Einzelbilder im Arbeitsspeicher vor. Diese werden nummeriert. Gleichzeitig wird die Zeit zugeordnet. Der gesamte Auswertungsbereich eines Bildes wird rasterförmig, Pixel für Pixel, abgetastet. Die Helligkeit wird in „RGB“ angegeben. Ein Pixel mit z.B. der Farbe Orange setzt sich aus den Farbkomponenten Rot (255 RGB), Grün (128 RGB) und Blau (15 RGB) zusammen. Durch Addition der RGB-Werte ergibt sich ein Helligkeitswert 398 RGB. Auf diese Art werden alle gültigen Bildpunkte quantifiziert und in ein Messwertfeld eingetragen. In einem anderen Wertefeld wird die dazugehörige Zeit abgelegt.

### Erstellung der Füllungskurven

Im nächsten Schritt werden aus den Wertefeldern anhand der Messwerte und der dazugehörigen Zeit die Füllungskurven konstruiert. Hierfür wird die Summe der Helligkeitswerte auf der Y-Achse eines Diagramms eingetragen, die dazugehörige Zeit auf der X-Achse (Abb. 1). Der Export der gewonnenen Daten erfolgt zur weiteren Verarbeitung in einem MS Excel<sup>®</sup> - kompatiblen Dateiformat. Die Helligkeit-Zeit-Kurven lassen sich nun auch graphisch darstellen. Aus diesen Kurven werden die nachfolgend aufgeführten charakteristischen Parameter bestimmt (Tab. 4), die der weiteren statistischen Analyse zur Verfügung stehen.

**Helligkeitsparameter:**

B0 prämax:	Ausgangsniveau
B10% prämax:	10% der maximalen Helligkeit während den Anflutens
B90% prämax:	90% der maximalen Helligkeit während den Anflutens
Bmax:	Maximale Helligkeit
B90% postmax:	90% der maximalen Helligkeit während den Auswaschens
B10% postmax:	10% der maximalen Helligkeit während den Auswaschens
B0 postmax:	Erreichen des neuen Basisniveaus

**Zeitparameter:**

T(B0 prämax):	Start der Kontrastmittelanflutung
T(B10% prämax):	Anflutungszeit bis zum Erreichen von B10% prämax
T(B90% prämax):	Anflutungszeit bis zum Erreichen von B90% prämax
T(Bmax):	Zeit bis zum Erreichen der maximalen Helligkeit
T(B90% postmax):	Abflutungszeit bis zum Erreichen von B90% postmax
T(B10% postmax):	Abflutungszeit bis zum Erreichen von B10% postmax
T(B0 postmax):	Zeit bis zum Erreichen des neuen Basisniveaus

Tab. 4: Charakteristische Kurvenparameter der Füllungskurven

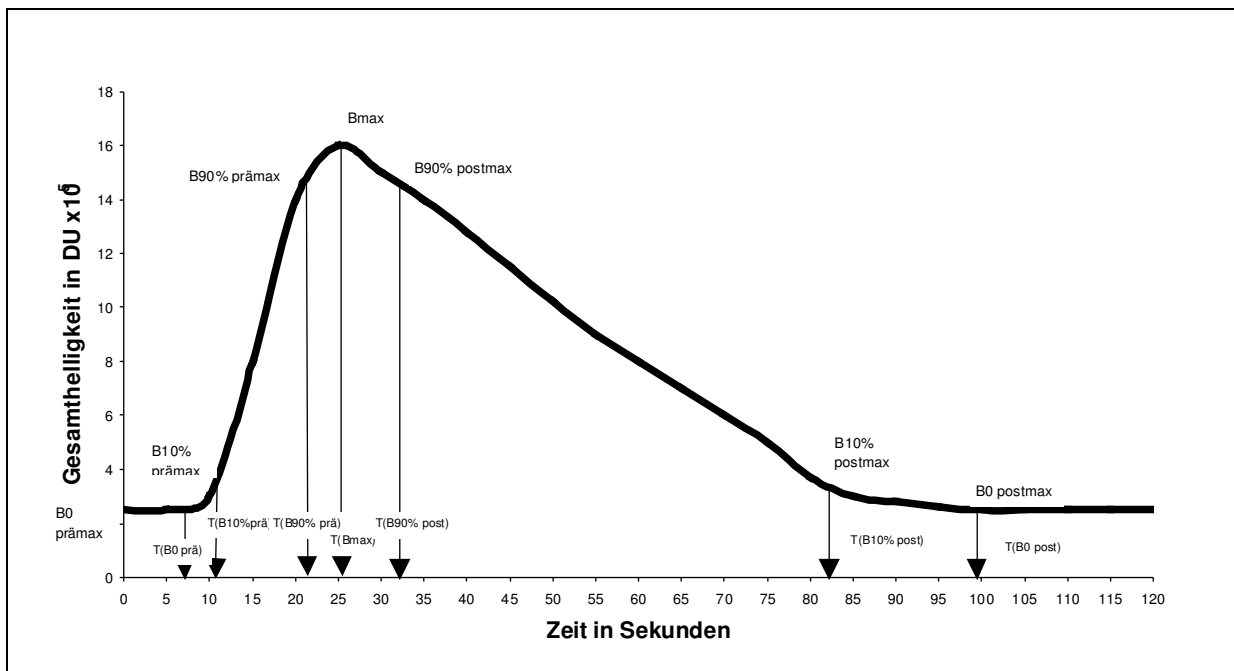


Abb. 1: Parameter der Helligkeit-Zeit-Kurve



## 2.4 Statistische Analyse

Die Auswertung der Daten erfolgte mittels der deskriptiven und konfirmatorischen Datenanalyse der Statistikprogramme SPSS und SAS.

Es erfolgte die Bestimmung der charakteristischen Kurvenparameter der Ultraschallkontrastmittel-Videodensitometrie vor und nach der primär systemischen Therapie im Gesamtkollektiv. Von diesen Parametern wurden der Median und die Quartile ermittelt. Die graphische Darstellung erfolgte durch Liniendiagramme.

Auf Veränderungen, die zwischen den Messungen vor und nach der PST auftraten, wurde mit dem Wilcoxon-Test für zwei verbundene Stichproben geprüft. In allen statistischen Tests wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0,05$  gewählt und damit wurden p-Werte kleiner als 0,05 als signifikant betrachtet.

Die Kurvenparameter hinsichtlich des histologischen und klinischen Ansprechens wurden jeweils für zwei Gruppen (histologische Komplettremission vs. keine histologische Komplettremission; klinische Komplettremission vs. keine klinische Komplettremission; klinisches Ansprechen vs. Therapieresistenz) vor und nach der PST mit dem Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben verglichen. Zur graphischen Darstellung wurden Liniendiagramme genutzt. In einem weiteren Schritt wurde die Differenz aus den Messungen vor und nach der PST einer Untersuchungsgruppe gebildet und die Gruppen ebenfalls mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen. Für charakteristische Kurvenparameter (z.B. Kurvenmaxima oder sehr signifikante Testergebnisse) wurden anhand von ROC-Kurven jeweils cut-off-Werte bestimmt, die eine möglichst hohe Sensitivität und Spezifität erreichten.

Für die Untersuchung des Therapieverlaufs wurden die Kurvenverläufe während der primär systemischen Therapie in jeder der Gruppen des histologischen und klinischen Ansprechens (histologische Komplettremission vs. keine histologische Komplettremission; klinische Komplettremission vs. keine klinische Komplettremission; klinisches Ansprechen vs. Therapieresistenz) untersucht. Die Prüfung auf signifikante Veränderungen innerhalb jeder Gruppe erfolgte mit dem Friedmann-Test für mehrere verbundene Stichproben.

Der Vergleich der klinischen und bildgebenden Methoden und ihrer Vorhersagekraft einer histologischen Komplettremission wurde in Kreuztabellen mit dem Fisher Exakt-Test durchgeführt. Für die einzelnen Methoden wurden die Spezifität, Sensitivität, der positive prädiktive Wert und der negative prädiktive Wert ermittelt.

In der univariaten Analyse erfolgte der Test auf mögliche Einflussfaktoren einer histologischen Komplettremission. Die Unabhängigkeitshypothese wurde mit Hilfe des  $\chi^2$ -Test untersucht. Bei einem sehr kleinen Stichprobenumfang bzw. bei Werten unter 5 in den Zellen der Kreuztabelle wurde mit dem exakten Test nach Fisher geprüft. Die folgende multivariate Analyse (logistische Regression) untersuchte den Einfluss mehrerer Einflussfaktoren (Kovariablen) auf die histologische Remission. Da ein Faktor eine „quasi-complete-separation“ zeigte, versagten die in den Programmpaketen SPSS und SAS vorhandenen Verfahren. Ein Makro (SAS-Makro) konnte zur Schätzung der Signifikanz angewendet werden.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Videodensitometrie vor und nach der PST im Gesamtkollektiv

Zunächst wurden die Kurvenparameter der Videodensitometrie für die gesamte Studiengruppe vor und nach der PST verglichen. Die Gesamthelligkeit zeigte vor der PST ein höheres Ausgangsniveau („B0 prämax“;  $p=0,006$ ) und ein deutlich höheres Kurvenmaximum („Bmax“;  $p=0,012$ ) als nach abgeschlossener PST. Nach Auswaschen des Kontrastmittels näherten sich die Kurven vor und nach PST wieder an („B0 postmax“;  $p=0,131$ ). (Tab. 5, Abb. 2).

Helligkeitsparameter	vor PST (n=24)	nach PST (n=31)	p-Wert
B0 prämax [ $\times 10^5$ DU]	11,2 (8,3 ; 13,7)	8,4 (7,4 ; 10,3)	<b>0,006</b>
B10% prämax [ $\times 10^5$ DU]	13,7 (9,9 ; 16,3)	9,2 (8,3 ; 11,1)	<b>0,005</b>
B90% prämax [ $\times 10^5$ DU]	25,4 (19,6 ; 40,9)	14,9 (12,2 ; 19,8)	<b>0,006</b>
Bmax [ $\times 10^5$ DU]	27,0 (19,5 ; 42,6)	15,7 (12,6 ; 20,9)	<b>0,012</b>
B90% postmax [ $\times 10^5$ DU]	25,6 (18,7 ; 41,8)	15,1 (12,5 ; 20,0)	<b>0,014</b>
B10% postmax [ $\times 10^5$ DU]	13,2 (10,8 ; 19,8)	11,4 (8,4 ; 13,3)	<b>0,050</b>
B0 postmax [ $\times 10^5$ DU]	11,9 (9,5 ; 16,3)	10,7 (8,1 ; 13,1)	0,131

Tab. 5: Helligkeitsparameter vor und nach der PST (Median, Quartile in Klammern und Wilcoxon-Test)

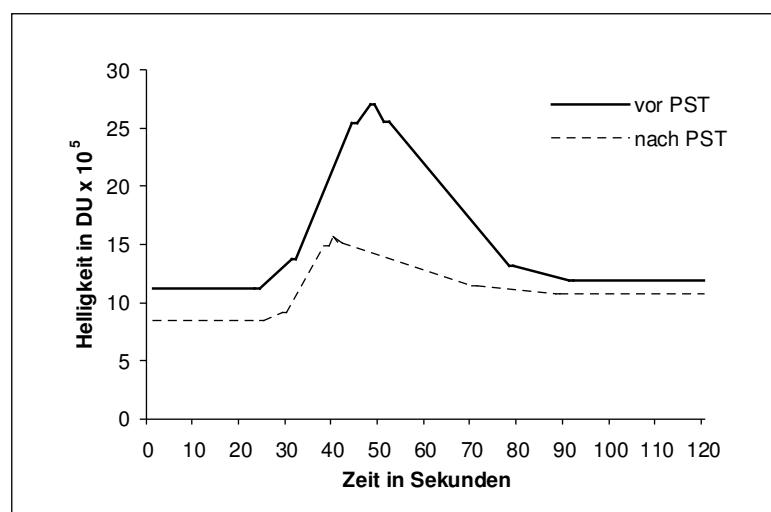


Abb. 2: mediane Helligkeit-Zeit-Kurve vor und nach der PST

Die Dauer bis zum Erreichen der einzelnen Helligkeitsparameter war nach erfolgter PST etwas kürzer als vor der Therapie. Einen signifikanten Unterschied erreichten die Zeitparameter nicht („T zu Bmax“;  $p=0,91$ ) (Tab. 6).

<b>Zeitparameter</b>	<b>vor PST (n=24)</b>	<b>nach PST (n=31)</b>	<b>p-Wert</b>
T(B0 prämax) [Sek.]	22,7 (16,2 ; 59,7)	23,8 (14,9 ; 35,6)	0,390
T(B10% prämax) [Sek.]	30,7 (18,3 ; 61,7)	29,0 (19,3 ; 41,8)	0,291
T(B90% prämax) [Sek.]	43,6 (21,6 ; 72,2)	38,4 (26,0 ; 71,3)	0,592
T(Bmax) [Sek.]	47,6 (24,0 ; 76,9)	40,0 (28,7 ; 79,7)	0,910
T(B90% postmax) [Sek.]	50,8 (25,0 ; 87,3)	41,0 (30,8 ; 90,4)	0,884
T(B10% postmax) [Sek.]	78,2 (60,2 ; 126,6)	70,1 (46,4 ; 121,1)	0,390
T(B0 postmax) [Sek.]	90,5 (67,6 ; 134,1)	87,5 (60,1 ; 142,7)	0,390

Tab. 6: Zeitparameter vor und nach der PST (Median, Quartile in Klammern und Wilcoxon-Test)

### **3.2 Videodensitometrie vor und nach der PST in Bezug auf die histologische Remission**

Die Auswertung erfolgte entsprechend der histologischen Remission. Die Einteilung erfolgte in die Gruppe „histologische Komplettremission“ und „keine histologische Komplettremission“. Von den 24 Patientinnen, die vor der PST eine Videodensitometrie erhielten, entwickelten 7 eine „histologische Komplettremission“ und 17 Patientinnen nicht. Alle 7 Patientinnen mit „histologischer Komplettremission“, sowie 24 Patientinnen, die „keine histologische Komplettremission“ erreichten, erhielten eine Videodensitometrie nach der PST.

Vor der PST war das Ausgangsniveau „B0 prämax“ in beiden Gruppen nahezu gleich ( $p=0,68$ ). Die Helligkeitsparameter des Kurvenmaximums lagen in der Gruppe mit der „histologischen Komplettremission“ deutlich, wenn auch nicht signifikant, höher als in der Vergleichsgruppe („Bmax“:  $p=0,07$ ). „B10% postmax“ ( $p=0,193$ ) und „B0 postmax“ ( $p=0,325$ ) waren nicht signifikant verschieden. Nach abgeschlossener PST nahmen die Kurven beider Gruppen einen ähnlichen Verlauf. Die Prüfung der Werte ergab keine signifikanten Veränderungen (Tab. 7, Abb. 3).

Helligkeitsparameter	vor PST			nach PST		
	keine histologische Komplettremission	histologische Komplettremission	p-Wert	keine histologische Komplettremission	histologische Komplettremission	p-Wert
	n = 17	n = 7		n = 24	n = 7	
B0 prämax [ $\times 10^3$ DU]	11,3 (8,2 ; 13,5)	11,1 (8,6 ; 14,4)	p=0,680	8,6 (8,0 ; 10,4)	7,9 (7,2 ; 10,2)	p=0,321
B10% prämax [ $\times 10^3$ DU]	12,2 (9,6 ; 15,6)	16,1 (11,2 ; 22,4)	p=0,136	9,4 (8,4 ; 11,5)	8,6 (7,6 ; 11,1)	p=0,321
B90% prämax [ $\times 10^3$ DU]	21,8 (18,8 ; 29,5)	35,2 (28,5 ; 50,7)	<b>p=0,087</b>	15,6 (12,3 ; 20,1)	13,9 (11,2 ; 16,8)	p=0,321
Bmax [ $\times 10^3$ DU]	21,9 (17,0 ; 31,5)	37,6 (30,0 ; 54,4)	<b>p=0,071</b>	16,4 (12,8 ; 21,1)	14,6 (11,6 ; 17,9)	p=0,299
B90% postmax [ $\times 10^3$ DU]	20,6 (16,3 ; 29,7)	36,0 (28,6 ; 50,4)	<b>p=0,071</b>	15,9 (12,6 ; 20,4)	14,2 (11,2 ; 17,1)	p=0,369
B10% postmax [ $\times 10^3$ DU]	12,3 (10,3 ; 16,9)	17,7 (11,8 ; 25,2)	p=0,193	11,4 (8,5 ; 14,3)	11,3 (8,3 ; 13,3)	p=0,925
B0 postmax [ $\times 10^3$ DU]	11,5 (9,6 ; 15,8)	12,4 (9,3 ; 21,7)	p=0,325	10,8 (8,1 ; 13,7)	10,6 (7,9 ; 13,1)	p=0,962

Tab. 7: Helligkeitsparameter vor und nach der PST im Vergleich zur histologischen Remission (Median, Quartile in Klammern und Mann-Whitney-U-Test)

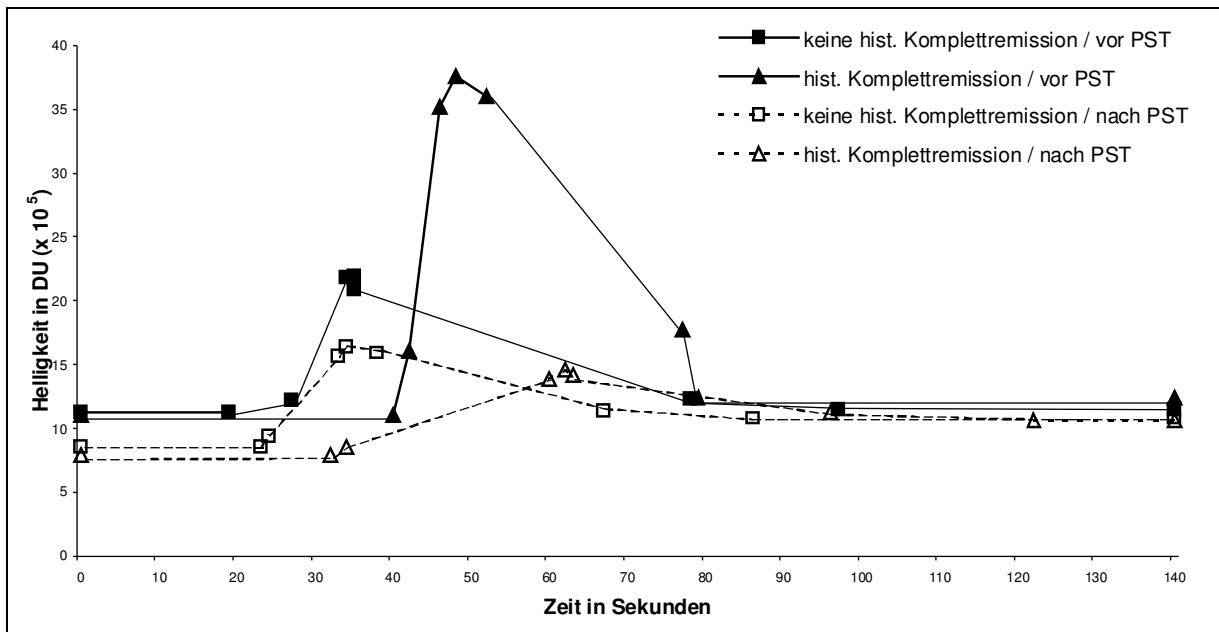


Abb. 3: mediane Helligkeit-Zeit-Kurven vor und nach der PST im Vergleich zur histologischen Remission

Wurde die Differenz der Kurvenverläufe vor und nach der PST zwischen beiden Gruppen verglichen, so zeigte sich eine Abnahme der Helligkeit in der Gruppe „histologische Komplettremission“ und eine leichte Abnahme der Helligkeitswerte bzw. ein leichter Anstieg für „B10% postmax“ und „B0 postmax“ in der Gruppe „keine histologische Komplettremission“. Dieser Unterschied zwischen beiden Gruppen war für „Bmax“, „B90% postmax“ und „B10% postmax“ signifikant (Tab. 8).

Helligkeitsparameter	keine histologische Komplettremission (n=15)	histologische Komplettremission (n=7)	p-Wert
B0 prämax [ $\times 10^5$ DU]	0,9 (0,005 ; 4,9)	3,5 (1,6 ; 6,3)	0,169
B10% prämax [ $\times 10^5$ DU]	2,7 (-0,9 ; 5,6)	7,1 (2,6 ; 13,9)	0,062
B90% prämax [ $\times 10^5$ DU]	5,3 (-2,3 ; 11,1)	18,0 (3,3 ; 38,9)	0,053
Bmax [ $\times 10^5$ DU]	5,2 (-7,4 ; 11,8)	19,9 (3,5 ; 42,8)	<b>0,045</b>
B90% postmax [ $\times 10^5$ DU]	4,2 (-6,8 ; 11,1)	17,8 (3,3 ; 38,9)	<b>0,032</b>
B10% postmax [ $\times 10^5$ DU]	-0,6 (-2,3 ; 5,0)	5,6 (1,9 ; 13,8)	<b>0,022</b>
B0 postmax [ $\times 10^5$ DU]	-0,8 (-1,7 ; 4,1)	3,2 (1,7 ; 6,5)	0,113

Tab. 8: Differenz der Helligkeitsparameter vor und nach der PST im Vergleich zur histologischen Remission (Median, Quartile in Klammern und Mann-Whitney-U-Test)

Die Zeiten bis zum Erreichen der einzelnen Helligkeitsparameter waren bei einer „histologischen Komplettremission“ sowohl vor als auch nach der PST länger als in der Gruppe, die „keine histologische Komplettremission“ erreichen konnte. Diese Unterschiede waren nicht signifikant. Die p-Werte lagen immer über 0,113 (Tab. 9).

Zeitparameter	vor PST			nach PST		
	keine histologische Komplettremission n = 17	histologische Komplettremission n = 7	p-Wert	keine histologische Komplettremission n = 24	histologische Komplettremission n = 7	p-Wert
T(B0 prämax) [Sek.]	19,5 (16,4 ; 57,3)	40,9 (10,1 ; 63, )	0,634	23,2 (13,1 ; 33,6)	32,4 (19,0 ; 80,5)	0,238
T(B10% prämax) [Sek.]	27,0 (18,4 ; 60,2)	42,8 (11,1 ; 66, )	0,680	24,1 (17,2 ; 36,2)	34,0 (22,0 ; 83,5)	0,113
T(B90% prämax) [Sek.]	34,3 (22,8 ; 74,9)	46,8 (18,6 ; 74, )	0,975	33,0 (23,7 ; 55,2)	60,1 (26,0 ; 113, )	0,156
T(Bmax) [Sek.]	35,3 (25,1 ; 80,0)	48,2 (18,7 ; 77, )	0,874	34,5 (26,1 ; 72,2)	62,4 (30,0 ; 137, )	0,119
T(B90% postmax) [Sek.]	35,3 (26,0 ; 89,9)	52,4 (21,2 ; 79, )	0,924	38,2 (29,4 ; 87,3)	63,0 (33,9 ; 137, )	0,171
T(B10% postmax) [Sek.]	78,5 (60,4 ; 141,3)	77,9 (40,1 ; 106, )	0,325	67,2 (45,9 ; 103,8)	96,4 (58,2 ; 142, )	0,299
T(B0 postmax) [Sek.]	97,8 (67,7 ; 152,8)	79,5 (53,8 ; 122, )	0,240	86,7 (53,3 ; 148,8)	122,6 (60,1 ; 142, )	0,508

Tab. 9: Zeitparameter vor und nach der PST im Vergleich zur histologischen Remission (Median, Quartile in Klammern und Mann-Whitney-U-Test)

Wurde die Differenz der Zeitparameter zwischen vor und nach der PST in den beiden Gruppen verglichen, so verkürzten sich die Zeiten in der Gruppe „keine histologische

Komplettremission“ nach abgeschlossener PST. Für die Gruppe, die eine „histologische Komplettremission“ erreichte, verlängerten sich die Zeiten nach der PST. Für die Zeitpunkte „T(Bmax)“, „T(B10% postmax)“, „T(B0 postmax)“ waren diese Differenzen signifikant (Tab. 10).

Zeitparameter	keine histologische Komplettremission (n=15)	histologische Komplettremission (n=7)	p-Wert
T(B0 prämax) [Sek.]	5,6 ( -6,3 ; 45,9)	-10,1 (-42,8 ; 28,8)	0,217
T(B10% prämax) [Sek.]	2,1 ( -2,0 ; 47,4)	-10,8 (-35,3 ; 29,2)	0,130
T(B90% prämax) [Sek.]	4,3 ( -4,1 ; 37,6)	-8,7 (-57,9 ; 20,7)	0,072
T(Bmax) [Sek.]	4,2 ( -4,7 ; 37,1)	-9,9 (-88,9 ; 17,1)	<b>0,045</b>
T(B90% postmax) [Sek.]	0,1 ( -6,3 ; 39,8)	-10,4 (-84,9 ; 15,4)	0,072
T(B10% postmax) [Sek.]	42,8 (-11,6 ; 77,3)	-6,5 (-81,1 ; 10,2)	<b>0,032</b>
T(B0 postmax) [Sek.]	28,5 ( -0,5 ; 58,8)	-26,7 (-72,7 ; 9,1)	<b>0,032</b>

Tab. 10: Differenz der Zeitparameter vor und nach der PST im Vergleich zur histologischen Remission (Median, Quartile in Klammern, Mann-Whitney-U-Test)

Für den Helligkeitsparameter „Bmax“ vor der PST wurden cut-off-Werte anhand von ROC-Kurven bestimmt. Der cut-off-Wert von  $28,8 \times 10^5$  DU erreichte eine Sensitivität von 85,7% und eine Spezifität von 70,6% (Abb. 6). Wurde der cut-off-Wert zu Gunsten der Spezifität ( $82,4\%$ ) bei  $33,5 \times 10^5$  DU festgelegt, sank die Sensitivität auf 71,4%.

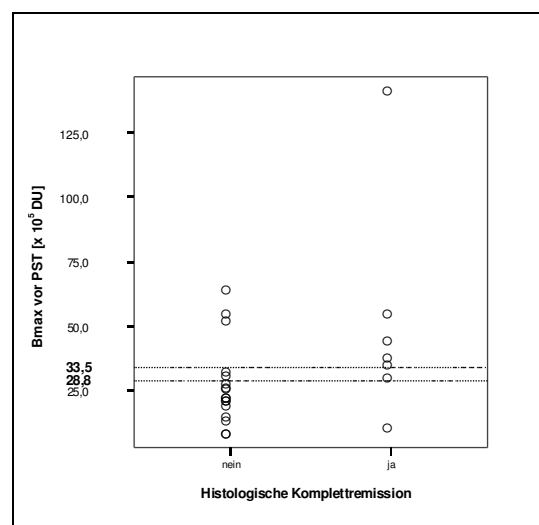


Abb. 4: Streudiagramm von Bmax“ vor der PST, cut-off-Werte als gestrichelte Linie

### 3.3 Videodensitometrie vor und nach der PST in Bezug auf das klinische Therapieansprechen

#### 3.3.1 Vergleich von „klinischer Komplettremission“ und „keiner klinischen Komplettremission“

Von den 24 Patientinnen, die vor der PST eine Videodensitometrie erhielten, entwickelten 9 eine „klinische Komplettremission“ und 15 Patientinnen nicht. Ebenfalls alle neun Patientinnen mit „klinischer Komplettremission“, sowie 22 Patientinnen, die „keine klinische Komplettremission“ erreichten, erhielten eine Videodensitometrie nach der PST.

Die Helligkeitsparameter beider Gruppen lagen prätherapeutisch zu Beginn der videodensitometrischen Untersuchung auf dem gleichen Ausgangsniveau ( $p=0,355$ ). Nach Anfluten des Kontrastmittels wurde in der Gruppe „klinische Komplettremission“ eine deutlich höhere maximale Helligkeit („Bmax“) als in der Vergleichsgruppe erreicht. Der Unterschied war mit einem p-Wert von 0,06 tendenziell, jedoch nicht signifikant. Für „B10% prämax“, „B90% prämax“ und „B90% postmax“ ergaben sich die p-Werte  $p=0,089$ ,  $p=0,079$  und  $p=0,06$ . Nach Auswaschen des Kontrastmittels näherten sich die Kurvenverläufe einander wieder an. Für „B10% postmax“ und „B0 postmax“ waren die Helligkeiten annähernd gleich ( $p=0,128$  und  $p=0,180$ ) (Tab. 11, Abb. 5).

Nach abgeschlossener PST waren die erreichten Helligkeiten nach Gabe des Kontrastmittels in der Gruppe „klinische Komplettremission“ niedriger als in der Vergleichsgruppe. Für „B0 prämax“ ( $p=0,045$ ), „B10% prämax“ ( $p=0,041$ ), „B90% prämax“ ( $p=0,033$ ), „Bmax“ ( $p=0,03$ ), „B90% postmax“ ( $p=0,041$ ) war dieser Unterschied signifikant. Nach Auswaschen des Kontrastmittels lagen die Kurven auf ähnlichem Niveau. „B10% postmax“ und „B0 postmax“ waren nicht mehr signifikant verschieden ( $p=0,207$  und  $p=0,296$ ) (Tab. 11, Abb. 5).



Helligkeitsparameter	vor PST			nach PST		
	keine klinische Komplettremission	klinische Komplettremission	p-Wer	keine klinische Komplettremission	klinische Komplettremission	p-Wer
	n = 15	n = 9		n = 22	n = 9	
B0 prämax [x 10 <sup>5</sup> DU]	11,3 (8,2 ; 13,4)	11,1 (8,8 ; 16,5)	0,355	8,8 (8,1 ; 10,6)	7,4 (6,0 ; 9,4)	<b>0,045</b>
B10% prämax [x 10 <sup>5</sup> DU]	12,2 (9,4 ; 15,1)	16,1 (11,0 ; 22,1)	<b>0,089</b>	9,6 (8,7 ; 12,6)	8,4 (6,2 ; 10,2)	<b>0,041</b>
B90% prämax [x 10 <sup>5</sup> DU]	21,8 (19,5 ; 28,7)	35,2 (23,3 ; 50,5)	<b>0,079</b>	16,4 (12,9 ; 20,6)	13,2 (7,9 ; 15,6)	<b>0,033</b>
Bmax [x 10 <sup>5</sup> DU]	21,9 (14,9 ; 30,8)	37,6 (24,5 ; 54,4)	<b>0,060</b>	17,1 (13,5 ; 21,7)	13,5 (8,1 ; 16,4)	<b>0,030</b>
B90% postmax [x 10 <sup>5</sup> DU]	20,6 (14,3 ; 28,8)	36,0 (23,5 ; 50,5)	<b>0,060</b>	16,6 (13,1 ; 20,6)	13,3 (8,0 ; 16,0)	<b>0,041</b>
B10% postmax [x 10 <sup>5</sup> DU]	12,3 (9,9 ; 16,8)	17,7 (12,1 ; 24,2)	0,128	11,6 (8,8 ; 14,5)	11,0 (7,2 ; 12,9)	0,207
B0 postmax [x 10 <sup>5</sup> DU]	10,8 (9,2 ; 15,6)	12,4 (10,4 ; 19,2)	0,180	11,1 (8,4 ; 14,7)	10,5 (7,1 ; 12,7)	0,296

Tab. 11: Helligkeitsparameter vor und nach der PST im Vergleich zur „klinischen Komplettremission“ vs. „keiner klinischen Komplettremission“ (Median, Quartile in Klammern, Mann-Whitney-U-Test)

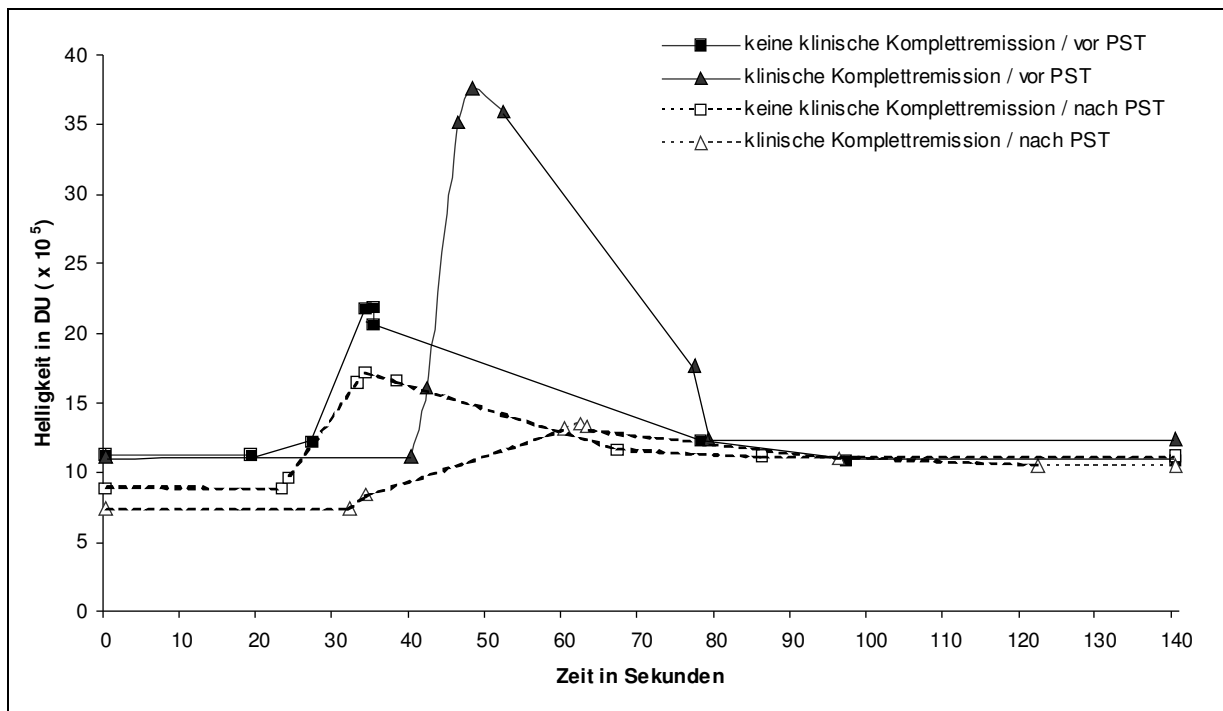


Abb. 5: mediane Helligkeit-Zeit-Kurven vor und nach der PST, Vergleich von „klinischer Komplettremission“ und „keiner klinischen Komplettremission“

Wurde die Differenz vor und nach der PST der beiden Gruppen ermittelt und verglichen, so zeigte sich eine starke Abnahme der Helligkeit in der Gruppe „klinische Komplettremission“ und eine leichte Abnahme der Helligkeitswerte bzw. ein leichter

Anstieg für „B10% postmax“ und „B0 postmax“ in der Gruppe „keine klinische Komplettremission“. Dieser Unterschied zwischen beiden Gruppen war für „B10% prämax“, „B90% prämax“, „Bmax“, „B90% postmax“, „B10% postmax“ und „B0 postmax“ signifikant (Tab. 12).

Helligkeitsparameter	keine klinische Komplettremission (n=14)	klinische Komplettremission (n=8)	p-Wert
B0 prämax [ $\times 10^5$ DU]	0,8 (-0,8 ; 3,9)	3,7 (1,7 ; 6,0)	0,095
B10% prämax [ $\times 10^5$ DU]	1,9 (-1,4 ; 4,0)	6,4 (2,7 ; 12,3)	<b>0,042</b>
B90% prämax [ $\times 10^5$ DU]	4,8 (-3,5 ; 9,9)	16,1 (5,3 ; 36,6)	<b>0,042</b>
Bmax [ $\times 10^5$ DU]	3,4 (-7,4 ; 10,4)	17,5 (5,6 ; 39,8)	<b>0,035</b>
B90% postmax [ $\times 10^5$ DU]	2,7 (-7,2 ; 9,8)	15,8 (5,3 ; 36,8)	<b>0,024</b>
B10% postmax [ $\times 10^5$ DU]	-0,8 (-2,5 ; 4,7)	5,6 (2,5 ; 12,5)	<b>0,010</b>
B0 postmax [ $\times 10^5$ DU]	-1,0 (-1,7 ; 3,6)	3,9 (1,7 ; 6,1)	<b>0,050</b>

Tab. 12: Differenz der Helligkeitsparameter vor und nach der PST. Vergleich der „klinischen Komplettremission“ vs. „keine klinische Komplettremission“ (Median, Quartile in Klammern, Mann-Whitney-U-Test)

Vor der PST begann das Anfluten des Kontrastmittels in der Gruppe „klinische Komplettremission“ später, erreichte auch später das Kurvenmaximum, wurde anschließend schneller wieder ausgewaschen und erreichte früher die Baseline als die Gruppe „keine klinische Komplettremission“. Auch nach abgeschlossener PST war der gesamte zeitliche Kurvenverlauf in der Gruppe mit der „klinischen Komplettremission“ langsamer als in der Vergleichsgruppe. Signifikante Unterschiede ergaben sich nicht (Tab. 13, Abb. 5).

Zeitparameter	vor PST			nach PST		
	keine klinische Komplettremission n = 15	klinische Komplettremission n = 9	p-Wert	keine klinische Komplettremission n = 22	klinische Komplettremission n = 9	p-Wert
T(B0 prämax) [Sek.]	19,5 (15,8 ; 38,0)	40,9 (13,8 ; 70,2)	0,531	24,0 (14,9 ; 35,0)	20,7 (8,9 ; 58,2)	0,931
T(B10% prämax) [Sek.]	27,0 (18,7 ; 42,7)	42,8 (14,6 ; 72,0)	0,655	26,8 (20,6 ; 38,6)	33,1 (10,6 ; 63,9)	0,845
T(B90% prämax) [Sek.]	34,3 (25,1 ; 66,2)	46,8 (19,5 ; 78,9)	0,929	36,7 (27,9 ; 59,7)	45,1 (24,2 ; 93,4)	0,828
T(Bmax) [Sek.]	35,3 (27,2 ; 74,4)	48,2 (19,9 ; 82,8)	0,929	37,8 (29,4 ; 74,1)	46,7 (25,1 ; 112,1)	0,761
T(B90% postmax) [Sek.]	35,3 (27,9 ; 88,8)	52,4 (22,1 ; 85,3)	0,929	40,3 (30,4 ; 89,6)	47,0 (29,7 ; 114,1)	0,663
T(B10% postmax) [Sek.]	78,5 (60,7 ; 153,1)	77,9 (43,0 ; 107,1)	0,245	69,8 (46,2 ; 113,1)	76,8 (44,1 ; 131,1)	0,794
T(B0 postmax) [Sek.]	97,8 (67,4 ; 167,3)	79,5 (61,5 ; 118,1)	0,245	86,7 (48,3 ; 161,1)	98,5 (63,3 ; 134,1)	0,663

Tab. 13: Zeitparameter vor und nach der PST im Vergleich zur „klinischen Komplettremission“ vs. „keine klinische Komplettremission“ (Median, Quartile in Klammern, Mann-Whitney-U-Test)

Wurden die Differenzen der Zeitpunkte bis zum Erreichen der einzelnen Helligkeitsparameter vor und nach der PST in den beiden Gruppen verglichen, so begann der gesamte Kurvenverlauf in der Gruppe „keine klinische Komplettremission“ nach abgeschlossener PST früher. Für die Gruppe, die eine „klinische Komplettremission“ erreichte, wurde der gesamte Kurvenverlauf nach der PST länger. Diese Differenzen wiesen keine signifikanten Unterschiede auf (Tab. 14).

Zeitparameter	keine klinische Komplettremission (n=14)	klinische Komplettremission (n=8)	p-Wert
T(B0 prämax) [Sek.]	5,2 (-6,8 ; 33,5)	0,9 (-34,8 ; 30,7)	0,616
T(B10% prämax) [Sek.]	2,2 (-2,8 ; 3,7)	-3,7 (-32,3 ; 31,5)	0,441
T(B90% prämax) [Sek.]	3,5 (-5,9 ; 35,1)	-8,0 (-53,1 ; 27,0)	0,330
T(Bmax) [Sek.]	3,4 (-6,3 ; 37,0)	-8,9 (-84,5 ; 27,5)	0,212
T(B90% postmax) [Sek.]	-0,2 (-7,3 ; 39,0)	-7,8 (-82,1 ; 28,2)	0,330
T(B10% postmax) [Sek.]	3,2 (-15,1 ; 65,0)	-5,2 (-76,9 ; 24,9)	0,127
T(B0 postmax) [Sek.]	25,0 (-4,1 ; 64,6)	-70,3 (-16,7 ; 28,3)	0,110

Tab. 14: Differenz der Zeitparameter vor und nach der PST. Vergleich der „klinischen Komplettremission“ vs. „keine klinische Komplettremission“ (Median, Quartile in Klammern und Mann-Whitney-U-Test)

Für das Kurvenmaximum „Bmax“ wurden vor und nach der PST die cut-off-Werte mittels ROC-Kurve bestimmt und die entsprechende Spezifität und Sensitivität ermittelt. (Tab. 15).

	<b>cut-off-Wert</b>	<b>Sensitivität</b>	<b>Spezifität</b>
„Bmax“ vor PST [ $\times 10^5$ DU]	33,4 $\times 10^5$	66,7%	86,7%
„Bmax“ nach PST [ $\times 10^5$ DU]	15,2 $\times 10^5$	72,7%	77,8%

Tabelle 15: cut-off Werte, Spezifität und Sensitivität für „Bmax“ vor und nach der PST in Bezug zur „klinischen Komplettremission“

### 3.3.2 Vergleich von klinischem „Therapieansprechen“ und „Therapieresistenz“

In der zweiten Analyse zum klinischen Therapieverlauf wurde das „klinische Ansprechen“ bzw. die „Therapieresistenz“ in gleicher Vorgehensweise untersucht. Von den 24 Patientinnen, die eine Videodensitometrie vor PST erhielten, sprachen zwanzig klinisch auf die Therapie an. In 4 Fällen wurde eine „Therapieresistenz“ dokumentiert. Nach der PST zeigten von den 31 untersuchten Patientinnen fünf Patientinnen eine „Therapieresistenz“ und 26 ein „Therapieansprechen“.

Die Helligkeitsparameter zeigten in den beiden Vergleichsgruppen vor der PST einen ähnlichen Kurvenverlauf ohne signifikante Unterschiede der Helligkeitsparameter. Die p-Werte lagen über 0,642 (Tab. 17, Abb. 6). Lag nach abgeschlossener PST ein „Therapieansprechen“ vor, war die Baseline niedriger als in der Gruppe mit der Therapieresistenz („B0 prämax“,  $p=0,060$ ). Die Maximumparameter „B90% prämax“ ( $p=0,068$ ), „Bmax“ ( $p=0,076$ ), „B90% postmax“ ( $p=0,068$ ) erreichten bei deutlicher Tendenz zu niedrigeren Werten in der Gruppe mit dem „Therapieansprechen“ jedoch keine signifikanten Unterschiede. Die Baseline nach Abfluten des Kontrastmittels war signifikant niedriger in der Gruppe mit „Therapieansprechen“ als in der Vergleichsgruppe („B10% postmax“:  $p=0,028$ , B0 postmax:  $p=0,028$  (Tab. 16, Abb. 6).

Helligkeitsparameter	vor PST			nach PST		
	Therapieresisten: n = 4	Therapieansprechen n = 20	p-Wert	Therapieresisten: n = 26	Therapieansprechen n = 5	p-Wert
B0 prämax [x 10 <sup>3</sup> DU]	12,0 (9,1 ; 13,0)	10,5 (8,3 ; 14,3)	1,000	10,4 (8,4 ; 12,8)	8,3 (7,2 ; 9,8)	0,060
B10% prämax [x 10 <sup>3</sup> DU]	14,2 (10,4 ; 16,6)	13,2 (9,9 ; 16,3)	0,877	14,3 (9,1 ; 15,5)	9,1 (8,2 ; 10,7)	0,060
B90% prämax [x 10 <sup>3</sup> DU]	25,7 (19,8 ; 51,8)	25,4 (18,6 ; 40,9)	0,757	28,6 (15,1 ; 45,8)	14,8 (12,0 ; 18,7)	0,068
Bmax [x 10 <sup>3</sup> DU]	27,1 (21,0 ; 56,2)	27,0 (16,0 ; 42,6)	0,642	30,4 (15,8 ; 49,6)	15,4 (12,4 ; 20,0)	0,076
B90% postmax [x 10 <sup>3</sup> DU]	25,6 (20,1 ; 52,9)	25,6 (15,3 ; 41,8)	0,642	28,8 (15,4 ; 46,8)	14,8 (12,2 ; 19,0)	0,068
B10% postmax [x 10 <sup>3</sup> DU]	14,8 (10,7 ; 26,3)	12,9 (10,8 ; 19,8)	0,699	15,8 (11,7 ; 24,4)	11,1 (8,3 ; 12,6)	<b>0,028</b>
B0 postmax [x 10 <sup>3</sup> DU]	13,5 (9,5 ; 23,0)	11,6 (9,5 ; 16,3)	0,699	14,1 (11,3 ; 21,6)	10,6 (7,9 ; 12,1)	<b>0,028</b>

Tab. 16: Helligkeitsparameter vor und nach der PST in Bezug auf das klinische „Therapieansprechen“ vs. „Therapieresistenz“ (Median, Quartile in Klammern, Mann-Whitney-U-Test)

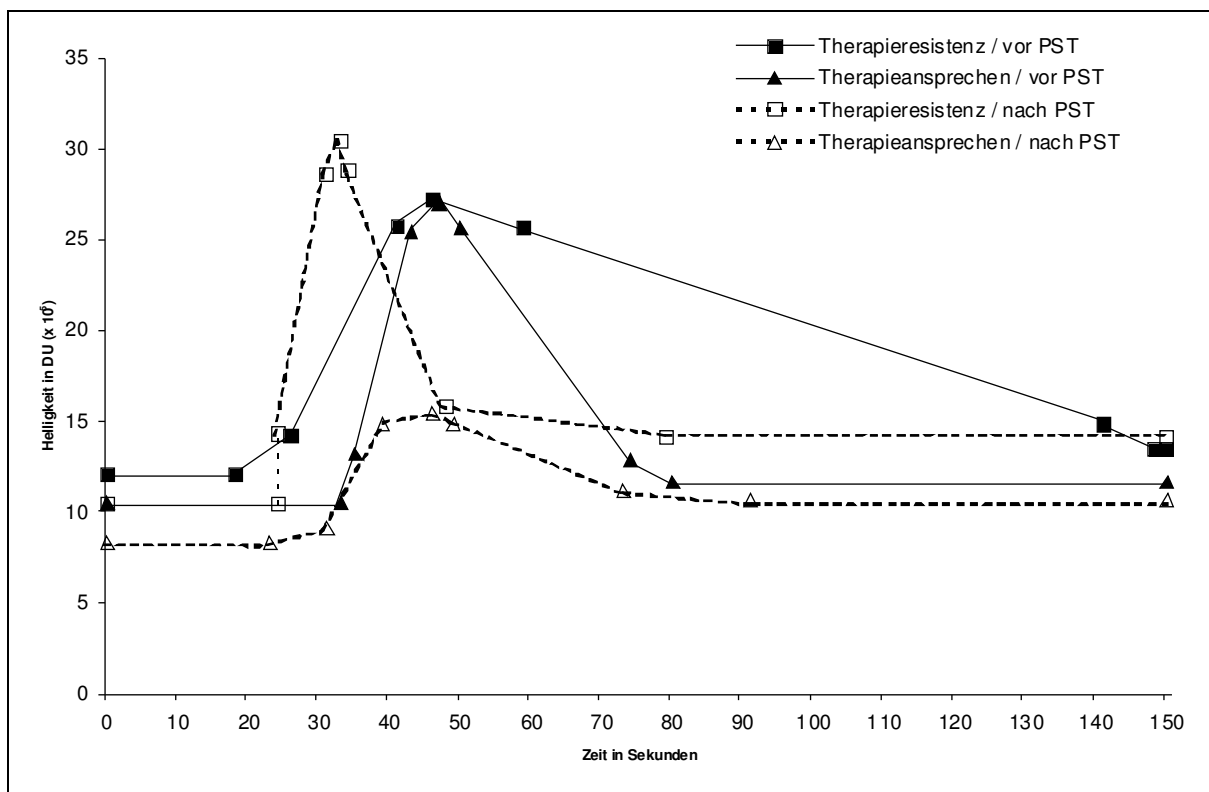


Abb. 6: mediane Helligkeit-Zeit-Kurven vor und nach der PST, Vergleich von klinischem „Therapieansprechen“ und „Therapieresistenz“

Wurden die Differenzen vor und nach der PST der beiden Gruppen ermittelt und verglichen, so zeigte sich eine Abnahme der Helligkeit bei einem „klinischen

Therapieansprechen“. Die Helligkeitswerte stiegen bei einer Therapieresistenz nach erfolgter Therapie an. Dieser Unterschied war für „B90% prämax“, „Bmax“, „B90% postmax“, „B10% postmax“ und „B0 postmax“ wie in Tab. 17 dargestellt signifikant.

Helligkeitsparameter	klinische Therapieresistenz (n=3)	klinisches Therapieansprechen (n=19)	p-Wert
B0 prämax [ $\times 10^5$ DU]	0,2 (-4,3 ; 3,4)	2,9 (0,6 ; 5,3)	0,191
B10% prämax [ $\times 10^5$ DU]	-0,9 (-4,9 ; 3,2)	3,4 (1,0 ; 7,4)	0,108
B90% prämax [ $\times 10^5$ DU]	-9,1 (-9,6 ; 1,7)	8,2 (3,3 ; 18,0)	<b>0,014</b>
Bmax [ $\times 10^5$ DU]	-9,7 (-10,6 ; 1,5)	8,5 (1,4 ; 20,0)	<b>0,021</b>
B90% postmax [ $\times 10^5$ DU]	-8,9 (-9,7 ; 0,8)	8,1 (1,1 ; 17,8)	<b>0,014</b>
B10% postmax [ $\times 10^5$ DU]	-2,7 (-4,8 ; -2,4)	4,5 (-0,5 ; 8,4)	<b>0,005</b>
B0 postmax [ $\times 10^5$ DU]	-1,9 (-5,5 ; -1,5)	1,7 (-1,3 ; 4,8)	<b>0,009</b>

Tab. 17: Differenz der Helligkeitsparameter vor und nach der PST. Vergleich des klinischen Therapieansprechens (Median, Quartile in Klammern, Mann-Whitney-U-Test)

Die Zeiten des Kontrastmittelanflutens („T(B0 prämax)“ und „T(B10% prämax)“) waren in der Gruppe mit „Therapieansprechen“ vor der PST länger als in der Vergleichsgruppe. Dieser Unterschied war nicht signifikant ( $p=0,245$  und  $p=0,394$ ). Die Zeit bis zum Erreichen des Kurvenmaximums „T(Bmax)“ war in beiden Gruppen vor der PST nahezu gleich ( $p=0,877$ ). Das Auswaschen des Kontrastmittels erfolgte in der Gruppe mit „Therapieresistenz“ vor der PST deutlich langsamer als in der Gruppe, die ein „Therapieansprechen“ zeigte. Dieser Unterschied ergab einen p-Wert von 0,053 und 0,044. Nach abgeschlossener PST näherten sich die zeitlichen Kurvenverläufe deutlich an. Es traten keine signifikanten Unterschiede auf (Tab. 18, Abb. 6).

Zeitparameter	vor PST			nach PST		
	Therapieresistenz n = 4	Therapieansprechen n = 20	p-Wert	Therapieresistenz n = 26	Therapieansprechen n = 5	p-Wert
T(B0 prämax) [Sek.]	18,2 (12,9 ; 22,5)	33,7 (16,3 ; 73,4)	0,245	24,3 (17,3 ; 26,6)	23,2 (12,5 ; 41,9)	0,747
T(B10% prämax) [Sek.]	26,7 (16,8 ; 33,7)	35,2 (18,3 ; 74,8)	0,394	24,6 (21,9 ; 30,3)	31,2 (15,8 ; 48,0)	0,667
T(B 90% prämax) [Sek.]	41,3 (24,0 ; 61,8)	43,6 (21,6 ; 81,2)	0,938	31,1 (29,3 ; 44,5)	39,6 (25,1 ; 75,0)	0,707
T(Bmax) [Sek.]	46,0 (26,0 ; 70,0)	47,6 (22,6 ; 83,6)	0,877	33,5 (31,2 ; 46,6)	46,5 (26,1 ; 86,3)	0,747
T(B 90% postmax) [Sek.]	59,1 (26,8 ; 98,7)	50,8 (24,2 ; 86,4)	0,642	34,1 (32,1 ; 48,1)	49,9 (28,7 ; 91,2)	0,485
T(B10% postmax) [Sek.]	141,3 (86,7 ; 162,7)	74,8 (49,4 ; 117,9)	<b>0,053</b>	48,6 (41,9 ; 133,6)	73,4 (46,2 ; 124,7)	0,747
T(B0 postmax) [Sek.]	148,9 (105,9 ; 188,9)	80,6 (67,3 ; 122,2)	<b>0,044</b>	79,8 (42,9 ; 147,2)	91,2 (64,8 ; 146,8)	0,667

Tab. 18: Zeitparameter vor und nach der PST in Bezug auf das zum klinische „Therapieansprechen“ vs. „Therapieresistenz“ (Median, Quartile in Klammern, Mann-Whitney-U-Test)

Auch der Vergleich der Differenzen des zeitlichen Kurvenverlaufs vor und nach der PST beider Gruppen führte nicht zu signifikanten Unterschieden (Tab. 19).

Zeitparameter	klinische Therapieresistenz (n=3)	klinisches Therapieansprechen (n=19)	p-Wert
T(B0 prämax) [Sek.]	-0,3 (-12,0 ; 4,7)	5,6 (-10,1 ; 31,3)	0,408
T(B10% prämax) [Sek.]	-2,0 (-5,2 ; 13,8)	2,2 (-10,8 ; 33,8)	0,718
T(B90% prämax) [Sek.]	15,7 (-4,1 ; 20,2)	0,8 (-19,7 ; 34,2)	0,787
T(Bmax) [Sek.]	21,3 (-4,7 ; 25,6)	2,0 (-38,0 ; 37,0)	0,651
T(B90% postmax) [Sek.]	27,5 (-5,6 ; 71,7)	-0,8 (-52,1 ; 32,5)	0,308
T(B10% postmax) [Sek.]	42,9 (-27,6 ; 119,2)	10,2 (-25,8 ; 52,8)	0,523
T(B0 postmax) [Sek.]	32,7 (-0,5 ; 118,5)	9,1 (-26,7 ; 34,7)	0,308

Tab. 19: Differenz der Zeitparameter vor und nach der PST. Vergleich des klinischen Therapieansprechens (Median, Quartile in Klammern, Mann-Whitney-U-Test)

Für „Bmax“ nach PST und „B10% postmax“ nach PST wurden cut-off-Werte mittels ROC-Kurven bestimmt und die Spezifität und Sensitivität berechnet. Der erste cut-off-Wert zielt auf die höchstmögliche Sensitivität und Spezifität, der zweite Wert wurde zu Gunsten einer hohen Spezifität gewählt (Tab. 20).

	<b>cut-off-Wert</b>	<b>Sensitivität</b>	<b>Spezifität</b>
Bmax nach PST [DU]	<b>15,2 x 10<sup>5</sup></b>	<b>72,7%</b>	<b>77,8%</b>
	18,9 x 10 <sup>5</sup>	45,5%	88,9%
B0 postmax nach PST [DU]	<b>13,6 x 10<sup>5</sup></b>	<b>80,0%</b>	<b>88,5%</b>
	14,9 x 10 <sup>5</sup>	40,0%	92,3%

Tab. 20: cut-off Werte, Spezifität und Sensitivität ausgewählter Parameter in Bezug auf die klinische Remission

### 3.4 Therapiemonitoring mittels Videodensitometrie

#### Videodensitometrie im Verlauf der PST in Bezug auf die histologische Remission

Um die Videodensitometrie als Methode in der Verlaufskontrolle zu testen, wurden wieder die Gruppen „histologische Komplettremission“ und „keine histologische Komplettremission gegenübergestellt. Im ersten Schritt erfolgte die Prüfung jeweils einer Gruppe mit dem Wilcoxon-Test für zwei verbundene Stichproben auf signifikante Veränderungen vor und nach der PST und anschließend wurde der Friedmann-Test für mehrere verbundene Stichproben durchgeführt und 4 Verlaufsmessungen geprüft.

Es zeigte sich in der Gruppe „histologische Komplettremission“ eine signifikante Abnahme des Helligkeitsmaximums „Bmax“ zwischen vor und nach der PST ( $p=0,028$ ). In der Vergleichsgruppe „keine histologische Komplettremission“ trat keine signifikante Veränderung auf ( $p=0,191$ ). Wurden vier Messungen im Verlauf verglichen, zeigte sich auch zwischen den einzelnen Messungen eine signifikante Abnahme von „Bmax“ in der Gruppe „histologische Komplettremission“ ( $p=0,019$ ). In der Gruppe, die „keine histologische Komplettremission“ erreichte, war die Abnahme von „Bmax“ minimal und nicht signifikant ( $p=0,436$ ) (Tab. 21, Abb. 7).



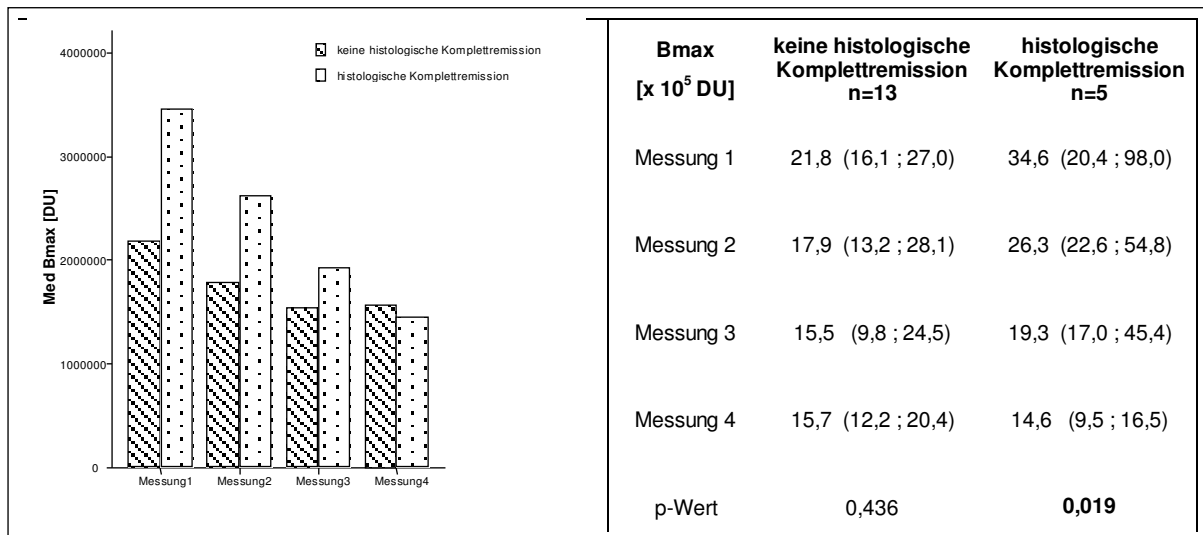


Abb. 7 und Tab. 21: Verlauf von „Bmax“ während der PST – Vergleich von „histologischer Komplettremission“ und „keiner histologischen Komplettremission“ (Median , Quartile in Klammern, Friedmann-Test)

#### Videodensitometrie im Verlauf der PST in Bezug auf „klinische Komplettremission“ und „keine klinische Komplettremission“

Die Gruppe mit einer „klinischen Komplettremission“ zeigte zwischen vor und nach der PST einen Abfall des Helligkeitsmaximums „Bmax“ ( $p=0,017$ ). Wurden vier Messungen im Verlauf verglichen, war auch hier die Abnahme von „Bmax“ signifikant ( $p = 0,006$ ). In der Vergleichsgruppe gab es ebenfalls einen Abfall des Helligkeitsmaximums „Bmax“ zwischen vor und nach der PST, sowie zwischen den Verlaufsmessungen. Dieser fiel deutlich schwächer aus und war nicht signifikant ( $p=0,331$  und  $p=0,682$ ) (Tab. 22, Abb. 8).

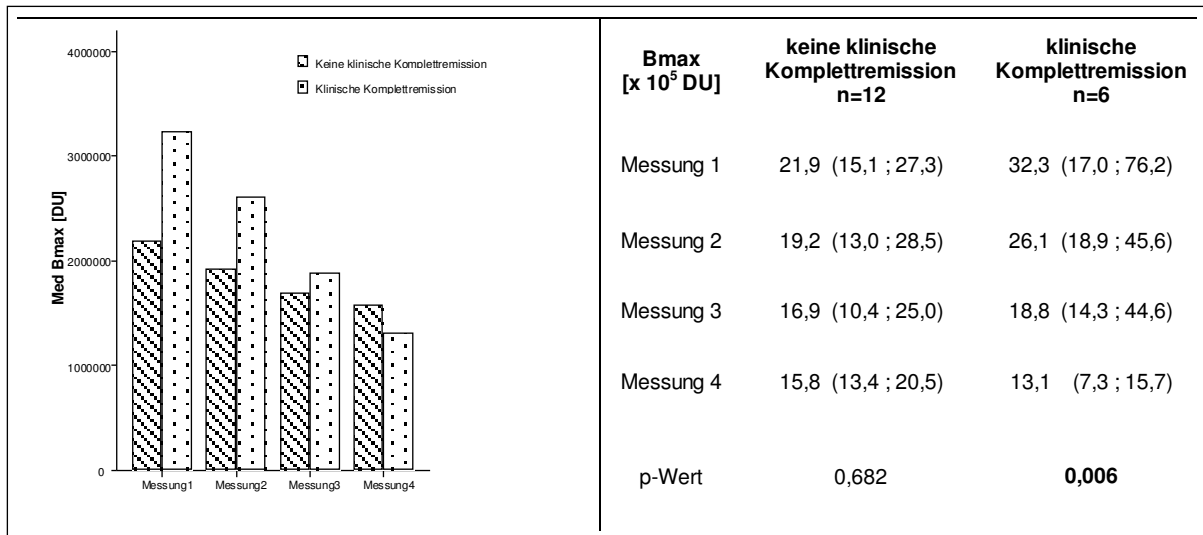


Abb. 8, Tab. 22: Verlauf von „Bmax“ während der PST - Vergleich von „klinischer Komplettremission“ und „keiner klinischen Komplettremission“ (Median, Quartile in Klammern, Friedmann-Test)

#### Ultraschallkontrastmittel-Videodensitometrie im Verlauf der PST in Bezug auf „Therapieansprechen“ und „Therapieresistenz“

Die Gruppe, die ein „Therapieansprechen“ zeigte, wies zwischen vor und nach der PST, sowie zwischen den einzelnen Messungen eine signifikante Abnahme des Helligkeitsmaximums „Bmax“ auf ( $p=0,003$ ,  $p=0,009$ ). In der Vergleichsgruppe zeigte sich zwischen der Messung vor und nach der PST, sowie zwischen den Messungen keine signifikanten Unterschiede des Helligkeitsmaximums „Bmax“ ( $p=0,285$ ,  $p=0,392$ ) (Tab. 23, Abb. 9).

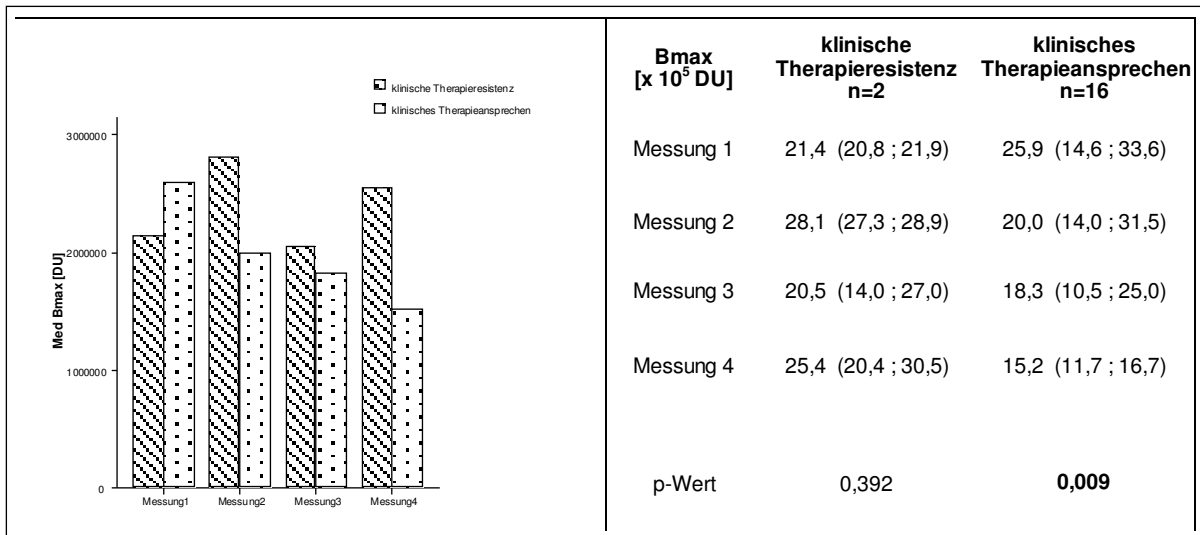


Abb. 9, Tab. 23: Verlauf von „Bmax“ unter der PST – Vergleich von klinischem „Therapieansprechen“ und „Therapieresistenz“ (Median, Quartile in Klammern und Friedmann-Test)

### 3.5 Vergleich der klinischen und bildgebenden Methoden zur Prädiktion einer histologischen Remission

Im Vergleich der Methoden wurden die Sonographie, Palpation, Mammographie und Ultraschallkontrastmittel-Videodensitometrie gegenübergestellt. Die Aussagekraft der einzelnen Untersuchungsmethoden bezog sich auf das histologische Ergebnis. Dabei wurde die „histologische Komplettremission“ als „negativ“ gewertet und „keine histologische Komplettremission“ als „positiv“. In der nachfolgenden Tabelle 24 wurden die Methoden mit ihren Vorhersagewerten dargestellt.

	<b>richtig positiv</b>	<b>richtig negativ</b>	<b>falsch positiv</b>	<b>falsch negativ</b>	<b>n</b>
Sonographie	22 (66,7%)	5 (15,2%)	2 (6,1%)	4 (12,1%)	33
Palpation	21 (63,6%)	7 (21,2%)	0 (0,0%)	5 (15,2%)	33
Mammographie	16 (76,0%)	4 (19,0%)	0 (0,0%)	1 (4,8%)	21
USKM-VDM	12 (50,0%)	6 (25,0%)	1 (4,2%)	5 (20,8%)	24

Tab. 24: Vergleich der Methoden und Anzahl der Vorhersagekraft.

Im Fisher Exakt -Test konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Methoden geprüft werden ( $p = 0,644$ ).

Von den einzelnen Methoden wurden nun Spezifität, Sensitivität, der positive prädiktive Wert und der negative prädiktive Wert gegenübergestellt. Die Palpation und Mammographie erreichten eine Spezifität von 100% mit einer Sensitivität für die Palpation von 80,8% und für die Mammographie von 94,1%. Die Sonographie wies eine Spezifität von 71,4% und Sensitivität von 84,6% auf. Die USKM-VDM kam auf eine Spezifität von 85,7% mit einer Sensitivität von 70,6% (Tab 25).

	<b>Spezifität</b>	<b>Sensitivität</b>	<b>PPW</b>	<b>NPW</b>
Palpation	100,0%	80,8%	100,0%	58,3%
Sonographie	71,4%	84,6%	91,7%	55,6%
Mammographie	100,0%	94,1%	100,0%	80,0%
USKM-VDM	85,7%	70,6%	92,3%	54,5%

Tab. 25: Spezifität, Sensitivität, positiver prädiktiver Wert (PPW), negativer prädiktiver Wert (NPW) der klinischen und bildgebenden Methoden

### **3.6 Univarianz- und Multivarianzanalyse der histologischen Remission**

Der Einfluss verschiedener Merkmale auf den histologischen Remissionsgrad wurde zunächst in einer univariaten und anschließend in einer multivariaten Analyse untersucht. Das Alter der Patientinnen unterschied sich nicht in den histologischen Remissionsgruppen (Mann-Whitney-U-Test;  $p=0,162$ ). Die weiteren Patientinnenmerkmale bzw. Tumormerkmale wurden in Kreuztabellen dargestellt und mit Fisher's exaktem Test geprüft. Dabei ergaben sich für die Art der primär systemischen Therapie entscheidende Unterschiede. Patientinnen, die eine Kombination ADoc oder AC-Doc erhielten, hatten signifikant häufiger eine „histologische Komplettremission“ (6/13 Fälle). Patientinnen, die mit Docetaxel/Exemestan bzw. Letrozole therapiert wurden, hatten sehr selten eine histologische Komplettremission (1/20 Fälle). Dieser Unterschied war hoch signifikant mit  $p=0,007$ . Einen weiteren Einfluss hatte der Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus. Ein positiver Östrogenrezeptorstatus ( $p= 0,052$ ) und positiver Progesteronrezeptorstatus ( $p=0,084$ ) sprachen dafür, „keine histologische Komplettremission“ zu erreichen. Alle anderen Merkmale zeigten keinen Einfluss auf das Ergebnis der histologischen Remission (Tab. 26).

<b>mögliche Einflussvariable</b>	<b>p-Wert</b>
Alter	0,165
<b>Art der PST</b>	<b>0,007</b>
Menopause	0,145
Tumorstadium	0,379
Nodalstatus	0,386
Grading	0,342
Histologie	0,405
<b>Östrogenrezeptor</b>	<b>0,052</b>
<b>Progesteronrezeptor</b>	<b>0,084</b>
c-erbB2	0,563

Tab. 26: Mögliche Einflussfaktoren mit p-Wert

In einem zweiten Schritt wurde der Einfluss mehrerer Faktoren auf die histologische Remission in einem logistischen Regressionsmodell untersucht. Als Einflussfaktoren (Kovariablen) wurden die Art der primär systemischen Therapie, der Östrogen- und Progesteronrezeptor gewählt. Der Faktor „Art der PST“ wurde in drei Kategorien eingeteilt: „PST1“, bestehend aus AC-Doc und ADoc als Referenzwert, „PST2“ (Docetaxel/Exemestan) und „PST3“ (Letrozole). Da einer der Einflussfaktoren „PST3“ (Letrozole) nur in einer Ausprägung (keine histologische Komplettremission) der binären Zielvariablen (histologische Komplettremission vs. keine histologische Komplettremission) auftrat (Tab. 27), versagte das übliche Verfahren der logistischen Regression mit SPSS und SAS (die Likelihood war in diesem Fall monoton). Beim Vorliegen einer „quasi-complete separation“ wurde ein Makro (SAS-Makro) zur Korrektur der maximalen Likelihood-Schätzungen der Regressionskoeffizienten integriert (Heinze & Schemper, 2002; Heinze & Plohner, 2003). Mit Hilfe dieses Korrekturverfahrens ist es möglich, brauchbare Schätzungen der Regressionskoeffizienten zu erreichen.

		Art der PST				Gesamt
		Docetaxel Exemestan	ADoc	AC-Doc	Letrozole	
<b>keine histologische Komplett- remission</b>	Anzahl	9	5	2	10	26
	Erwartete Anzahl	7,9	5,5	4,7	7,9	26,0
	% von histol. Remission	34,6%	19,2%	7,7%	38,5%	100,0%
	Korrigierte Residuen	1,0	-0,5	-3,0	2,0	
<b>histologische Komplett- remission</b>	Anzahl	1	2	4	0	7
	Erwartete Anzahl	2,1	1,5	1,3	2,1	7,0
	% von histol. Remission	14,3%	28,6%	57,1%	0%	100,0%
	Korrigierte Residuen	-1,0	0,5	3,0	-2,0	
<b>Gesamt</b>	Anzahl	10	7	6	10	33
	Erwartete Anzahl	10,0	7,0	6,0	10,0	33,0
	% von histol. Remission	30,3%	21,2%	18,2%	30,3%	100,0%

Tab. 27: Kreuztabelle „Art der primären systemischen Therapie“ und „histologische Komplettremission“ vs. „keine histologische Komplettremission“

In der multivariaten Analyse erzielte die „PST1“ mit ADoc bzw. AC-Doc die größte Wahrscheinlichkeit für den Eintritt einer „histologischen Komplettremission“ ( $p=0,0118$ ). Ein positiver Progesteronrezeptor sprach tendenziell mit einem  $p$ -Wert von  $p=0,0715$  eher dafür „keine histologische Komplettremission“ zu erreichen (Tab. 28).

Kovariable	geschätzter Koeffizient	Standardfehler	Odds-Ratio	95%-Konfidenzintervall	p-Wert
PST2	-1,61858	1,13681	0,19818	0,015777-1,39842	0,1076
PST3	-3,06858	1,66271	0,04649	0,000317-0,56131	0,0118
PgR	-1,68600	0,98714	0,18526	0,021505-1,15480	0,0715

Tab. 28: Multivariate Analyse - geschätzter Koeffizient, Standardfehler, OR, 95%-Konfidenzintervall und  $p$ -Wert für die Art der PST und den Progesteronrezeptor.

## 4 Diskussion

### 4.1 Videodensitometrie zur Darstellung der Gefäßversorgung unter primär systemischer Therapie des Mammakarzinoms

Das Tumorwachstum und die dazu notwendige Tumorversorgung mit Sauerstoff sind durch Diffusion nur bis zu einem Tumordurchmesser von 2 mm möglich, darüber hinaus ist eine Gefäßversorgung notwendig. Bereits bei einer Tumorgröße von 1-2 mm<sup>3</sup> setzt eine intensive Angiogenese ein (Folkman, 1990; Pluda 1997). Es zeigt sich eine starke Korrelation zwischen dem Tumorwachstum, dem invasiven Potential, der Fähigkeit zur Metastasierung und der Angiogenese von malignen Tumoren (Folkman, 1995; Watermann et al., 2004; Grossniklaus et al., 1998; Ortega et al., 1997; Srivastava et al., 1989; Schneider et al., 2005). In vielen Studien wurde als Monitoringkriterium einer primär systemischen Therapie die Tumorgröße gewählt, welche allerdings häufig den Endpunkt der Therapie darstellt. Die Vaskularisierung und Perfusion eines Tumors gelten als Surrogatmarker seiner Vitalität und sind deshalb mögliche Spiegel für das Ansprechen auf die Therapie. Sie können dem Tumorschrumpfen deutlich vorausgehen (Wasser et al., 2003). Die morphologische Blutgefäßdichte als Maß der Vaskularisation eines Tumors wird histologisch und immunhistochemisch am Biopsie- oder Operationspräparat untersucht. Eine nicht-invasive funktionelle Diagnostik der Perfusion in-vivo ist durch bildgebende Verfahren, wie das MRT oder die Dopplersonographie möglich und lässt die Analyse der Durchblutung während der systemischen Tumorthherapie zu (Delorme, 1998; Gee et al., 2001; Donnelly et al., 2001). Die größte Schwierigkeit der Dopplersonographie besteht in der suffizienten Darstellung von sehr langsamen Flussignalen in kleinen Gefäßen. Um deren Darstellung zu verbessern, bewährten sich die Ultraschallkontrastmittel (Schroeder et al., 1999; Moon et al. 2000; Kedar et al., 1996; Winehouse et al., 1999). Zahlreiche Autoren untersuchten den Zusammenhang der Kontrastmitteldosis und Darstellung im Power Doppler-Modus, der nur eine geringe Frequenzverschiebung und minimale Anzahl an intravaskulär reflektierender Partikel für eine hinreichende Untersuchung benötigt und bestätigten, dass eine direkte Analyse der Kontrastmittelkonzentration und damit die Ableitung des Blutvolumens in der dargestellten Ultraschallebene möglich ist (Bell et al., 1995; Blomley et al., 1997; Rubin et al., 1995; Schwarz et al., 1998; Ugolini et al., 2000). Es können Blutflüsse in Gefäßen kleiner als 40 µm dargestellt werden. Der Einsatz erlaubt

damit eine optimierte Darstellung der Mikroperfusion und evtl. auch -vaskularisation und unter antiangiogener Therapie den frühen Nachweis der Regression der Tumovaskularisation (Kedar et al., 1996; Huber et al., 1998; Lassau et al., 2001). Vorteile des kontrastverstärkten Dopplerultraschalls sind die niedrigen Kosten der Methode, fehlende schwere Nebenwirkungen (einzige Kontraindikation für Levovisist<sup>®</sup>: Galaktosämie), Wiederholbarkeit und auch die Möglichkeit der „Bedside“-Untersuchung. Die zunehmende Verfügbarkeit von Softwarepaketen zur objektiven Quantifizierung der Kontrastmitteldynamik und -kinetik reduziert die Untersuchervariabilität und verbessert die Differenzierung zwischen Tumor und inflammatorischer Begleitreaktion (Cosgrove et al., 2001). Die quantitative Darstellung der kontrastverstärkten Power Doppler-Sonographie in Form von Füllungskurven nutzten wir in unserer Studie, um Parameter der Füllungskinetik zu prüfen und cut-off-Werte zu erarbeiten, die zur Einschätzung der Prädiktion der Komplettremission und Prognose unter primär systemischer Therapie des Mammakarzinoms dienen sollen.

Die histologische Komplettremission gilt als ein Surrogatmarker für eine bessere Prognose hinsichtlich des krankheitsfreien Überlebens und des Gesamtüberlebens. Tumore, die unter der PST eine histologische und klinische Komplettremission erreichten, zeigten vor Beginn der Therapie in unserer Untersuchung eine deutlich stärkere Kontrastmittelanflutung, die sich vor allem in den maximalen Helligkeitsparametern widerspiegelte. Wenn auch die medianen Helligkeit-Zeit-Kurven dies sehr gut darstellen, war der Unterschied aufgrund der Streuung nur tendenziell (p-Wert 0,06-0,092) und nicht signifikant. Möglicherweise ist die insgesamt geringe Patientinnenzahl in unserer Untersuchung und die Anzahl der Patientinnen, die auf die PST mit einer histologischen bzw. klinischen Komplettremission ansprachen (n=7, bzw. n=9) zu gering und damit die Streuung zu groß. Präoperativ ließ sich zwischen den beiden histologischen Gruppen kein Unterschied in der Ultraschallkontrastmittelkinetik mehr nachweisen (p-Wert 0,299-0,962), so dass sich vermuten lässt, dass die variantenreichen Tumorgefäßsysteme und die damit verbundene Kontrastmittelkinetik nach stattgehabter PST ähnlicher wurden. Die Gruppe, die als eine klinische Komplettremission eingeschätzt wurde, zeigte präoperativ ein signifikant niedrigeres Ausgangsniveau, einen langsameren Kurvenanstieg und einen insgesamt flacheren Kurvenverlauf als die Gruppe, die keine klinische Komplettremission hatte (p-Werte: 0,021-0,045). Im Verlauf der systemischen Therapie zeigte sowohl die Gruppe mit einer histologischen als auch einer klinischen Komplettremission eine kontinuierliche und



signifikante Abnahme des Helligkeitsmaximums ( $p=0,019$  und  $p=0,006$ ), so dass daraus eine Prädiktion über das histologische und klinische Ansprechen getroffen werden kann. Die Parameter sinken dagegen in den Gruppen, die keine histologische oder klinische Komplettremission erreichen, nur marginal und nicht signifikant ( $p=0,439$ , bzw.  $p=0,682$ ). Der Nachweis einer klinischen Komplettremission wäre auch für das operative Management und die damit mögliche rechtzeitige Markierung des ehemaligen Tumorbettes sinnvoll. Der zur Differenzierung einer klinischen Komplettremission ermittelte cut-off-Wert von „Bmax“ ( $33,4 \times 10^5$  DU) vor der PST erreichte bei einer Spezifität von 86,7% eine Sensitivität von 66,7%. Ein cut-off-Wert von  $33,5 \times 10^5$  DU für „Bmax“ lässt mit einer Sensitivität von 71,4% und einer Spezifität von 82,4% Patientinnen selektieren, die unter einer PST eine histologische Komplettremission erreichen können. Dies kann bei Therapieplanung und Auswahl der therapeutischen Substanzen berücksichtigt werden. Um Therapien mit geringer Effektivität und hoher Nebenwirkungsrate zu vermeiden, erschien es uns wichtig Parameter zu identifizieren, die für eine Therapieresistenz sprechen. Prätherapeutisch ließ sich allerdings kein Unterschied der Kontrastmittelkinetik zwischen den Gruppen erkennen. Im Verlauf zeigten die Tumore, die auf eine Therapie partiell oder komplett ansprachen, für „Bmax“ eine signifikante Abnahme. Bei den zwei Patientinnen mit einer Therapieresistenz, die mehrere Verlaufsmessungen erhalten hatten, trat kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Messungen auf. Es kam zur Zunahme oder Abnahme der Helligkeitsmaxima zwischen den einzelnen Messungen, was möglicherweise durch zeitlich unterschiedlich stark perfundierte Tumorareale, Shunts, Nekroseanteile verursacht wurde. Nach Abschluss der PST waren trendmäßig die Helligkeits- und Pixelparameter deutlich niedriger in der Gruppe, die auf die Therapie partiell oder komplett ansprach. Ein signifikanter Unterschied wurde nur für Parameter im Kurvenauslauf „B10% postmax“ und „B0 postmax“ erreicht.

In der Literatur gibt es wenige Studien mit ähnlichem Aufbau, welche die Tumorperfusion des Mammakarzinoms im Rahmen einer primär systemischen Therapie mittels kontrastverstärkten Ultraschall und Videodensitometrie evaluieren (Broillet et al., 2005; Vallone et al., 2005).

Vallone et al. legten in ihrer Arbeit den Schwerpunkt auf den Vergleich des Basis-Farbdopplers und der kontrastverstärkten Farbdopplersonographie. Sie wiesen eine verbesserte Sensitivität gegenüber residuellem Tumorgewebe durch den

kontrastverstärkten Ultraschall mit Levovist<sup>®</sup> nach. Es wurden 50 Frauen mit lokal fortgeschrittenem Brustkrebs (T3-T4) vor und nach einer primären Chemo- bzw. Hormontherapie mit beiden Methoden untersucht. Die Auswertung erfolgte aber nicht automatisiert, sondern als eine semi-quantitative Einteilung in vier Vaskularisationsgrade, wodurch eine Untersuchervariabilität nicht auszuschließen ist. In 4 Fällen (8%) zeigte der Basis-Farbdoppler keine Vaskularisation, in einem Fall wurde nach der Injektion von Levovist<sup>®</sup> eine Vaskularisation sichtbar, so dass in 94% der Fälle ein Anstieg des Kontrasts und eine Vaskularisation des Tumors nachgewiesen werden konnte. Im Gegensatz zu unserem Sprachgebrauch wurde in der hier zitierten Arbeit mit Vaskularisation die Perfusion bezeichnet. Wir konnten in unserer Studie bei allen Tumoren vor und nach Kontrastmittelgabe Blutfluss in den Tumorgefäßen darstellen. Möglicherweise lag dies an der Verwendung des Power Doppler-Modus, der unabhängig vom Beschallungswinkel sensitiver für langsame Flüsse ist. Bei Vallone zeigte der Basis-Farbdoppler nach der neoadjuvanten Therapie bei 31 von 50 Patientinnen (62%) kein vaskuläres Signal. Nach der Gabe von Levovist<sup>®</sup> konnte in 9 Fällen ein vaskuläres Signal nachgewiesen werden, welche primär avaskulär waren. Im Gesamtkollektiv unserer Studie zeigten die Tumore nach der PST im Bereich des alten Tumorbettes ein niedriges Ausgangsniveau und nach Gabe von Kontrastmittel ein signifikant niedrigeres Maximum. Im Vergleich der Helligkeit-Zeit-Kurven vor und nach der PST ließ sich im Gesamtkollektiv eine signifikante Abnahme der Helligkeit nach der PST nachweisen. Bereits ohne Kontrastmittel sank das Power Doppler-Signal nach der PST im Median auf 75% zum prätherapeutischen Wert ( $p=0,006$ ). Nach Gabe des Kontrastmittels lag das Kurvenmaximum in seiner Intensität im Median bei 58,7% des prätherapeutischen Maximum ( $p=0,012$ ). Im zeitlichen Kurvenverlauf ließen sich keine signifikanten Unterschiede nachweisen.

Die echo-histologische Übereinstimmung betrug 68% bei Vallone et al. (34/50 Fälle) und war mit Kontrastmittelverstärkung wesentlich sensitiver als der Basis-Farbdoppler. In unserer Studie konnten wir nach Festlegung der cut-off-Werte eine echo-histologische Übereinstimmung von 75% erreichen. Die falsch negative Rate war in unserer Studie mit 5 von 11 Fällen allerdings deutlich schlechter als bei Vallone et al. (6/22 Fälle). Dies lag am ehesten daran, dass für die Prädiktion einer histologischen Komplettremission die videodensitometrischen Untersuchungen vor der PST am aussagekräftigsten waren und anschließend die Therapien mit unterschiedlicher „Aggressivität“ durchgeführt wurden. Die fünf falsch negativen Ergebnisse waren Fälle,

die eine primär endokrine Therapie mit Letrozole bei einem lokal weit fortgeschrittenen Tumor (3 Patientinnen mit T3-4-Tumoren) erhielten und wegen des Perfusionsmusters und der daraus resultierenden Füllungskinetik videodensitometrisch für eine histologische Komplettremission sprachen. Aufgrund des Alters, der Konstitution, des Postmenopausenstatus und der Hormonrezeptorpositivität des Tumors erhielten die Patientinnen eine vom Nebenwirkungsprofil gut zu tolerierende primär endokrine Therapie im Rahmen der FEM-D-1-Studie (Paepke et al., 2001). Die histologische Komplettremission war nicht der Endpunkt der Studie, sondern es wurde das klinische Ansprechen im Hinblick auf die Behandlungsdauer geprüft. Nach 4 Monaten Letrozole-Einnahme erreichten 57% der Patientinnen eine klinische Partial- bzw. Komplettremission. Mit einer längeren Behandlungsdauer bis zu 8 Monate konnte ein signifikanter Anstieg der Tumorreduktion bei 90% der Patientinnen nachgewiesen werden ( $p=0,0393$ ). Insgesamt konnte eine Verminderung der Tumorgröße von T2-4b zu T1-2 und damit deutlich die Rate an brusterhaltenden Operationen gesteigert werden (Paepke et al., 2001). In der internationalen Literatur werden in den publizierten prospektiven randomisierten Studien zur primär endokrinen Therapie (Eiermann et al., 2001; Smith et al. 2005) keine pCR beschrieben. Die einzige Ausnahme ist die Arbeit von Semiglazov mit einer pCR unter antihormoneller PST (Semiglazov et al., 2007).

In der von Broillet et al. (Broillet et al., 2005) aufgelegten Studie wurden anhand von Bolusgaben des Ultraschallkontrastmittels SonoVue<sup>®</sup> (Schneider et al., 1995) die Veränderungen der Perfusion während des Tumorwachstums eines syngenen orthotopen Brustkrebsmodells in der Ratte und die Therapieeffekte des antiangiogen aktiven Medikamentes TNF (Ruegg et al., 2000) und RAD001 (Guba et al., 2002) untersucht. Ein Vorteil dieser experimentellen Studie war die Möglichkeit, die Untersuchungsbedingungen stark zu standardisieren und einen Vergleich mit einer Placebokontrollgruppe durchzuführen. Zur Erhebung der Zeit-Intensitäts-Kurven wurden 0,2ml SonoVue<sup>®</sup> pro Ratte (Bracco, Italien) injiziert und nach Digitalisierung der aufgezeichneten Untersuchung die maximale Intensität und die Fläche unter der Kurve (AUC) errechnet. Die Zeit-Intensitäts-Kurve zeigte ein Plateau von 5-20 Sekunden nach der Injektion von SonoVue<sup>®</sup>, möglicherweise korrespondierend zur Rezirkulation des Kontrastmittels in Gefäßshunts. Diese Plateaus im Bereich des Maximums konnten wir nur teilweise bestätigen. Dies liegt sicher auch an der unterschiedlichen Differenzierung und Größe der Tumore in unserer Studie, so dass vaskuläre Shunts in

unterschiedlichem Ausmaß zur Darstellung kamen und im Unterschied der verwendeten Kontrastmittel. Broillet et al. sahen einen Anstieg der AUC während des Tumorwachstums nach Implantation der Tumorzellen, welcher dem steigenden tumoralen Blutvolumen während der angiogenen Prozesse entspricht. Danach fiel die AUC in der therapiefreien Kontrollgruppe wieder ab. Dies wurde mit dem starken Tumorwachstum und dem damit verbundenen Anstieg an nekrotisierenden und nicht perfundierten Arealen erklärt. Nach der Gabe von TNF peritumoral sank in der Therapiegruppe die AUC am ersten Tag post injectionem, sonst gab es keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe. Die orale Gabe von RAD001 resultierte allerdings in einer starken Abnahme der AUC im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Differenz war signifikant und hielt während der Beobachtungszeit von 14 Tagen an. Ähnlich unserer Studie ließen sich deutliche Unterschiede der antiangiogenen Effekte verschiedener Therapien nachweisen. Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, dass es sich in der Studie von Broillet et al. eher um nachgewiesene Kurzzeiteffekte handelte.

Eine Studie zur präoperativen Behandlung von Mammakarzinomrezidiven wurde von Lamuraaglia et al. (Lamuraaglia et al., 2005) veröffentlicht, in der zehn Patientinnen prospektiv in einer Phase-II-Studie eingeschlossen waren. Diese Patientinnen erhielten eine kontrastverstärkte Power Doppler-Sonographie mit SonoVue<sup>®</sup> vor und nach einer Radiofrequenztherapie (RFT) und anschließender Operation. Von der aufgezeichneten Power Doppler-Untersuchung suchten zwei Untersucher das Bild mit der stärksten Kontrastmittelaufnahme zum Zeitpunkt der maximalen Verstärkung aus. Mittels Software wurde der Prozentsatz des Kontrastmittelsignals im Power Doppler-Fenster bestimmt. Vor der RFT zeigten alle 10 Tumore ein Kontrastmittelsignal. Direkt nach der intratumoralen Radiofrequenz-Therapie ließ sich in 9 Fällen keine Perfusion nach Kontrastmittelgabe mehr nachweisen. Eine Läsion zeigte ein Signal von annähernd 30%, hier wurde histologisch auch in 25% vitales Tumorgewebe nachgewiesen. Die histologische Analyse wies eine komplette Tumorzerstörung in 7 von 10 Fällen nach. Zwei falschnegative Fälle traten auf. Diese Tumore zeigten bereits vor der Therapie weniger als 50% Kontrastmittelaufnahme. Der vitale Tumorest betrug ca. 430 mm<sup>3</sup> und 180 mm<sup>3</sup>, so dass die Frage offen bleibt, wie groß das Minimum an Tumorzellen sein muss, das mit dem kontrastverstärkten Power Doppler-Ultraschall detektiert werden kann.

Eine mit dem Untersuchungsaufbau dieser Dissertationsschrift sehr vergleichbare Studie wurde von Eckersley et al. (Eckersley et al., 2002) zum Therapiemonitoring des fortgeschrittenen Prostatakarzinoms durchgeführt. Es wurden 36 Männer, die 6 Monate eine antiandrogene Therapie erhielten, untersucht. Der kontrastverstärkte, transrektale Ultraschall wurde vor Beginn der Behandlung, am Tag 1 und 3 sowie nach 1, 3 und 6 Wochen und 3 und 6 Monaten wiederholt. Es wurde entweder eine kontrastverstärkte Standard-Farbdopplersonographie oder Power Doppler-Sonographie mit Levovist® (Schering AG, Berlin) durchgeführt. Die aufgezeichneten Untersuchungssequenzen wurden digitalisiert und mit einer speziellen Software (CQ software-Kinetic Imaging, Liverpool, UK) Zeit-Intensitäts-Kurven erstellt und deren Indices - AUC (Area under the Curve), AT (Arrival Time), TTP (Time to Peak enhancement), PV (Peak Value of the Signal), PRE (Baseline Value Prior to Injection of Levovist) errechnet. Die Indices, die die Signalstärke reflektieren (PRE, AUC, Peak), zeigten alle eine starke Abnahme während der Therapie. Die durchschnittliche AUC sank nach einer Woche Behandlung auf 68%-69%, nach 3 Wochen auf 56%-59% und nach 6 Wochen auf 20-24%. Die AUC-Abnahme nach einer Woche Therapie war der sensitivste Index (35%,  $p=0,043$ ). Diese Ergebnisse sind in unserer Studie ähnlich. Patientinnen, die eine klinische Komplettremission entwickelten, zeigten nach der ersten Kontrolle eine Abnahme von „Bmax“ im Median auf 81,1%, zur zweiten Kontrolle auf 58,4% und präoperativ sank „Bmax“ im Median auf 40,5% des Ausgangswertes. Diese Abnahme war signifikant ( $p=0,006$ ). Im Vergleich war die Abnahme von „Bmax“ bei Patientinnen, die keine klinische Komplettremission zeigten, viel geringer (87,7%, 77,2%, 72,1% des Ausgangswertes) und nicht signifikant ( $p=0,682$ ). Der von Eckersley et al. beschriebene PRE-Index, welcher vor der Gabe von Kontrastmittel gemessen wurde, zeigte ebenfalls eine starke Veränderung nach 3 Wochen (70% Abfall,  $p=0,003$ ). Obwohl die durch Kontrastmittel akquirierte AUC suffizient einen Therapieeffekt anzeigte, war auch die Quantifizierung der Power Doppler-Werte ohne Kontrastmittel sehr gut und stellte die Kontrastmittelgabe wieder in Frage. Dies konnten wir in unserer Studie nicht bestätigen. Die Basiswerte vor Kontrastmittelgabe ließen keinen Schluss auf das Remissionsverhalten der Tumore zu. Einzige Ausnahme war ein signifikant niedrigeres Ausgangsniveau bei klinischer Komplettremission nach Abschluss der PST. Ähnlich unseren Ergebnissen zeigten die zeitlichen Indices keine Veränderungen. Eckersley et al. führten dies auf die reduzierte Anzahl der Tumorgefäße unter Androgenblockade zurück. Die Struktur, welche die Hämodynamik und damit die zeitlichen Indices

kontrolliert, bleibt vermutlich unverändert. Allerdings scheint der hohe mechanische Index des Power Doppler-Modus eine große Menge Kontrastmittelbläschen bei der Passage der großen Gefäße zu zerstören, so dass nur wenige lang genug intakt bleiben, um die sehr schmalen Gefäße zu erreichen. Es ist wahrscheinlich, dass nicht die kleinsten Tumorkapillaren untersucht wurden. In unserer Studie erschien es zusätzlich schwierig den korrekten Untersuchungsbeginn zu ermitteln. Nach manueller Applikation des Kontrastmittels durch einen Assistenten wurde der Beginn der Kontrastmittelgabe auf dem Video markiert. Unterschiedlich schnelle Applikationszeiten könnten zu einer Streuung der Zeitparameter geführt haben. Eine Applikation des Kontrastmittels mittels Perfusor könnte eine gleichmäßigere Bolusgabe gewährleisten, erhöht allerdings auch wieder den apparativen Aufwand.

Durch die prätherapeutische strenge Festlegung der Geräte- und Untersuchungseinstellung wollten Eckersley et al. eine longitudinale Vergleichbarkeit der Daten eines jeden Patienten erreichen, allerdings sank das Power Doppler-Signal bei eintretendem Therapieeffekt teilweise so stark ab, dass die resultierten Zeit-Intensitäts-Kurven aufgrund der niedrigen Sensitivität von sehr schlechter Qualität waren. Wir entschieden uns, die Farbverstärkung (Color Gain) bei sonst gleichbleibender Geräteeinstellung individuell einzustellen, so dass ein Gefäßsignal bei minimalem Farbrauschen vor der Untersuchung nachgewiesen werden konnte. Dies ermöglichte auch die Aufzeichnung von Zeit-Helligkeits-Kurven von guter Qualität über den Verlauf der Therapie.

Generell zu bedenken gilt, dass mit der Festlegung des Untersuchungsfensters nur eine zweidimensionale Stichprobe eines komplexen Gefäßbaumes ausgewählt wird, weshalb jede Bewegung der Sonde oder des Patienten eine große Variation des empfangenen Signal bedeuten kann. Die Entwicklung von Software, welche der eingestellten Läsion folgt und Bewegungen kompensiert, wird hilfreich für die akkurate und objektive Quantifizierung der Therapieeffekte sein (Cosgrove et al., 2003). Schwierig erscheint auch die tatsächliche Untersuchung der Kapillargefäße, da durch den Schalldruck den z.B. Levovist<sup>®</sup> benötigt, eine hohe Anzahl an Kontrastmittelbläschen bereits zerstört ist, bevor das Kapillarbett erreicht wird. Eine Möglichkeit dies zu umgehen, bietet der intermittierende kontrastverstärkte Ultraschall (Halpern et al., 2000). Bei dieser Methode werden intermittierend einzelne Bilder z.B. EKG-getriggert aufgenommen. Dies gibt dem Kontrastmittel die Zeit zwischen den Ultraschallimpulsen auch in die kleinen Gefäße zu perfundieren. Durch Verlängerung

der Zeitintervalle zwischen den Bildern ist es möglich, einen größeren Anteil des Gefäßbaums zu untersuchen (Wei et al., 1998).

Der Einsatz von Ultraschallkontrastmitteln zweiter Generation mit hoher intravaskulärer Stabilität, wie in den beschriebenen Arbeiten von Broillet et al. und Lamuraglia et al., war für den kontrastverstärkten Ultraschall in der Mammadiagnostik, wo kleine Gefäßkaliber dargestellt werden müssen, ein immenser Fortschritt (Broillet et al., 2005; Lamuraglia et al., 2005; Cosgrove et al., 2004). SonoVue® (Bracco, Mailand, Italien, Zulassung 2001) ist Sulfurhexafluorid und wird durch eine Phospholipidhülle stabilisiert (Greis et al., 2004). Mit einem Perfluorokohlenstoff gefüllte Kontrastmittel zirkulieren intravaskulär, überstehen die pulmonale und periphere kapillare Zirkulation, sind gegenüber der akustischen Kraft des Ultraschallsignals stabiler und persistieren länger im Blutstrom als die Ultraschallkontrastmittel erster Generation. Sie haben zudem ein besseres harmonisches Verhalten als luftgefüllte Ultraschallkontrastmittel (Quaia et al., 2003). Die derzeit verfügbaren Ultraschallkontrastmittel sind primär für den abdominalen Ultraschall entwickelt worden, so dass die optimale Resonanzfrequenz der Gasbläschen zwischen 1,5 und 8MHz liegt (Greis, 2004). Bei diesen niedrigen Frequenzen ist die räumliche Auflösung in der Mammadiagnostik gering, deren optimaler Frequenzbereich zwischen 7 - 10 MHz und höher liegt (Cha, 2005).

Die Weiterentwicklung von kontrastspezifischen Bildgebungsverfahren (Harmonic Imaging, Harmonic Power Imaging, Puls-/Phaseninversionsverfahren etc.) haben alle eine verbesserte Darstellung des Gewebe/Kontrast-Signals zum Ziel. Die Erfassungstechnik wird weiterhin zu diskutieren sein, da verschiedene Hersteller unterschiedliche Techniken für die Signalemission und Aufzeichnung wählten, sie bietet aber auch mit dem Fortschritt der Technik die Möglichkeit kleinste Gefäße darzustellen.

#### **4.2 Methoden des Therapiemonitorings im Vergleich**

Um die Wertigkeit der Videodensitometrie in der Praxis festzulegen, wurde der Vergleich mit der Palpation, Mammographie und Sonographie durchgeführt. Neben der Dokumentation und Quantifizierung des Tumoransprechens anhand von Tumorgröße und Morphologie wurde nun auch die pathophysiologische Tumoraktivität mit in die Prognoseeinschätzung und die Einschätzung der Therapieeffizienz einbezogen.

Eine alleinig geeignete Methode zur Prognoseeinschätzung zur Beurteilung des Therapieverlaufs lässt sich nicht uneingeschränkt favorisieren. In unserer Untersuchung

schien die Mammographie mit einer Spezifität und pos. prädiktivem Wert von 100% und einer Sensitivität von 91,4% zur Prädiktion einer histologischen Komplettremission am geeignetsten zu sein. Allerdings konnte nur bei ca. einem Drittel der Patientin der Tumor mammographisch überhaupt dargestellt werden, so dass nur bei diesen eine Verlaufsuntersuchung möglich war. Ebenfalls eine Spezifität und einen pos. prädiktiven Wert von 100% zeigte die Palpation, allerdings unterschätzte diese häufiger die Residualtumore (negativer prädiktiver Wert: 58,3%, Sensitivität: 80,8%). Die Sonographie zeigte leider nur eine Spezifität von 71,4% bei einer Sensitivität von 84,6%, (PPW 91,7%, NPW 55,6%). Die Videodensitometrie erreichte eine bessere Spezifität von 85,7% als die Sonographie, die Sensitivität lag allerdings bei 70,6% (PPW 92,3%, NPW 54,5%). Wurden diese Ergebnisse der statistischen Analyse unterzogen, konnte keine dieser Methoden einen signifikanten Vorteil aufweisen. Ein direkter Vergleich zur MRT, die als neuer Goldstandard für das Therapiemonitoring diskutiert wird und Methoden, die auch metabolische Prozesse darstellen, wie die Positronenemissionstomographie, wären wünschenswert.

#### 4.2.1 Die klinische Untersuchung

Die Palpation zeigte in unserer Studie eine hohe Spezifität von 100%, bei allerdings einem negativen prädiktiven Wert von 58,3%. Auch in anderen Arbeiten ergab die Palpation keine zufriedenstellenden Ergebnisse hinsichtlich des Therapieansprechens. Ein klarer Vorteil ist die leichte Durchführbarkeit, die geringen Kosten und Nebenwirkungsfreiheit. Andererseits kann fibrotisches und nekrotisches Gewebe zur Überschätzung des Resttumors führen oder ein mögliches klinisches Ansprechen auch durch das Abklingen von Hämatomen oder Ödemen nach Biopsie fälschlicherweise angenommen werden (Tardivon et al., 2006). Feldman et al. berichteten, dass 45% der Patientinnen mit einer klinischen Komplettremission einen makroskopischen Tumornachweis in der histologischen Untersuchung hatten. Umgekehrt zeigten 60% der Patientinnen mit einer histologischen Komplettremission in der klinischen Untersuchung Hinweise für einen Tumor (Feldman et al., 1986). Cocconi et al. untersuchte 49 Patientinnen und stellte ein Überschätzung der Tumorregression in 23% der Fälle und eine Unterschätzung in 9% der Fälle fest (Cocconi et al., 1984). Im dosisdichten kombinierten Therapiearm der GeparDUO-Studie wurden 436 Patientinnen untersucht. Die Sensitivität und der positive prädiktive Wert war durch Palpation gering und frühestens nach dem 3. Zyklus dokumentierbar. 68,1% der Patientinnen erfuhren eine



starke Abnahme des Tumordurchmessers während der PST. Hinsichtlich der histologischen Komplettremission war der prädiktive Wert der Palpation äußerst eingeschränkt (Müller et al., 2007).

#### 4.2.2 Mammographie

Die Mammographie zeigte in unserer Arbeit ebenfalls eine Spezifität von 100% mit einer relativ hohen Sensitivität von 94,1%, der negative prädiktive Wert lag bei 80%, so dass in unserer Studie die Mammographie die sicherste Methode war, eine histologische Komplettremission vorherzusagen. Allerdings erhielten nur 21 der 33 Patientinnen eine präoperative Mammographie, da bei den restlichen bereits vor Beginn der PST eine Abgrenzung des Tumors nicht möglich war. Dadurch ist die Mammographie als Untersuchungsmethode im Therapiemonitoring wiederum als sehr fraglich einzuschätzen. Die genaue Messung der Tumorgröße hängt vom Typ der Läsion und vom Kontrast zwischen Läsion und normalem Gewebe ab. Die Bestimmung wird im dichten Drüsengewebe mit abnehmendem Tumor-Gewebe-Kontrast schwieriger und ist beim inflammatorischen Mammakarzinom nahezu unmöglich. Üblicherweise sinkt unter der Therapie die Tumordichte in der Mammographie, diese Dichteabnahme kann nicht gemessen werden und beeinträchtigt auch die Größenmessung, da der Tumor-Gewebe-Kontrast ebenfalls geringer wird. In einer Studie von Helvie et al. (56 Patienten) hatten 96% der Patienten eine chemotherapieinduzierte Partial- bzw. Komplettremission. Die Mammographie hatte zum Nachweis eine deutlich höhere Sensitivität (79 vs. 49%) als die klinische Untersuchung, wies aber auch mehr falsch positive Resultate auf und erreichte eine Spezifität von 77% vs. 92% in der Palpation. Das Verhalten unter der Chemotherapie konnte nur korrekt gemessen werden, wenn der Tumor oder die Kalzifikationen in der ersten Mammographie sicher nachgewiesen werden konnten (Helvie et al., 1996). Vinnicombe et al. konnten in einer Untersuchung mit 95 Patienten ein mammographisches Tumoransprechen in 82% der Fälle nachweisen. Sie wiesen aber darauf hin, dass eine Vorhersage des pathologischen Ergebnisses mit der Mammographie, speziell wenn Kalzifikationen vorhanden sind, nur eingeschränkt möglich ist. Kalzifikationen eines duktales Carcinoma in situ bleiben auch bei gutem Ansprechen bestehen, wohingegen Kalzifikationen aufgrund einer Nekrose unter der Behandlung sekundär entstehen können. Eine Zunahme an Mikrokalzifikationen nach PST zeigte sich auch oft im Zusammenhang mit der Abnahme des Ödems oder der Dichte der Läsion (Vinnicombe et al., 1996). In einer Studie von

Moskovic et al. zum Vergleich von Mammographie und klinischer Untersuchung während einer PST zeigte sich ein klinisches Ansprechen in 83% der Fälle, während mammographisch ein Ansprechen in 63% der Fälle nachzuweisen war. Eine Übereinstimmung der beiden Methoden im Hinblick auf das Tumoransprechen fand sich in 63% der Fälle, wobei nur in 46% der Fälle der Grad des Ansprechens einheitlich dokumentiert wurde. Diese Diskrepanz wird auf die fortbestehende Präsenz von mammographischen Verdichtungsstrukturen zurückgeführt. Ein Vergleich zum histologischen Ansprechen wurde nicht durchgeführt (Moskovic et al., 1993).

#### 4.2.3 Sonographie

Die Sonographie schnitt in dieser Arbeit mit einer Sensitivität von 84,6%, einer Spezifität von 71,4% und einem negativen prädiktiven Werte von 55,6% vergleichsweise enttäuschend ab. Dies könnte auch die Ergebnisse der Videodensitometrie (Spezifität 85,7% und Sensitivität von 70,6%, NPW von 54,5%) erklären, welche auf der Basis der B-Bild-Sonographie durchgeführt wird. Die Sonographie wird in der publizierten Literatur sehr kontrovers diskutiert. Besonders die Untersucherabhängigkeit wird als ein großes Problem angesehen. Die Ausdehnung bzw. Schrumpfung des echoarmen Tumorkerns lässt sich während der systemischen Therapie sonographisch sehr gut verfolgen. Unter dem Einfluss der Therapie zeigt sich eine Verkleinerung des echoarmen Tumorkerns und des echodichten Randsaums. Die Abgrenzbarkeit gegenüber dem umgebenden echoreichen Drüsengewebe nimmt ab. Die Verformbarkeit der Herdstruktur nimmt unter der Therapie mit Nachlassen des Gewebeturgors zu. Ob sich allerdings in einem sonographisch tumortypischen Restbefund tatsächlich noch vitale Zellen befinden oder es sich histologisch um fibröses Narbengewebe handelt, lässt sich aus dem Ultraschallbild nicht ableiten. Balu-Maestro et al. wies mit der Sonographie nur in 43% die tatsächliche Größe des Residualtumors nach einer medikamentösen Therapie nach (Balu-Maestro et al., 2002). Von Fornage et al. und Herrada wurde die Sonographie allerdings speziell bei der Messung hypoechogener Tumoren der Mammographie und Palpation als überlegen eingestuft (Fornage et al., 1987 ; Herrada et al., 1997). In einer von Schott et al. veröffentlichten Studie mit 41 Patientinnen wurde die Prädiktion des histologischen Ansprechens mittels Palpation, Mammographie und Sonographie bestimmt. Diese Ergebnisse waren mit 75%, 89%, 82% ohne signifikante Unterschiede (Schott et al., 2005). Schwierigkeiten weist die Sonographie bei multifokalen Tumoren, fraktionierten Tumoranteilen oder bei Tumoren auf, die größer als die Ultraschallsonde

sind. Andererseits ist die Evaluation mittels Ultraschall auch bei sehr kleinen Residualtumoren mit einer geringen Spezifität schwierig. Roubidoux et al. untersuchten prospektiv 34 Mammakarzinompatientinnen (max. Tumordurchmesser 24 mm) vor und nach der neoadjuvanten Chemotherapie mittels Sonographie. Die Sensitivität für Residualtumoren >7mm war relativ hoch; 4 falsch-negative Ergebnisse traten bei Residualtumoren kleiner 6mm auf. Drei falsch-positive Resultate wurden aufgrund einer Fibrose bzw. biopsieinduzierten Veränderungen gesehen (Roubidoux et al., 2005). Herrada et al. und Finlayson et al. zeigten, dass die Sonographie die Tumorgöße häufig unterschätzt und dass speziell für große Tumore diese Methode eher ungeeignet erscheint, da diese Karzinome häufig fragmentiert und multifokal sind (Herrada et al., 1997; Finlayson et al., 2000). In einer Studie von Minkwitz et al. wurden 42 Patientinnen präoperativ mit Doxorubicin und Docetaxel behandelt. Es erfolgte ein Vergleich der Sonographie in Bezug auf das histologische Ansprechen. Dabei zeigte sich, dass die klinische Untersuchung die Remissionsraten erheblich überschätzte. Nur 2 von 14 Patientinnen mit klinischer Komplettremission zeigten tatsächlich in der histologischen Untersuchung keine residualen Tumorformationen. Die Korrelation der sonographischen zur histologischen Untersuchung war besser, aber letztendlich zeigte nur eine von fünf Patientinnen, die sonographisch keinen Tumornachweis hatte, eine histologische Komplettremission. Die Sonographie war aber durchaus geeignet die Gesamtemissionsraten und damit Wirksamkeit der Therapie zu bestätigen (von Minckwitz, 1999).

Die prädiktiven Faktoren eine histologische Komplettremission zu erreichen, waren in unserer uni- und multivariaten Analyse die Art der Chemotherapie (AC-Doc und ADoc) und tendenziell der negative Progesteronrezeptorstatus, dies korreliert mit Daten der Metaanalyse an 6402 Patientinnen, die von Minckwitz et al. durchgeführt haben. Danach profitieren Patientinnen mit einem hormonrezeptornegativen Tumor, G3-Karzinomen und c-erbB2-negativen Tumor, c-erbB2-positiven Tumoren mit additiver Trastuzumab-Therapie, Patientinnen mit objektiver Tumoremmission nach zwei Zyklen Docetaxel, Doxorubicin und Cyclophosphamid (TAC) und Patientinnen mit Tumoren < 5 cm und jüngere Patientinnen von der Therapie (von Minckwitz et al., 2009).

## 5 Zusammenfassung

Hintergrund: In der vorgelegten Dissertation wurde die Wertigkeit der Videodensitometrie, einer kontrastmittelverstärkten Power Doppler-Untersuchung mit digitaler Datenanalyse, als eine Methode zur Prädiktion des klinischen und histologischen Ansprechens des Mammakarzinoms unter primär systemischer Therapie, untersucht.

Patientinnen und Methoden: Dreiunddreißig Patientinnen mit einem histologisch gesicherten Mammakarzinom (T2-T4) wurden während einer primär systemischen Therapie (PST) untersucht. Zu jeder Power Doppler-Untersuchung wurden 7 ml Levovist® (300mg/ml) als i.v.-Bolus appliziert. Anhand einer digitalen numerischen Analyse wurden Füllungskurven erstellt und quantitative Parameter errechnet. Diese Ergebnisse wurden mit den Methoden der Palpation, Mammographie und Sonographie verglichen.

Ergebnisse: Anhand der Füllungskurven lässt sich im Gesamtkollektiv eine signifikante Abnahme des Helligkeitsmaximums nach Abschluss der PST nachweisen. Dies liegt im Median bei 58,7% des prätherapeutischen Wertes ( $p=0,012$ ). Tumore, die unter der PST eine histologische und klinische Komplettremission erreichten, zeigten vor Beginn der Therapie tendenziell eine höhere maximale Helligkeit als die Tumore der Vergleichsgruppe ( $p=0,07$ ;  $p=0,06$ ), die im Therapieverlauf signifikant und kontinuierlich abnahmen ( $p=0,019$ ;  $p=0,006$ ). Der cut-off-Wert des Helligkeitsmaximums zur Prädiktion einer histologischen Komplettremission erreichte eine Spezifität von 82,4% und Sensitivität von 71,4%. Präoperativ unterscheidet sich das niedrigere Ausgangsniveau, der langsamere Kurvenanstieg und der flachere Kurvenverlauf bei einer klinischen Komplettremission signifikant von der Vergleichsgruppe ( $p$ -Werte: 0,021-0,045). Im Methodenvergleich von Videodensitometrie, Mammographie, Palpation und Sonographie erschien die Mammographie mit einer Spezifität 100% und Sensitivität von 94,1% hinsichtlich der Prädiktion einer histologischen Komplettremission gegenüber den anderen Methoden überlegen. In der statistischen Analyse erreichte keine dieser Methoden einen signifikanten Vorteil.

Schlussfolgerung: Die mit der Videodensitometrie quantifizierte vaskuläre Signalverstärkung sinkt im Verlauf der primär systemischen Therapie kontinuierlich ab. Zur Prädiktion einer histologischen Komplettremission ist die Untersuchung vor Beginn der PST am aussagekräftigsten. Es erscheint sinnvoll, die Untersuchung der Tumorperfusion mit in die Therapieplanung einzubeziehen.

**6 Literaturverzeichnis**

- Ah-See MLW, Makris A, Taylor J, Harrison M, et al. (2008): Early changes in functional dynamic Magnetic Resonance Imaging predict for pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in primary breast cancer. *Clin Cancer Res* (20) 6580-6589
- Algire GH, Chalkley HW, Legallais FY, Park HD. (1945): Vascular reactions of normal and malignant tissue in vivo. *J Natl Cancer Inst* (6) 73-85
- Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination (ATAC) Trialists' Group (2008): Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 100-month analysis of the ATAC trial. *Lancet Oncol* (9) 45–53
- Bader W, Böhmer S, Otto WR, Degenhardt F, Schneider J (1994): Texturanalyse: Ein neues Verfahren zur Beurteilung sonographisch darstellbarer Herdbefunde der Mamma. *Bildgebung* (61) 284-290
- Balu-Maestro C, Chapellier C, Bleuse A, et al. (2002): Imaging in evaluation of response to neoadjuvant breast cancer treatment benefits in MRI. *Breast Cancer Res Treat* (72) 145–152
- Barnadas A, Gil M, Gonzalez S, et al. (2009): Exemestane as primary treatment of oestrogen receptor-positive breast cancer in postmenopausal women: a phase II trial. *Br J Cancer* (100) 442–449
- Bauerfeind I, von Bismarck F, Eiermann W, et al. (2005): Primär systemische Therapie aus MANUAL Mammakarzinome. 10. überarbeitete Auflage W. Zuckschwerdt Verlag München Wien New York, 121-128
- Bear HD, Anderson S, Brown A, et al for the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27 (2003): The effect on tumor response of adding sequential preoperative docetaxel to preoperative doxorubicin and cyclophosphamide: preliminary results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *Clin Oncol* (22) 4165–4174
- Bear HD, Anderson S, Smith RE, et al. (2006): Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol* (24) 2019-2027

- Bell DS, Bamber JC, Eckersley RJ (1995): Segmentation and analysis of color Doppler images of tumour vasculature. *Ultrasound Med Biol* (21) 635–647
- Benjamin LE, Golijanin D, Itin A, Pode D, Keshet E (1999): Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. *J Clin Invest* (103) 159–165
- Blohmer JU, Oellinger H, Schmidt C, Lichtenegger W (1998) Präoperative Prognoseeinschätzung von Patientinnen mit einem Mammakarzinom durch die farbkoodierte Dopplersonographie. *Geburtsh und Frauenheilk* (58) 6-12
- Blohmer JU, Paepke S, Kissner L, et al. (1999): Dose intensified, preoperative and adjuvant chemotherapy in patients with T3- and T4d-breast cancer: toxicity, clinical and pathological remission. *Zentralblatt Gynäkol* (121) 522-526
- Blohmer JU, Oellinger H, Grineisen Y, et al. (1999): Changes in spectral doppler measurement of Vmax after administration of an ultrasound agent – a possible new variable for the differential diagnosis of breast lesion. *Tumordiag u Radio Ther* (20) 164-170
- Blohmer JU (2000) Habilitationsschrift: Kontrastmittel-Videodensitometrie und Automatisierte Mikroskop-Bildanalyse zur Messung der Durchblutung und Vaskularisation von Mammakarzinomen. Aus Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin. Vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin
- Blohmer JU, Reinhardt M, Schmalisch G, et al. (2006): Videodensitometry in the examination of focal breast lesions after injection of an ultrasound contrast agent. *Anti Canc Res* (26) 1691-1698
- Blomley M, Albrecht T, Cosgrove D, Jayaram V, Bell D, Bamber J(1997): Quantitative contrast-enhanced color Power Doppler ultrasound: accuracy in vivo. *Radiology* (205) 418
- Bozzetti C, Musolino A, Camisa R, et al. (2006): Evaluation of Her-2/neu amplification and other biological markers as predictors of response to neoadjuvant anthracycline-based chemotherapy in primary breast cancer: the role of anthracycline dose intensity. *Am J Clin Oncol* (29) 171–177
- Broillet A, Hantson J, Ruegg C, Messenger T, Schneider M (2005): Assessment of microvascular perfusion changes in a rat breast tumor model using SonoVue to monitor the effects of different anti-angiogenic therapies. *Acad Radiol* (12) 28–33

- Carmeliet P, Mackman N, Moons L, et al. (1996): Role of tissue factor in embryonic blood vessel development. *Nature* (83) 73–75
- Cataliotti L, Buzdar AU, Noguchi S, et al. (2006): Comparison of anastrozole versus tamoxifen as preoperative therapy in postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer: the Pre-Operative "Arimidex" Compared to Tamoxifen (PROACT) trial. *Cancer* (106) 2095–2103
- Cha JH, Moon WK, Cho N, et al (2005): Differentiation of benign from malignant solid breast masses: conventional US versus spatial compound imaging. *Radiology* (237) 841–846
- Chagpar AB, Middleton LP, Sahin AA et al. (2006): Accuracy of physical examination, ultrasonography, and mammography in predicting residual pathologic tumor size in patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg* (243) 257–264
- Chang YS, di Tomaso E, McDonald DM, Jones R, Jain RK, Munn LL (2000): Mosaic blood vessels in tumors: frequency of cancer cells in contact with flowing blood. *Proc Natl Acad Sci USA* (97) 14608–14613
- Coates AS, Keshaviah A, Thürlimann B, et al. (2007): Five years of letrozole compared with tamoxifen as initial adjuvant therapy for postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer: update of study BIG 1-98. *J Clin Oncol* (25) 486–92
- Cocconi G, Di Blasio B, Alberti G, Bisagni G, Botti E, Peracchia G(1984): Problems in evaluating response of primary breast cancer to systemic therapy. *Breast Cancer Res Treat* (4) 309–313
- Cohen F, Kuwatsuru R, Shames D (1995). Contrast-enhanced MRI estimation of altered capillary permeability in experimental mammary carcinomas following X-irradiation. *Invest Radiol* (192) 205-210
- Coombes RC, Kilburn LS, Snowdon CF, et al. (2007): Survival and safety of exemestane versus tamoxifen after 2–3 years' tamoxifen treatment (Intergroup Exemestane Study): a randomized controlled trial. *Lancet* (369) 559–70
- Cosgrove D (2003): Angiogenesis imaging: ultrasound. *Br J Radiol* (76) 43–49
- Cosgrove D (2004): Future prospects for SonoVue and CPS. *Eur Radiol* (14) 116–124
- Cosgrove D, Eckersley R, Blomley M, Harvey C (2001): Quantification of blood flow. *Europ Radiol* (25) 1338–1344

- Costa SD, Loibl S, Kaufmann M, et al. (2010): Neoadjuvant chemotherapy shows similar response in patients with inflammatory or locally advanced breast cancer when compared with operable breast cancer: a secondary analysis of the GeparTRIO trial data. *J Clin Oncol* (28) 83-91
- Delorme S (1998): Beurteilung der Tumolvaskularisation mit der Dopplersonographie. *Radiologe* (38) 335-343
- Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. (2010): Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* (28) 105-113
- Dixon JM, Love CD, Bellamy CO, et al. (2001): Letrozole as primary medical therapy for locally advanced and large operable breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* (66) 191–199
- Donnelly EF, Geng L, Wojcicki WE, Fleischer AC, Hallahan DE. (2001): Quantified power Doppler US of tumor blood flow correlates with microscopic quantification of tumor blood vessels. *Radiology* (1) 166-170
- Dowsett M, Allred C, Knox J, et al. (2008): Relationship between quantitative estrogen and progesterone receptor expression and human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) status with recurrence in the Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination trial. *J Clin Oncol* (26) 1059–1065
- Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (1998): Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet* (351) 1451–1467
- Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (2005): Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: An overview of the randomized trials. *Lancet* (365) 1687–1717
- Eckersley RJ, Sedelaar JP, Blomley MJ, et al. (2002): Quantitative microbubble enhanced transrectal ultrasound as a tool for monitoring hormonal treatment of prostate carcinoma. *The Prostate* (51) 261–267
- Eiermann W, Paepke S, Appfelstaedt J, et al. (2001): Preoperative treatment of postmenopausal breast cancer patients with letrozole: a randomized double-blind multicenter study. *Ann Oncol* (12) 1527-1532
- Endrich B, Vaupel P (1998): The role of the microcirculation in the treatment of malignant tumors: facts and fiction. In: Molls M, Vaupel P (Hrsg.): *Blood perfusion and microenvironment of human tumors*. Berlin. Springer. 19-39



- Feldman LD, Hortobagyi GN, Budzar AU, Ames FC, Flumenschein GR (1986): Pathologic assessment of response to induction chemotherapy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* (46) 2578–2581
- Feldmann HJ, Sievers K, Füller J, Molls M, Lühr E (1993): Evaluation of tumor blood perfusion by dynamic MRI and CT in patients undergoing thermoradiotherapy. *Eur J Radiol* (16) 224-229
- Finlayson CA, MacDermott TA (2000): Ultrasound can estimate the pathologic size of infiltrating ductal carcinoma. *Arch Surg* (135) 158–159
- Fischer U, Kopka L, Grabbe E (1999): Breast carcinoma: effect of preoperative contrast-enhanced MR imaging on the therapeutic approach. *Radiology* (213) 881–888
- Fisher B, Brown A, Mamounas E, et al. (1997): Effect of preoperative chemotherapy on loco-regional disease in women with operable breast cancer: Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Clin Oncol* (15) 2483-2493
- Folkman J, Merler E, Abernathy C, Williams G (1971): Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. *J Exp Med* (2) 275-288
- Folkman J (1990): „What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent. *J Natl Cancer Inst* (82) 4-6
- Folkman J (1995): Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* (1) 27–31
- Folkman J (1995): Angiogenesis Inhibitors generated by Tumors. *Mol Med* (1) 120-122
- Folkman J (1997): Angiogenic therapy. Hrsg.: DeVita VT, Hellman s, Rosenberg SA. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. Philadelphia, Lipincott-Raven. 3075-3085
- Fornage BD, Toubas O, Morel M (1987): Clinical, mammographic and sonographic determination of preoperative breast cancer size. *Cancer* (60) 765–771
- Forsberg F, Kuruvillam B, Pascua MB, et al. (2008): Comparing contrast-enhanced color flow imaging and pathological measures of breast lesion vascularity. *Ultrasound Med Biol* (34) 1365–1372
- Gee MS, Saunders HM, Lee JC, et al. (2001): Doppler ultrasound imaging detects changes in tumor perfusion during antivascular therapy associated with vascular anatomic alterations. *Cancer Res* (7) 2974-2982

- Gianni J, Baselga W, Eiermann, et al. (2002): First report of the European Cooperative Trial in operable breast cancer (ECTO): Effects of primary systemic therapy (PST) on local-regional disease. Proc ASCO. Abst. #132
- Goldman E (1907): The growth of malignant disease in man and the lower animals with special reference to the vascular system. Lancet (2) 1236-1240
- Gralow JR, Burstein HJ, Wood W, et al. (2008): Preoperative therapy in invasive breast cancer: pathologic assessment and systemic therapy issues in operable disease. J Clin Oncol (26) 814-819
- Greis C (2004): Technology overview: SonoVue (Bracco, Milan). Eur Radiol (14) 11–15
- Grineisen Y (2004): Dissertationschrift: Die Wertigkeit neuer Ultraschallverfahren in der Diagnostik und dem Therapiemonitoring von Mammatumoren. Aus Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin. Vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin
- Grossniklaus HE (1998): Tumor vascularity and hematogenous metastasis in experimental murine intraocular melanoma. Trans Am Ophthalmol Soc (96) 721–752
- Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, et al. (2002): Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. Nature medicine (8) 128–135
- Halpern EJ, Verkh L, Forsberg F, Gomella LG, Mattrey RF, Goldberg BB (2000): Initial experience with contrast-enhanced sonography of the prostate. Am J Roentgenol (174) 1575–1580
- Heinze G, Ploner Z (2003): Fixing the nonconvergence bug in logistic regression with SPLUS and SAS. Computer Methods and Programs in Biomedicine (71) 181-187
- Heinze G, Schemper M (2002): A solution to the problem of separation in logistic regression. Statistics in Medicine (21) 2409–2419
- Helvie MA, Joynt LK, Cody RL, et al. (1996): Locally advanced breast carcinoma: accuracy of mammography vs clinical examination in the prediction of residual disease after chemotherapy. Radiology (198) 327–332
- Herrada J, Iyer RB, Atkinson EN, Sneige N, Buzdar AU, Hortobagyi GN (1997): Relative value of physical examination, mammography, and breast sonography in evaluating the size of the primary tumor and regional lymph node metastases in

- women receiving neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast carcinoma. *Clin Cancer Res* (3) 1565–1569
- Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, et al. (1999): Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science* (284) 1994–1998
- Holmngren L, O'Reilly MS, Folkman J (1995): Dormancy balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nat Med* (1) 149-153
- Huber S, Delorme S, Knopp MV, et al. (1994): Breast tumors: computer assisted quantitative assessment with color Doppler US. *Radiology* (192) 797-801
- Huber S, Helbich T, Kettenbach J, Dock W, Zuna I, Delorme S (1998): Effects of microbubble contrast agent on breast tumors: computer assisted quantitative assessment with color Doppler US. *Radiology* (208) 485-489
- Huber S, Medl M, Helbich T, et al. (2000): Locally advanced breast carcinoma: computer assisted semiquantitative analysis of color Doppler ultrasonography in the evaluation of tumor response to neoadjuvant chemotherapy (work in progress). *J Ultrasound Med* (19) 601–607
- Hutcheon AW, Heys SD, Sarkar TK for the Aberdeen Breast Group (2003): Neoadjuvant docetaxel in locally advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* (79) Suppl. 1, 19-24
- Ide AG, Baker NH, Warren SL (1939): Vascularization of the Brown-Pearce rabbit epithelioma transplant as seen in the transparent ear chamber. *Am J Roentgenol* (42) 891-899
- Jain RK (1991): Haemodynamic and transport barriers to the treatment for solid tumors. *Int J Radiat Biol* (60) 85-100
- Junkermann H, Fournier von D (1997): Bildgebende Verfahren zur Beurteilung des Ansprechens von Mammkarzinomen auf eine präoperative Chemotherapie. *Radiologe* (37) 726-732
- Kaufmann M, Hortobagyi GN, Goldhirsch A, et al. (2006): Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. *J Clin Oncol* (24) 1940-1948
- Kaufmann M, Minckwitz von G, Bear HD, et al. (2007): Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: new perspectives 2006. *Ann Oncol* (18) 1927-1934

- Kedar RP, Cosgrove D, McCreedy VR, Bamber JC, Carter ER (1996): Microbubble contrast agent for color Doppler US: effect on breast masses. Work in progress. *Radiology* (198) 679–686
- Kedar RP, Cosgrove DO, Bamber JC, Bell DS (1996): Automated quantification of color Doppler signals: preliminary study in breast tumors. *Radiology* (197) 39-43
- Knopp MV, Heß T, Bachert P, et al. (1993): Magnetresonanzspektroskopie des Mammakarzinoms. *Radiologe* (33) 200-307
- Koeberle D, Thuerlimann B (2007): Letrozole as upfront endocrine therapy for postmenopausal women with hormone-sensitive breast cancer: BIG 1-98. *Breast Cancer Res Treat* (105) 55–66
- Konerding MA, van Ackern C, Fait E, Steinberg F, Streffer C (1998): Morphologic aspects of tumor angiogenesis and microcirculation. In: Molls M, Vaupel P (Hrsg.): Blood perfusion and microenvironment of human tumors. Berlin. Springer. 5-17
- Kreienberg R (1999): Adjuvante Therapie des Mammakarzinoms - 2. Deutscher Konsensus-Workshop 15./16. Juni 1999 Frankfurt/Gravenbruch. Urban und Vogel (Medizin und Wissen), München, 38-39
- Kurtz B, Achten C, Audretsch W, Rezai M, Urban P, Zocholl G (1996): MR-mammographische Beurteilung des Tumoransprechens nach neoadjuvanter Radiochemotherapie lokal fortgeschrittener Mammakarzinome. *Fortschr Röntgenst* (164) 469-474
- Lamuraglia M, Lassau N, Garbay JR, et al. (2005): Doppler US with perfusion software and contrast medium injection in the early evaluation of radiofrequency in breast cancer recurrences: a prospective phase II study. *Eur J Radiol* (56) 376–381
- Lassau N, Koscielny S, Opolon P, et al. (2001): Evaluation of contrast-enhanced color Doppler ultrasound for the quantification of angiogenesis in vivo. *Invest Radiol* (36) 50–55
- Laubenbacher C, Schwaiger M (1998): The potential role of Positronen Emission Tomography in investigation of microenvironment In: Molls M, Vaupel P (Hrsg.): Blood perfusion and microenvironment of human tumors. Berlin. Springer. 161-191
- Learn PA, Yeh IT, McNutt M, et al (2005): Her-2/neu expression as a predictor of response to neoadjuvant docetaxel in patients with operable breast carcinoma. *Cancer* (103) 2252–2260

- Less JR, Skalak TC, Sevick EM, Jain RK (1991): Microvascular architecture in a mammary carcinoma: branching patterns and vessel dimensions. *Cancer Res* (51) 265-273
- Loibl S, Blohmer JU, Raab G, et al.(2005): Prospective central assessment of HER-2 status by FISH is not a predictive factor for pathologic complete response (pCR) in 648 breast cancer patients treated preoperatively with an anthracycline / taxane based regimen in the multicenter GeparTrio trial. *Breast Cancer Res Treat* (94). Abstr. #46
- Mamounas EP (2006): Neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer. *Breast Care* (1) 348-351
- Mankoff DA, Dunnwald LK (2005): Changes in glucose metabolism and blood flow following chemotherapy for breast cancer. *PET Clin* (1) 71–82
- Manton DJ, Chaturvedi A, Hubbard A, et al. (2006): Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: early response prediction with quantitative MR imaging and spectroscopy. *Br J Cancer* (94) 427–435
- Mauriac L, Debled M, Durand M, Floquet A, Boulanger V, Dagada C (2002): Neoadjuvant tamoxifen for hormone-sensitive non-metastatic breast carcinomas in early postmenopausal women. *Ann Oncol* (13) 293–298
- Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A (1981): Reporting results of cancer treatment. *Cancer* (47) 207-214
- Minckwitz von G, Costa SD, Eiermann W, et al. (1999): Maximized reduction of primary breast tumor size using preoperative chemotherapy with doxorubicin and docetaxel. *J Clin Oncol* (7) 1999-2005
- Minckwitz von G, Raab G, Schütte M, et al. (2002): Dose-dense versus sequential Adriamycin/Docetaxel combination as preoperative chemotherapy in operable breast cancer (T2-3, N0-2, M0) - primary endpoint analysis of the GeparDUO – Study. *Proc ASCO* 21. Abstr. #168
- Minckwitz von G, Blohmer JU, Raab G, et al. für die German Breast Group (2005): In vivo chemosensitivity-adapted preoperative chemotherapy in patients with early-stage breast cancer: the GEPARTRIO pilot study. *Annals of Oncology* (16) 56–63
- Minckwitz von G, Raab G, Caputo A, et al. (2005): Doxorubicin with Cyclophosphamide followed by Docetaxel every 21 days compared with Doxorubicin and Docetaxel

- every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: The GEPARDUO Study of the German Breast Group. *J Clin Oncol* (12) 2676-2685
- Minckwitz von G, Kuemmel S, Bois du A, et al (2006): Individualized treatment strategies according to in vivo chemosensitivity assessed by response after 2 cycles of neoadjuvant chemotherapy. Final results of the Gepartrio study of German Breast Group. *Breast Cancer Res Treat. Abstr. #42*
- Minckwitz von G (2008): Can we tailor chemotherapy based on preliminary response? General session X: multidisciplinary implications of preoperative therapy. vorgestellt beim American Society of Clinical Oncology 2008 Breast Cancer Symposium; 5-7 Sept. 2008, Washington DC
- Minckwitz von G, Kaufmann M, Kümmel S, et al. (2009): Integrated metaanalysis on 6402 patients with early breast cancer receiving neoadjuvant anthracycline-taxane +/- Trastuzumab containing chemotherapy. *Cancer Res* (69). Abstr. #79
- Moon WK, Im JG, Noh DY, Han MC (2000): Nonpalpable breast lesions: evaluation with power Doppler US and a microbubble contrast agent – initial experience. *Radiology* (217) 240–246
- Moskovic EC, Mansi JL, King DM, et al. (1993): Mammography in the assessment of response to medical treatment of large primary breast cancer. *Clin Radiol* (47) 339–344
- Müller C, Caputo A, Schumacher M, et al. (2007): Clinical response by palpation during primary systemic therapy with four dose-dense cycles doxorubicin and docetaxel in patients with operable breast cancer: Further results from a randomised controlled trial. *Eur J Cancer* (43) 1654–1661
- Mustacchi G, Ceccherini R, Milani S, et al. Italian Cooperative Group GRETA (2003): Tamoxifen alone versus adjuvant tamoxifen for operable breast cancer of the elderly: long-term results of the phase III randomized controlled multicenter GRETA trail. *Ann Oncol* (14) 414-420
- Naumov GN, Akslen LA, Folkman J (2006): Role of angiogenesis in human tumor dormancy: animal models of the angiogenic switch. *Cell Cycle* (16) 1779-1787
- Ortega N, Sordello S, Plouet J (1997): Tumoral vascularization: physiology and the therapeutic prospects. *Bull Cancer* (84) 391–395
- Paepke S, Bouterfa H, Wallwiener D, the FEM-D-1 study group (2001): A multicenter study of pre-operative treatment with Femara® (Letrozole) for optimal duration of

- treatment in postmenopausal women with ER and/or PgR positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* (69). Abstr. #453
- Peintinger F, Kuerer HM, Anderson K, et al. (2006): Accuracy of the combination of mammography and sonography in predicting tumor response and breast cancer patients after neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Oncol* (13) 1443–1449
- Pluda JM (1997): Tumor-associated angiogenesis – mechanisms, clinical implications, and therapeutic strategies. *Semin Oncol* (24) 203-218
- Quaia E, Bertolotto M, Calderan L, Mosconi I, Mucelli RP (2003): US characterization of focal hepatic lesions with intermittent high-acoustic-power mode and contrast material. *Acad Radiol* (10) 739–750
- Rasmussen BB, Regan MM, Lykkesfeldt AE, et al (2008): Adjuvant letrozole versus tamoxifen according to centrally-assessed ERBB2 status for postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer: supplementary results from the BIG 1-98 randomised trial. *Lancet Oncol* (9) 23–28
- Ring A, Webb A, Ashley S, et al. (2003): Is surgery necessary after complete clinical remission following neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer? *J Clin Oncol* (21) 4540-4545
- Robertson JF, Ellis IO, Alston CW (1992): Mastectomy or tamoxifen as initial therapy for operable breast cancer in elderly patients: 5-year follow up. *Eur J Cancer* (28A) 908-910
- Roubidoux MA, Le Carpentier GL, Fowles JB, et al. (2005): Sonographic evaluation of early-stage breast cancers that undergo neoadjuvant chemotherapy. *J Ultrasound Med* (24) 885–895
- Rousseau C, Devillers A, Sagan C, et al. (2006): Monitoring of early response to neoadjuvant chemotherapy in stage ii and iii breast cancer by [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Clin Oncol* (24) 5366–5372
- Rubin JM, Adler RS, Fowlkes JB, et al. (1995): Fractional moving blood-volume-estimation with power Doppler US. *Radiology* (197) 183–190
- Ruegg C (2000): Tumor necrosis factor: clinical use and mechanisms of action. *Drug resistance updates* (3) 271–276
- Schelling M, Avril N, Nährig J, et al. (2000): Positron Emission Tomography Using (18F)fluorodeoxyglucose for Monitoring Primary Chemotherapy in Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology* (18) 1689-1695

- Schlieff R, Bauer A (1996): Ultraschallkontrastmittel – Neue Perspektiven in der Ultraschalldiagnostik. *Radiologe* (36) 51-57
- Schneider BP, Miller KD (2005): Angiogenesis of breast cancer. *J Clin Oncol* (23) 1782–1790
- Schneider M, Arditi M, Barrau MB, et al. (1995): BR1: a new ultrasound contrast agent based on sulphur hexafluoride-filled microbubbles. *Invest Radiol* (30) 451–457
- Schott ZF, Roubidoux MA, Helvie MA, et al. (2005): Clinical and radiological assessments to predict breast cancer pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* (92) 231–238
- Schroeder RJ, Maeurer J, Vogl TJ, et al. (1999): D-galactose-based signal-enhanced color Doppler sonography of breast tumors and tumorlike lesions. *Invest Radiol* (34) 109–115
- Schwarz KQ, Chen X, Steinmetz S (1998): Methods for quantifying ultrasound backscatter and two-dimensional video intensity: implications for contrast-enhanced sonography. *J Am Soc Echocardiogr* (11) 155–168
- Semiglazov VF, Semiglazov VV, Dashyan GA, et al. (2007): Phase 2 randomized trial of primary endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer* (110) 244–254
- Seo JH, Kim YH, Kim JS (2009): Meta-analysis of pre-operative aromatase inhibitor versus tamoxifen in postmenopausal woman with hormone receptor-positive breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* (63) 261–266
- Singh S, Pradhan S, Shukla RC, Ansari MA, Kumar A (2005): Color Doppler ultrasound as an objective assessment tool for chemotherapeutic response in advanced breast cancer. *Breast Cancer* (12) 45–51
- Sinn HP, Schmid H, Junkermann H, et al. (1995): Histologische Regression des Mammakarzinoms nach primärer (neoadjuvanter) Chemotherapie. *Geburtshilfe Frauenheilkunde* (54) 552-558
- Smith IE, Dowsett M, Ebbs SR, et al. (2005): Neoadjuvant treatment of postmenopausal breast cancer with anastrozole, tamoxifen, or both in combination: the immediate preoperative anastrozole, tamoxifen, or combined with tamoxifen (IMPACT) multicenter double-blind randomized trial. *J Clin Oncol* (23) 5108–5116
- Srivastava A, Hughes LE, Woodcock JP, Laidler P (1989): Vascularity in cutaneous melanoma detected by Dopplersonography and histology: correlation with tumor Behaviour. *Br J Cancer* (59) 89–91



- Tan MC, Al Mushawah F, Gao F, et al. (2009): Predictors of complete pathological response after neoadjuvant systemic therapy for breast cancer. *Am J Surg* (198) 520-5.
- Tan SM, Cheung KL, Willsher PC, Blamey RW, Chan SB, Robertson JFR (2001): Locally advanced primary breast cancer: medium-term results of a randomised trial of multimodal therapy versus initial hormone therapy. *Eur J Cancer* (37) 2331–2338
- Tardivon AA, Ollivier L, Khoury CE, Thibault F (2006): Monitoring therapeutic efficacy in breast carcinomas. *Eur Radiol* (16) 2549-2558
- Tiling R, Linke R, Untch M (2001): 18F-FDG-PET and 99mTc-Sestamibi scintimography for monitoring breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: a comparative study. *Eur J Nucl Med* (28) 711-720
- Tubiana-Hulin M, Becette V, Bieche I, et al. (2007): Exemestane as neoadjuvant hormone therapy for locally advanced breast cancer: results of a phase II trial. *Anticancer Res* (27) 2689–2696
- Ugolini P, Delouche A, Herment A, Diebold B (2000): In vitro flow quantification with contrast power Doppler imaging. *Ultrasound Med Biol* (26) 113–120
- Untch M, Konecny G, Ditsch N, et al. (2002): Dose-dense versus sequential epirubicin – paclitaxel preoperative treatment of breast cancer: result of a randomized AGO study. *Proc ASCO* 21. Abstr. #133
- Untch M, Minckwitz von G (2009): Recent advances in systemic therapy: advances in neoadjuvant (primary) systemic therapy with cytotoxic agents. *Breast Cancer Res*. 2009;11(2):203. Epub 2009 Mar 17.
- Vallone P, D'Angelo R, Filice S, et al (2005): Color-Doppler using contrast medium in evaluating the response to neoadjuvant treatment in patients with locally advanced breast carcinoma. *Anticancer Res* (25) 595–599
- Vaupel P (1998): Tumor blood flow. In: Molls M, Vaupel P (Hrsg.): *Blood perfusion and microenvironment of human tumors*. Berlin. Springer. 40-45
- Vinnicombe SJ, MacVicar AD, Guy RL, et al. (1996): Primary breast cancer: mammographic changes after neoadjuvant chemotherapy, with pathologic correlation. *Radiology* (198) 333–340
- Wasser K, Klein SK, Fink C, et al. (2003): Evaluation of neoadjuvant chemotherapeutic response of breast cancer using dynamic MRI with high temporal resolution. *Eur Radiol* (13) 80–87

- Watermann D, Madjar H, Sauerbrei W, Hirt V, Prompeler H, Stickeler E (2004): Assessment of breast cancer vascularisation by Doppler ultrasound as a prognostic factor of survival. *Oncol Rep* (11) 905–910
- Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM, Kaul S (1998): Quantification of myocardial blood flow with ultrasoundinduced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation* (97) 473–483
- Winehouse J, Douek M, Holz K, et al. (1999): Contrast-enhanced color Doppler ultrasonography in suspected breast cancer recurrence. *Br J Surg* (86) 1198–1201
- Wolf C, Ortmann O, Wallwiener D, Blohmer JU, Eiermann W (2002): GENARI - Ein Studienkonzept zur Prüfung von Verträglichkeit, Wirksamkeit und Nutzen einer chemoendokrinen präoperativen Behandlung mit Exemestan. *Geburtsh Frauenheilk* (62) 333-338
- Wolmark N, Wang J, Mamounas E, Bryant J, Fisher B (2001): Preoperative Chemotherapy in Patients With Operable Breast Cancer: Nine-Year Results From National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Natl Cancer Inst Monogr* (30) 96-102
- Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J (2000): Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* (407) 242–248
- Zangheri B, Messa C, Picchio M, et al. (2004): PET/CT and breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (31) 135–142

## **7 Erklärung**

„Ich, Jana Kroße, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Evaluation der Tumorgefäßperfusion von Mammakarzinomen mittels kontrastverstärkten Ultraschalls im Verlauf einer primär systemischen Therapie“ 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, den 01.07.2010

## 8 Lebenslauf

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

## 9 Danksagung

Die vorliegende Dissertation wurde in der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Charité, Universitätsmedizin Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Werner Lichtenegger angefertigt.

Ich möchte mich bei all denen bedanken, die mich auf vielfältige Weise bei meiner Arbeit unterstützten:

- bei Herrn Prof. Dr. Jens-Uwe Blohmer für die Überlassung des Themas sowie die Betreuung bei der Anfertigung der Arbeit,
- bei den Ärzten und dem Pflegepersonal der gynäkologischen Station am Campus Charité Mitte für die Unterstützung und Mitbetreuung der Patienten,
- bei Herrn Schmidt und Herrn Hieke für die Bereitstellung der zur Auswertung notwendigen Hardware und Software,
- bei Frau Dr. Küchle für die Hilfe bei der statistischen Auswertung sowie der grafischen Aufbereitung der Ergebnisse.

Mein Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, die mir während der gesamten Arbeit mit Rat und Tat zur Seite standen und mir somit den notwendigen Rückhalt für die Erstellung dieser Arbeit gaben.