

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

Zentrum der Inneren Medizin
Medizinische Klinik I
Direktor: Prof. Dr. S. Zeuzem

**Nichtinvasive Evaluation von Fibroseregression und Rückbildung der portalen
Hypertension mittels transientser Elastographie und Acoustic Radiation Force
Impulse-Elastographie bei Patienten mit Hepatitis C Virus-assoziiierter
Leberzirrhose nach Interferon-freier, antiviraler Therapie.**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Daniel Hoppe

aus Magdeburg

Frankfurt am Main, 2018

Dekan:	Prof. Dr. Josef Pfeilschifter
Referent:	Privatdozent Dr. Martin-Walter Welker
Korreferent/in:	Prof. Dr. Frank Grünwald
Tag der mündlichen Prüfung:	15.10.2018

I. Inhaltsverzeichnis

I	Inhaltsverzeichnis	3
II	Abkürzungsverzeichnis	5
III	Abbildungsverzeichnis	7
IV	Tabellenverzeichnis	8
1	Einleitung	9
1.1	Epidemiologie der Hepatitis C	9
1.2	Klinischer Verlauf der Hepatitis C	10
1.3	Komplikationen bei chronischer Hepatitis C	10
1.4	Diagnostik bei Hepatitis C	11
1.5	Bestimmung des Schweregrads der Leberschädigung bei chr. Hep. C	12
1.5.1	Invasive Verfahren (Leberbiopsie)	12
1.5.2	Nicht-invasive Verfahren	13
1.6	Antivirale Therapie der chronischen Hepatitis C	13
1.7	Einfluss der antiviralen Therapie auf die Portale Hypertension bei chr. Hep. C	15
1.8	Zielsetzung	16
2	Methoden	17
2.1	Studienprotokoll und Patientenselektion	17
2.2	Studiendesign	18
2.3	Erfassung elastographischer, biochemischer und virologischer Parameter	19
2.4	Antivirale Therapieregime	20
2.5	Primärer Endpunkt und Sekundäre Endpunkte	20
2.6	Verfahren zur nicht-invasiven Fibrosebestimmung	21
2.6.1	Transiente Elastographie der Leber	21
2.6.2	Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie der Leber und Milz	22
2.7	Bestimmung von Aszites und Milzlänge	22
2.8	Statistische Analysen	23
3	Ergebnisse	24
3.1	Patientenkollektiv	24
3.2	Antivirale Therapie	31
3.3	Korrelation einzelner Parameter zu Studienbeginn	31
3.4	Dynamik der Leberelastographie im Studienverlauf	34
3.5	Dynamik der Milzelastographie im Studienverlauf	42
3.6	Dynamik von Zirrhosesurrogatmarkern und erfassten Laborwerten	45

4	Diskussion	50
4.1	Methodenkritik	51
4.2	Stellenwert der elastographischen Messmethoden zur nicht-invasiven Diagnostik von Zirrhose und portaler Hypertension	52
4.3	Diskussion der verwendeten, statistischen Verfahren	54
4.4	Nicht-invasive Bestimmung der Zirrhoseregression	56
4.5	Nicht-invasive Bestimmung der Regression der portalen Hypertension	60
4.6	Abschließende Bewertung der Ergebnisse dieser Arbeit	64
5	Zusammenfassung	65
6	Abstract	67
7	Literaturverzeichnis	69
8	Tabellarischer Lebenslauf	82
9	Beachtung der Grundsätze der wissenschaftlichen Praxis	83
10	Danksagung	84

II. Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Aminotransferase
APRI	Alanin-Aminotransferase/Thrombozyten-Ratio Index
ARFI	Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie
AST	Aspartat-Aminotransferase
BL	Baseline (Therapiestart)
BMI	Body-Mass-Index (Körpermasseindex)
CPT	Child-Pugh-Turcotte
CRPH	Clinical relevant portal hypertension (klinisch relevante portale Hypertension)
DAA	Direct acting antiviral agent (direkt antivirales Medikament)
EMA	Europäische Arzneimittel Agentur
EOT	End of Treatment (Therapieende)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FU24	Follow-up (Verlaufskontrolle) 24 Wochen nach Therapieende
FU48	Follow-up (Verlaufskontrolle) 48 Wochen nach Therapieende
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HCV	Hepatitis C Virus
Hertz	Hz
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HVPG	hepatovenöser Druckgradient
(PEG)-IFN α	(pegyliertes) Interferon-alfa
INR	International Normalized Ratio der Prothrombinzeit
IQR	Interquartilsabstand
kPa	Kilopascal
L-ARFI	Leber-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie
L-TE	Leber-Transiente Elastographie
Max	Maximum
M-ARFI	Milz-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie
Megahertz	MHz
MELD	Model for End Stage Liver Disease

Min	Minimum
ONG	obere Normwertgrenze eines Laborparameters
ÖGD	Ösophago-Gastro-Duodenoskopie
RBV	Ribavirin
RNA	Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerase Chain Reaktion (Reverse Transkriptase-Polymerase Kettenreaktion)
SVR	Sustained virological response (anhaltendes virologisches Ansprechen)
TE	Transiente Elastographie

III. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Übersicht zum Studiendesign modifiziert nach Knop et al.¹
- Abbildung 2: Übersicht zur Patientenrekrutierung modifiziert nach Knop et al.¹
- Abbildung 3: HCV-Genotypverteilung
- Abbildung 4A: MELD-Scoreverteilung zu Studienbeginn
- Abbildung 4B: CPT-Scoreverteilung zu Studienbeginn
- Abbildung 5: Beispiel einer L-TE Messung
- Abbildung 6: Dynamik der L-TE Messungen zwischen BL und FU48
- Abbildung 7: Darstellung der signifikanten Verbesserungen von L-TE Messwerten zu verschiedenen Zeiträumen
- Abbildung 8: Dynamik der L-ARFI Messungen zwischen BL und FU48
- Abbildung 9: Darstellung der signifikanten Verbesserungen von L-ARFI Messwerten verschiedener Zeiträume
- Abbildung 10: Übersicht der Dynamik von elastographischen Messungen und Transaminasen ALT und AST zwischen BL und FU48
- Abbildung 11: Beispiel einer ARFI-Messung von Leber und Milz
- Abbildung 12: Dynamik der M-ARFI Messungen zwischen BL und FU48
- Abbildung 13: Darstellung der signifikanten Verbesserungen von M-ARFI Messwerten verschiedener Zeiträume
- Abbildung 14: Dynamik von Zirrhose-relevanten Markern und elastographischen Messungen
- Abbildung 15: MELD-Score-Dynamik im Studienzeitraum
- Abbildung 16: CPT-Score-Dynamik im Studienzeitraum
- Abbildung 17: Dynamik der evaluierten Laborparameter

IV. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Labornormwerte am Universitätsklinikum Frankfurt a. Main
Tabelle 2:	Ösophagusvarizenstatus der Patienten zu Baseline (n=56)
Tabelle 3A:	Patientencharakteristika zu Studienbeginn (n=56)
Tabelle 3B:	Patientencharakteristika zu Studienbeginn (n=56)
Tabelle 4:	Antivirales Therapieregime für 12 bis 24 Wochen (n=56)
Tabelle 5A:	Korrelation von L-TE mit klinischen Parametern zu Studienbeginn (n=56)
Tabelle 5B:	Korrelation von L-ARFI mit klinischen Parametern zu Studienbeginn (n=56)
Tabelle 6:	Dynamik klinischer, laborchemischer und elastographischer Parameter im Studienverlauf (n=56)
Tabelle 7:	Veränderungen der Elastographie im Studienverlauf (n=56)

1 Einleitung

Das folgende Kapitel befasst sich mit Grundlagen der Hepatitis C. Es wird im Besonderen auf den klinischen Verlauf und die nicht-invasive Diagnostik mittels elastographischer Verfahren zur Einschätzung der Milz- und Lebersteifigkeit als Parameter für Fibrose und portale Hypertension eingegangen.

1.1 Epidemiologie der Hepatitis C

Das Hepatitis C Virus (HCV) wurde 1989 identifiziert.^{2,3} Anhand von Unterschieden im Genom wird das Virus in 7 Genotypen und 67 Subtypen eingeteilt.⁴ Mit unterschiedlicher geographischer Verteilung der Geno- und Subtypen kommt das HCV weltweit vor.

Die Zahl infizierter Menschen wird weltweit auf mindestens 184 Millionen geschätzt.^{5,6} Dieses entspricht einer weltweiten Prävalenz von 2,6-3,1% und einer Verbreitung in Westeuropa von 2,2-2,7%.⁶ Die Inzidenz wird auf etwa drei bis vier Millionen Neuinfektionen pro Jahr geschätzt.⁵⁻⁷ In Deutschland wird die Häufigkeit einer Hepatitis C auf ca. 0,3% geschätzt.⁸ Männer sind dabei häufiger betroffen als Frauen.⁵

Das HCV wird parenteral übertragen. Zu den häufigsten angegebenen Übertragungswegen in Deutschland gehörten 2015 laut Robert Koch Institut: intravenöser Drogengebrauch (76%), ungeschützter Sexualverkehr (14%), Bluttransfusionen vor 1991 (8%), Dialyse (1%), eine vertikale Transmission von Mutter zum Kind (<1%), Nadelstichverletzungen (<1%) und Tätowierungen (<1%).⁹

1.2 Klinischer Verlauf der Hepatitis C

Nach Infektion und einer Inkubationszeit von durchschnittlich 15-160 Tagen kommt es zu einer diffusen Hepatitis. Im Rahmen der Primärinfektion haben etwa 85% der Erkrankten einen symptomlosen und anikterischen Verlauf, während bei 15% allgemeine Beschwerden wie Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Appetitlosigkeit, Gelenkschmerzen, Schmerzen im rechten Oberbauch und ein Gewichtsverlust mit oder ohne Ikterus auftreten.^{10,11} Eine spontane Ausheilung der Hepatitis C mit Viruselimination ist möglich, jedoch chronifiziert die HCV-Infektion in etwa 85% der Fälle.¹² Persistiert die Infektion über 6 Monate liegt per Definition eine chronische Verlaufsform vor.^{13,14} Die spontane Ausheilungsrate ist danach marginal.

Histopathologisch findet sich bei einer chronischen Hepatitis C in variabler Ausprägung eine Nekroinflammation. Besteht die Infektion fort, ist das Risiko einer nachhaltigen Schädigung der Leber gegeben. Neben einer Steatosis hepatis kann eine Fibrose auftreten. Diese wird in unterschiedliche Schweregrade eingeteilt und kann in eine Leberzirrhose münden.^{15,16}

Die Fibroprogression ist mit verschiedenen patientenbezogenen und virologischen Faktoren assoziiert und unvollständig ergründet. Patientenbezogene Faktoren, welche den fibrotischen Umbau der Leber begünstigen, sind eine lange Infektionszeit, eine Infektion bei einem Lebensalter über 40 Jahren, Übergewicht, Alkoholkonsum und eine Koinfektion mit Hepatitis B und/ oder dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV).¹⁷ Auch genetische Dispositionen wie z.B. Interferon-gamma Rezeptor 2 Polymorphismen spielen eine Rolle für das Fortschreiten der Fibrose.^{18,19}

1.3 Komplikationen bei chronischer Hepatitis C

Laut Weltgesundheitsorganisation sterben weltweit geschätzte 700.000 Menschen jährlich an den Folgen einer Hepatitis C.²⁰ Die chronische Hepatitis C führt bei etwa 20% der Patienten über einen Zeitraum von 20 Jahren zur Leberzirrhose, welche mit einem progredienten Funktionsverlust der Leber einhergeht.^{11,14,21} Folgekomplikationen sind die Ausbildung von Ösophagus- und Magenvarizen mit entsprechender Blutungsgefahr, Aszites, hepatische Enzephalopathie und Splenomegalie.²² Eine weitere schwerwiegende Folge ist das Leberzellkarzinom (hepatozelluläres Karzinom, HCC),

welches mit einer Wahrscheinlichkeit von 2-4%/ Jahr bei Patienten mit nachgewiesener Zirrhose und Hepatitis C auftritt.²³ Faktoren wie Alkoholkonsum oder Koinfektionen mit Hepatitis B oder HIV steigern das Karzinomrisiko nochmals.^{17,24} Eine HCV-Infektion wird außerhalb von Screeningprogrammen häufig erst diagnostiziert, wenn bereits Spätfolgen aufgetreten sind.⁹

Neben hepatischen Komplikationen, kommt es bei 74% der Patienten mit chronischer Hepatitis C zu extra-hepatischen Manifestationen.²⁵ Beispiele dafür sind die gemischte Kryoglobulinämie, die membranöse und membranoproliferative Glomerulonephritis, die idiopathische Thrombozytopenie, die Porphyria cutanea tarda und die Hashimoto-Thyreoditis.^{26,27} Die Pathogenese dieser extra-hepatischen Manifestationen ist nicht vollständig verstanden. Vermutet wird eine Rolle des Immunsystems, endokrine Veränderungen durch verminderte hepatische Leistung, chronische Entzündung und/oder eine extra-hepatische Virusreplikation.²⁸ Zudem ist eine chronische Hepatitis C mit einer erhöhten nicht-hepatisch bedingten Mortalität und einem erhöhten Schlaganfallrisiko assoziiert.²⁵ Die extra-hepatischen Manifestationen bilden sich bei Ausheilung der Hepatitis C variabel zurück. Dementsprechend sinkt die nicht-hepatisch bedingte Mortalität sowie das Schlaganfallrisiko nach Ausheilung signifikant.²⁸⁻³⁰

1.4 Diagnostik bei Hepatitis C

Bei klinischem Verdacht auf eine HCV-Infektion erfolgt zuerst ein serologischer Test auf Anti-HCV-Antikörper. Üblich ist ein Anti-HCV-Antikörper Suchtest z.B. mittels einem Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Nachweis von Anti-HCV-IgM oder Anti-HCV-IgG. Nach positivem Ergebnis erfolgt ein Immunoblot zur Bestätigung. Da diese Anti-HCV-Antikörper auch nach Ausheilung einer Hepatitis C - sowohl spontan als auch nach einer antiviralen Therapie - nachweisbar bleiben, muss zur Differenzierung zwischen einer aktiven und einer ausgeheilten Hepatitis C ein direkter Virusnachweis erfolgen. Das geschieht über den Nachweis von HCV-Ribonukleinsäure (RNA) mittels eines sensitiven molekulargenetischen Verfahrens, z.B. über eine Reverse Transkriptase-Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR) beim COBAS TaqMan Hepatitis C Virus Test. Damit lässt sich die Anzahl der Viruskopien im Blut bestimmen und sicher sagen, ob eine aktive Infektion vorliegt. Dieser Test ist bereits 1-2 Wochen nach Infektion positiv. Außerdem gibt die HCV-RT-PCR auch eine Aussage

über den HCV-Genotyp, -Genosubtyp und die Infektiösität des Patienten. Um den Fibrosegrad und/ oder die Nekroinflammation der Leber zu bestimmen sind elastographische Messungen, Leberbiopsien oder serologische Tests notwendig.

1.5 Bestimmung des Schweregrads der Leberschädigung bei chronischer Hepatitis C

Zur Bestimmung des Ausmaßes einer Leberschädigung, gibt es verschiedene diagnostische Ansätze. Dabei kann zwischen invasiven Verfahren wie der Leberbiopsie und nicht-invasiven Verfahren wie elastographischen Messungen oder serologischen Tests unterschieden werden.

1.5.1 Invasive Verfahren (Leberbiopsie)

Die genaue Bestimmung des Leberfibrosegrades ist wichtig für die Prognosebeurteilung, sowie Überwachung und Therapieentscheidung bei Patienten mit chronischer Lebererkrankung einschließlich einer chronischen Hepatitis C.³¹ Die Leberbiopsie gilt bis heute als Goldstandard zur Erfassung des Fibrosegrades. Zur standardisierten Beurteilung einer Leberhistologie bei chronischer Hepatitis C werden die Einteilung nach Desmet und Scheuer, der semiquantitative „HAI-Score“ (hepatitis activity index), der Ishak-Score als modifizierter HAI-Score sowie der METAVIR-Score verwendet.^{15,16,32,33} Bewertet werden getrennt das Ausmaß der Nekroinflammation und der Fibrosebildung. Nachteile dieses invasiven Verfahrens sind seltene, aber potentiell schwerwiegende Komplikationen wie Blutungen mit in Ausnahmefällen tödlichem Ausgang und möglichen Verletzung von Pleura, Lunge, Niere und Darm.³⁴ Als zumindest relative Kontraindikationen gelten eine eingeschränkte Gerinnung und Aszites.^{34,35} Zudem können eine zu geringe Länge des Biopsiezylinders mit entsprechend wenig Portalfeldern und eine Fragmentierung des Biopsats die Aussagekraft einschränken.^{36,37} Der entnommene Stanzzyylinder bei einer transkutanen Leberpunktion soll für eine aussagekräftige Analyse mindestens 16 bis 18 mm lang sein und einen Durchmesser von etwa 1,6 mm aufweisen.³⁸ Dieses Volumen repräsentiert etwa 0,002% der Leber eines erwachsenen Menschen. Dennoch kann der Fibrosegrad auch mittels histologischer Bestimmung unter- oder überschätzt werden. So wurde

gezeigt, dass Fragmente des rechten und linken Leberlappens, die in einer Sitzung mittels Laparoskopie gewonnen wurden, in der Hälfte der Fälle unterschiedliche Fibrosegrade zeigten und unterschiedliche histologische Beurteilungen erhielten.³⁹ Außerdem kann die Bewertung der Biopsien trotz Verwendung standardisierter Bewertungssysteme je nach Untersucher variieren.^{15,35,39}

1.5.2 Nicht-invasive Verfahren

Elastographische Verfahren haben in den letzten Jahren für die Stadieneinteilung einer Leberfibrose oder -zirrhose zunehmend an Bedeutung gewonnen. Am besten evaluiert sind die transiente Elastographie (FibroScan, TE), die Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie (ARFI) sowie serologische Tests.⁴⁰⁻⁴⁷ Die TE und ARFI der Leber messen die Lebersteifigkeit, welche wiederum mit dem Fibroestadium korreliert.^{48,49} Einige Studien haben mittels ARFI die Milzsteifigkeit als Surrogatmarker für die Schwere einer portalen Hypertension untersucht und konnten zeigen, dass sie mit dem hepatischen Venendruckgradienten (HVPG) und dem Ösophagusvarizenstatus korreliert.⁵⁰⁻⁵³

Neben den elastographischen Verfahren gibt es verschiedene Tests, die aus serologischen Parametern berechnet werden und ebenfalls eine nicht-invasive Evaluation des Leberfibroestadiums ermöglichen. Die gebräuchlichsten Tests sind neben vielen weiteren der Alanin-Aminotransferase/Thrombozyten-Ratio Index (APRI) und Fibro Test®.⁵⁴ Bei Kombination beider Tests kommt es bei signifikanter Fibrose oder Zirrhose zu Abweichungen von der Histologie von nur 10%.⁵⁵ Nachteil der nicht-invasiven Verfahren ist die fehlende Aussagekraft über die Nekroinflammation der Leber.

1.6 Antivirale Therapie der chronischen Hepatitis C

Das Ziel einer antiviralen Therapie bei chronischer Hepatitis C ist die Viruseradikation. Als Surrogatmarker ist ein fehlender Nachweis von HCV-RNA im Blut zu einem definierten Zeitpunkt nach Therapieende mittels eines hoch sensitiven, molekularen Verfahrens etabliert. Dies wird als anhaltendes virologisches Ansprechen (sustained virologic response, SVR) bezeichnet und wurde früher 24 Wochen nach Therapieende

bestimmt. Mittlerweile wurde gezeigt, dass eine hohe Korrelation zwischen einer HCV-RNA-Bestimmung 12 und 24 Wochen nach Therapieende besteht.⁵⁶⁻⁵⁸ Die SVR ist ein valider Parameter, der langfristig mit einer geringeren Mortalität und Morbidität sowie besseren Lebensqualität der Patienten assoziiert ist.⁵⁹ Auch kommt es zu einer Reduktion Leber-bezogener und nicht-Leber-bezogener Komplikationen nach erreichter SVR.⁶⁰

Über viele Jahre bestand die antivirale Therapie der Hepatitis C aus einer Kombination von (pegyliertem) Interferon-alfa [(PEG)-IFN α] und Ribavirin (RBV). Nachteile dieser Behandlung waren eine limitierte SVR-Rate und potentiell schwerwiegende Komplikationen.⁶¹ Zudem konnten Patienten mit Kontraindikationen gegen eine (PEG)-IFN α /RBV-Behandlung einschließlich Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose nicht behandelt werden.

In den letzten Jahren wurden mehrere direkt antivirale Medikamente (direct acting antiviral agents, DAA's) entwickelt, die verschiedene Eiweiße des HCV inhibieren und so die virale Replikation hemmen. Anhand des inhibierten Virusproteins werden diese Medikamente in verschiedene Stoffklassen eingeteilt. Zu den Zielstrukturen der DAA's gehören insbesondere die NS3/4A-Protease, die NS5B-RNA-abhängige RNA Polymerase und die NS5A-Serinprotease. Verschiedene DAA's wurden von der Europäischen Arzneimittel Agentur (EMA) und der *Food and Drug Administration* (Lebensmittel- und Arzneimittelüberwachungsbehörde der USA) zur Behandlung von einer chronischen Hepatitis C zugelassen.⁶² Durch Kombination verschiedenerer DAA's mit und ohne RBV wurden hohe Heilungsraten von über 90% bei einer Therapiedauer von 8 bis 24 Wochen erreicht.⁶³ Durch den Verzicht auf (PEG)-IFN α steht zudem die Therapie nun auch für Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose zur Verfügung, wobei die SVR-Raten aber mit zunehmender Schwere der Leberzirrhose abnehmen.^{64,65} Einfluss auf die Dauer und Wahl der Therapie haben der HCV-Genotyp, etwaige virale Resistenzen insbesondere bei erfolglosen Vorbehandlungen sowie der Fibrosestatus.⁶⁶

1.7 Einfluss der antiviralen Therapie auf die Portale Hypertension bei chronischer Hepatitis C

Eine schwerwiegende Komplikation der Leberzirrhose ist die Entwicklung einer portalen Hypertension.⁶⁷ Da der intrahepatische Druck bei einer Leberzirrhose erhöht ist, verringert sich der Blutfluss in die Leber (intrahepatischer Block) und der HVPG steigt über den Normwert von 3-5 mmHg. Eine klinische Relevanz des HVPG besteht ab 10 mmHg (clinically relevant portal hypertension, CRPH), einhergehend mit einem Risiko für Ösophagusvarizenblutungen und einer erhöhten Mortalität.⁶⁷⁻⁶⁹

Im Zusammenhang mit der portalvenösen Druckerhöhung und dadurch entstehenden Splenomegalie kommt es bei Patienten mit Leberzirrhose zu einer Verringerung der peripheren Blutzellen, insbesondere der Thrombozyten.^{70,71} Ausmaß und Häufigkeit der Reversibilität einer HCV-assoziierten Leberzirrhose im Falle einer SVR sind nicht abschließend bekannt. Zur Beurteilung des Schweregrades einer Lebererkrankung gibt es zwei gebräuchliche Einteilungen. Der Child-Pugh-Turcotte (CPT)-Score wurde 1964 von C. G. Child und J. G. Turcotte entwickelt und später von R. N. Pugh modifiziert und dient der Stadieneinteilung einer Lebererkrankung.^{72,73} Dabei wird ein Punktwert anhand der Höhe von Serum-Bilirubin, Serum-Albumin, Prothrombinzeit (INR) und des Vorkommens von Aszites und hepatischer Enzephalopathie berechnet.^{72,73} Eine weitere Möglichkeit der Einteilung ist der Model for End Stage Liver Disease (MELD)-Score. Dieser wurde 2002 entwickelt und korreliert mit der Dreimonatssterblichkeit von Patienten mit Lebererkrankung.⁷⁴ Er wird unter anderem verwendet, um die Dringlichkeit einer Lebertransplantation anhand des Schweregrades der Lebererkrankung zu bewerten.⁷⁴ Die Berechnung des MELD-Score erfolgt anhand von Serum-Bilirubin, Serum-Kreatinin und INR mittels einer komplexen Formel. Zur Beurteilung des Schweregrades einer Leberzirrhose bei Hepatitis C werden sowohl CPT- als auch MELD-Score, meist komplementär, verwendet. Aktuelle Studien zur Evaluation der Leberfunktion nach (PEG)-IFN α -freier Therapie zeigen eine Verbesserung des CPT- und MELD-Score für einen Teil der Patienten, die eine SVR erreichten.⁵⁹ Eine Verbesserung von CPT- bzw. MELD-Score ist jedoch nicht zwingend mit einer Verbesserung der portalen Hypertension assoziiert.⁷⁵

1.8 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden prospektiven Studie war die Evaluation von Häufigkeit und Ausmaß einer Regression von Leberfibrose und portaler Hypertension mittels nicht-invasiver Leber- und Milzelastographie bei Patienten mit DAA-induzierter SVR und HCV-assoziiierter Leberzirrhose.

2 Methoden

Im folgenden Abschnitt werden das Studiendesign und die verwendeten Methoden dargelegt. Für die Rekrutierung, Aufklärung und Untersuchungen der Patienten waren approbierte Ärzte der Gastroenterologie/ Hepatologie des Universitätsklinikums in Frankfurt am Main zuständig. Die Erfassung und Auswertung der Daten erfolgte durch den Autor dieser Arbeit.

2.1 Studienprotokoll und Patientenselektion

Eingeschlossen wurden Patienten mit Nachweis einer chronischen Hepatitis C mittels anti-HCV Test (3. Generation Enzym Immunoassay, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) und quantifizierbarer HCV-RNA (COBAS TaqMan HCV Test 2.0, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Ferner erfolgte eine HCV-Genotypisierung (Inno LiPA HCV II, Innogenetics, Gent, Belgien).

Zum Studieneinschluss musste zudem eine Zirrhose vorliegen, gesichert entweder durch histologische Lebergewebeentnahme, serologische Parameter oder eine entsprechend hohe Lebersteifigkeit von über 12,5 kPa mittels TE (FibroScan™, Echosens, Paris, Frankreich) oder über 1,75 m/s mittels ARFI (Siemens AcusonS2000™, Siemens AG, Erlangen, Germany).^{76,77} Weiterhin musste eine auf DAA's-basierende, (PEG)-IFN α -freie, antivirale HCV-Therapie geplant sein.

Als Ausschlusskriterien waren eine bekannte schwere psychiatrische Vorerkrankung, eine Autoimmunerkrankung, eine Hepatitis B Virus-Koinfektion, ein Morbus Wilson, eine Hämochromatose, eine systemische Infektion und ein Alter unter 18 Jahren definiert. Ein anamnestischer Alkoholkonsum über 40 g/Tag bei Frauen und über 60 g/Tag bei Männern sowie der Konsum illegaler Drogen im vorherigen Jahr waren weitere Ausschlusskriterien. Eine HIV-Koinfektion, eine stattgehabte Lebertransplantation oder das Vorliegen eines HCC führten nicht zum Ausschluss aus der Studie.

2.2 Studiendesign

Es handelt sich um eine prospektive, monozentrische Studie. Die Rekrutierung erfolgte am Universitätsklinikum Frankfurt am Main von 05/2014 bis 06/2016. Das Studiendesign ist in Abbildung 1 dargestellt, inklusive aller erhobenen Parameter.

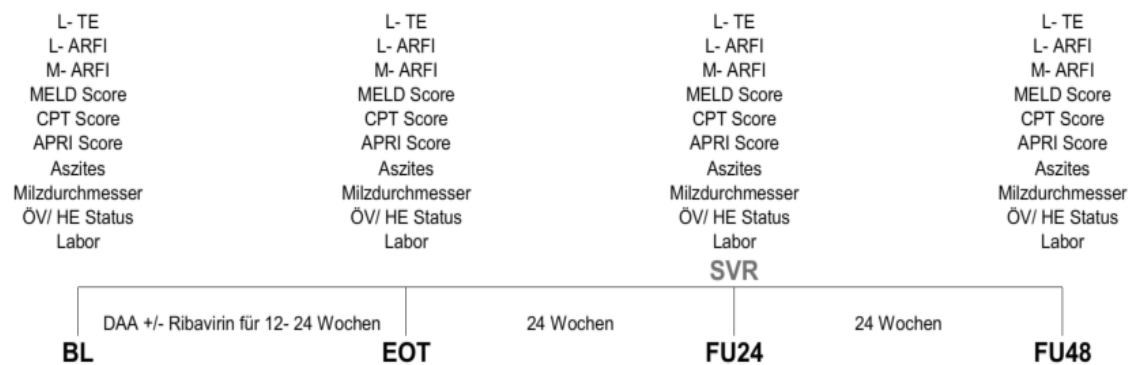


Abbildung 1: Übersicht zum Studiendesign modifiziert nach Knop et al.¹

In dieser Abbildung wird das Studiendesign mit den 4 Untersuchungsterminen und den jeweiligen Zeitabständen sowie evaluierten Parametern dargestellt.

Legende: APRI Alanin-Aminotransferase/Thrombozyten-Ratio Index; BL Baseline, Therapiebeginn; CPT Child-Pugh-Turcotte; DAA direct acting antiviral agent, direkt antivirales Medikament; EOT End of Treatment Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende; HE hepatische Enzephalopathie; L-ARFI Leber-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie; L-TE Leber-Transiente Elastographie; M-ARFI Milz-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie; MELD Model of End Stage Liver Disease; ÖV Ösophagusvarizen; SVR Sustained virological Response, anhaltendes virologisches Ansprechen;

Die Genehmigung der lokalen Ethikkommission wurde am 08.12.2008 mit der Geschäftsnummer: 357/08 gemäß der Deklaration von Helsinki und den ICH/CPMP Richtlinien für gute klinische Arbeit erteilt. Für die vorliegende Arbeit wurde eine Erweiterung des Ethikvotums am 20.03.2014 eingeholt und von der lokalen Ethikkommission stattgegeben. Eine schriftliche Einwilligung wurde von allen Patienten vor Studienaufnahme eingeholt.

2.3 Erfassung elastographischer, biochemischer und virologischer Parameter

Die elastographischen Messungen erfolgten an verschiedenen Zeitpunkten mittels transientser Elastographie der Leber (L-TE), Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie der Leber (L-ARFI) sowie der Milz (M-ARFI). Die erste Messung wurde bei Studieneinschluss vor bzw. zum Beginn der antiviralen Therapie (Baseline, BL) vorgenommen, die zweite nach Abschluss der Therapie (End of treatment, EOT) und die dritte und vierte 24 Wochen (Follow-up 24 Wochen, FU24) bzw. 48 Wochen (Follow-up 48 Wochen, FU48) nach Therapieende (Abbildung 1). Die Milzlänge und die Beurteilung von Aszites wurden mittels konventionellem, abdominellem Ultraschall ermittelt. Das Vorhandensein einer hepatischen Enzephalopathie wurde klinisch bestimmt, optional erfolgte eine Messung des Serumammoniakwerts. Der Ösophagusvarizenstatus wurde anhand der letzten dokumentierten Ösophago-Gastro-Duodenoskopie (ÖGD) erfasst. Des Weiteren wurden Untersuchungen zur quantitativen Bestimmung der HCV-RNA-Konzentration im Blut, der Serumkonzentration der Aspartat-Aminotransferase (AST), der Alanin-Aminotransferase (ALT), des Albumins, des Gesamtbilirubins, des Kreatinins, der INR und der Thrombozytenanzahl zu den Zeitpunkten der elastographischen Messungen durchgeführt. Eine Übersicht der Labornormwerte der in dieser Arbeit verwendeten Parameter befindet sich in Tabelle 1.

Tabelle 1: Labornormwerte am Universitätsklinikum Frankfurt a. Main

Laborwert	Referenzbereich	
	männlich	weiblich
Bilirubin (gesamt) im Serum (mg/dl)	<1,4	<0,9
Kreatinin im Serum (mg/dl)	0,7- 1,2	0,5-0,9
AST im Serum (U/l)	<40	<35
ALT im Serum (U/l)	<50	<35
Albumin im Serum (g/dl)		3,5- 5,2
INR		1
Thrombozytenzahl (/nl)	~150-300 (variiert alterabhängig)	

ALT Alanin-Aminotransferase; AST Aspartat-Aminotransferase; INR International Normalized Ratio der Prothrombinzeit

Anhand der erfassten Werte wurde für jeden Patienten der MELD-, APRI- und CPT-Score berechnet.^{72,74,78} Zusätzlich wurde das Verhältnis aus Thrombozyten und Milzlänge berechnet, welches als Prädiktor für Ösophagusvarizen entwickelt wurde. Bei Werten unterhalb von 9,09 /nl*cm haben die Patienten mit einer Sicherheit von 91,5% Ösophagusvarizen.⁷⁹

2.4 Antivirale Therapieregime

Die antivirale Therapie wurde individuell unter Berücksichtigung des jeweiligen HCV-Genotyps ausgewählt. Übereinstimmend bestand diese aus einer Kombination von ein bis vier DAA's mit oder ohne RBV über einen Zeitraum von 12 bis 24 Wochen.

Von den in diese Untersuchung eingeschlossenen Patienten hatten 43 die antivirale Therapie im Rahmen eines europäischen Härtefallprogramm erhalten (Clinical Trials.gov Identifier NCT02097966).⁸⁰ Dieses Programm erlaubt die Nutzung von Medikamenten, die noch keine Zulassung durch die EMA erhalten haben unter der Voraussetzung des Vorliegens einer schweren, lebensbedrohlichen Erkrankung bei der keine alternative Therapie verfügbar ist. Das war durch Vorliegen einer HCV-assoziierten Leberzirrhose gegeben. Ferner wurden klinische Daten von drei Patienten im Rahmen einer Studie veröffentlicht, welche sich mit Komplikationen vor und während antiviraler Therapie mit Sofosbuvir und RBV bei Patienten mit fortgeschrittener Leberfibrose mit oder ohne Lebertransplantation befasste.⁸¹

2.5 Primärer Endpunkt und Sekundäre Endpunkte

Der primäre Endpunkt der Studie war die Erfassung der Zirrhoseregression mittels Leber- und Milzelastographie bei Patienten mit HCV-assoziiierter Leberzirrhose und erzielter SVR nach DAA-basierter Therapie (< Abbildung 1). Als sekundäre Endpunkte wurden die Veränderung der Milzlänge sowie die Veränderung serologischer und klinischer Parameter, welche in den APRI-, MELD- und CPT-Score einfließen, definiert. Zudem sollte die Leber- und Milzsteifigkeit mit den Prognose-bestimmenden klinischen Scores APRI, MELD und CPT sowie klinischen Parametern wie Alter, Geschlecht, Herkunft und Body-Mass-Index (BMI) korreliert werden (Abbildung 1).

2.6 Verfahren zur nicht-invasiven Fibrosebestimmung

Zur Bestimmung von Leber- und Milzsteifigkeit sowie Aszites und Milzlänge wurden sonographische Verfahren angewandt die in den folgenden Abschnitten näher erläutert werden.

2.6.1 Transiente Elastographie der Leber

Die Transiente Elastographie (TE) wurde mittels eines FibroScan Gerätes (Echosens, Paris, Frankreich) erfasst. Das Gerät besitzt einen speziellen 5-Megahertz (MHz)-Schallkopf, der auf einem Vibrationskopf aufsitzt. Dieser sendet mechanische Impulse durch die Thoraxwand in die Leber. Die Vibration mit 50 Hertz (Hz) und einer Amplitude von 2 mm ist für den Patienten schmerzfrei. Die Wandergeschwindigkeit der Wellen wird an dem gleichen Schallkopf gemessen. Die so gemessene Scheerwellengeschwindigkeit korreliert mit der Festigkeit des Gewebes im gemessenen Bereich. Hierbei ist die Höhe der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Scheerwellen positiv mit der Steifigkeit des Lebergewebes korreliert. Die Stärke der Leberfibrose entspricht einer erhöhten Resistenz der Leber und wird in Kilopascal (kPa) ausgedrückt.⁸² Bei jeder Untersuchung werden 10 Einzelmessungen durchgeführt und der Medianwert ermittelt. Unzuverlässige Messungen sind definiert als ein Interquartilsabstand (IQR) zum Medianwert von größer als 30% oder eine Messerfolgsrate von weniger als 60%.^{54,83}

Einschränkungen gibt es bei Patienten mit starker Fettleibigkeit, engen Intercostalräumen bzw. Aszites. Bei diesen Patienten kann der Test entweder nicht durchgeführt werden oder liefert keine zuverlässigen Ergebnisse. Falsch hohe Werte können bei einer akuten Hepatitis oder Cholestase auftreten.^{84,85} Daher ist das Ergebnis dann nicht oder nur eingeschränkt verwertbar.

2.6.2 Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie der Leber und Milz

Ein weiteres Verfahren zur Erfassung des Fibrosegrades ist die ARFI-Methode. Im Rahmen der folgenden Studie wurden ARFI-Messungen der Leber und Milz durchgeführt. Verwendet wurde ein Siemens AcusonS2000™ -Gerät (Siemens AG, Erlangen, Germany). Die Technologie ist in ein konventionelles Ultraschallgerät integriert. Der Schallkopf produziert gepulste Wellen mit einer Frequenz von 2,67 Mhz, die für eine sehr kurze Zeit von 262 µsec das Gewebe anregen. Die wiederum vom Gewebe zurückgeworfenen, transversal verlaufenden Scheerwellen werden von Sensoren lateral der ausgesandten Pulswellen gemessen. Dabei wird die Scheerwellengeschwindigkeit einer ca. 5 mm x 4 mm großen Messregion vom Schallkopf registriert. Die Scheerwellengeschwindigkeit ist proportional der Quadratwurzel der Elastizität und wird in Meter pro Sekunde (m/s) angegeben.^{44,49,86} Im Rahmen dieser Studie wurden jeweils 10 Einzelmessungen der Leber und Milz durchgeführt und der jeweilige Medianwert ermittelt. Die Messung fand im Bereich des rechten Leberlappens bzw. unteren oder mittleren Drittels der Milz statt. Die Messsonde wurde dabei im Intercostalraum in Projektion auf Leber bzw. Milz auf die Haut aufgesetzt. Als Messregion wurde ein 2 cm im Leber- bzw. Milzparenchym liegendes Schallfenster gewählt. Die von Karlas et al. vorgeschlagenen Untersuchungsstandards zur Minimierung der Überschätzung der Milzsteifigkeit (Mittelwert aus 10 Einzelmessungen und standardisierte Atemposition) wurden beachtet.⁸⁷

2.7 Bestimmung von Aszites und Milzlänge

Zur Feststellung von Aszites und zur Messung der Milzlänge wurde ein Siemens AcusonS2000™-Ultraschallgerät (Siemens AG, Erlangen, Germany) verwendet. Die Milzlänge wurde im B-Mode auf eine Nachkommastelle in Zentimeter bestimmt.

2.8 Statistische Analysen

Bei der Datenerfassung wurden kontinuierliche Variablen als Medianwert mit Minimum (Min) und Maximum (Max) des Wertebereichs und kategoriale Variablen als Häufigkeit und Prozentsatz angegeben. Die elastographischen Messungen der Leber und Milz wurden als Medianwert mit Min und Max angegeben. Die absoluten Steifigkeitsveränderungen wurden als Zahlenwert ebenfalls mit Min und Max angegeben und die relativen Steifigkeitsveränderungen als Prozentsatz ausgedrückt. Mediane Steifigkeitsveränderungen über 30% werden nachfolgend als signifikante Steifigkeitsveränderungen bezeichnet. Zusätzlich wird die mediane Steifigkeitsveränderung unabhängig von der 30% Grenze als numerische Steifigkeitsveränderung angegeben. Die 30% Grenze wurde gewählt, weil TE Schwankungen unterliegen kann und Abweichungen der medianen TE-Messwerte bis 30% vom IQR zu verschiedenen Messzeitpunkten nicht als signifikant unterschiedlich gelten.⁸⁸ So wurde in einer Studie bei der TE insbesondere ab medianen Werten größer 5 kPa Schwankungen von 20-30% beschrieben.^{89,90} Als Vortest auf Normalverteilung von Merkmalen wurde der Kolmogoroff-Smirnov-Test verwendet.⁹¹ Der Friedman-Test wurde gewählt zum Vergleich klinischer, laborchemischer und elastographischer Parameter zu den Zeitpunkten BL, EOT, FU24 und FU48.⁹¹ Zum Vergleich von Messwerten zwischen zwei Zeitpunkten wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test gewählt.⁹¹ Des Weiteren wurde der Spearmans-Rangkorrelationskoeffizient zur Berechnung der Korrelation von L-TE sowie L-ARFI mit verschiedenen BL-Variablen wie M-ARFI, Albumin, Bilirubin, Thrombozyten/Milzlängen-Verhältnis, MELD-Score, CPT-Score, INR, APRI-Score, AST, ALT, Thrombozytenanzahl und Milzlänge verwendet. Zum Vergleich von zwei (abhängigen) gepaarten Gruppen wurde der Wilcoxon-Test angewandt.⁹¹ Alle statistischen Testverfahren waren zweiseitige Tests und wurden einer Signifikanzprüfung unterzogen. Eine statistische Signifikanz wurde bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ akzeptiert.

Die Datenerfassung der Studie erfolgte mit Hilfe von OpenOffice Calc, Apache OpenOffice 4 für Windows. Für die statistische Auswertung der Daten wurde das Statistik Software Packet „IBM SPSS Statistics Version 24“ für Windows verwendet. Tabellen und Grafiken wurden mit Hilfe der Programme OpenOffice Calc und IBM SPSS Statistics Version 24 erstellt.

3 Ergebnisse

Die Auswertung der Daten erfolgte durch den Autor dieser Arbeit nach Beratung durch das Institut für Biostatistik und Mathematische Modellierung des Universitätsklinikums Frankfurt am Main.

3.1 Patientenkollektiv

Im Zeitraum von Juni 2014 bis Juni 2016 wurden 79 Patienten in die Studie eingeschlossen, von denen 3/79 (4%) aufgrund von Fehlern beim Studieneinschluss wieder ausgeschlossen wurden.

Von den 76 Patienten erfüllten weitere 20 Patienten bis zum Erreichen der FU48 Ausschlusskriterien der Studie. Die Gründe und zugehörigen Häufigkeiten sind in Abbildung 2 dargestellt. Unter anderem kam es bei 7/76 (9%) zur Lebertransplantation während der Studie und bei 1/76 (1%) der Patienten zum virologischen Rückfall (Relapse). Nach der FU48 Untersuchung blieben noch 56/76 (74%) der Patienten, welche die Kriterien für die finale Analyse erfüllten (Abbildung 2). Die nachfolgenden Analysen beziehen sich auf diese 56 Patienten.

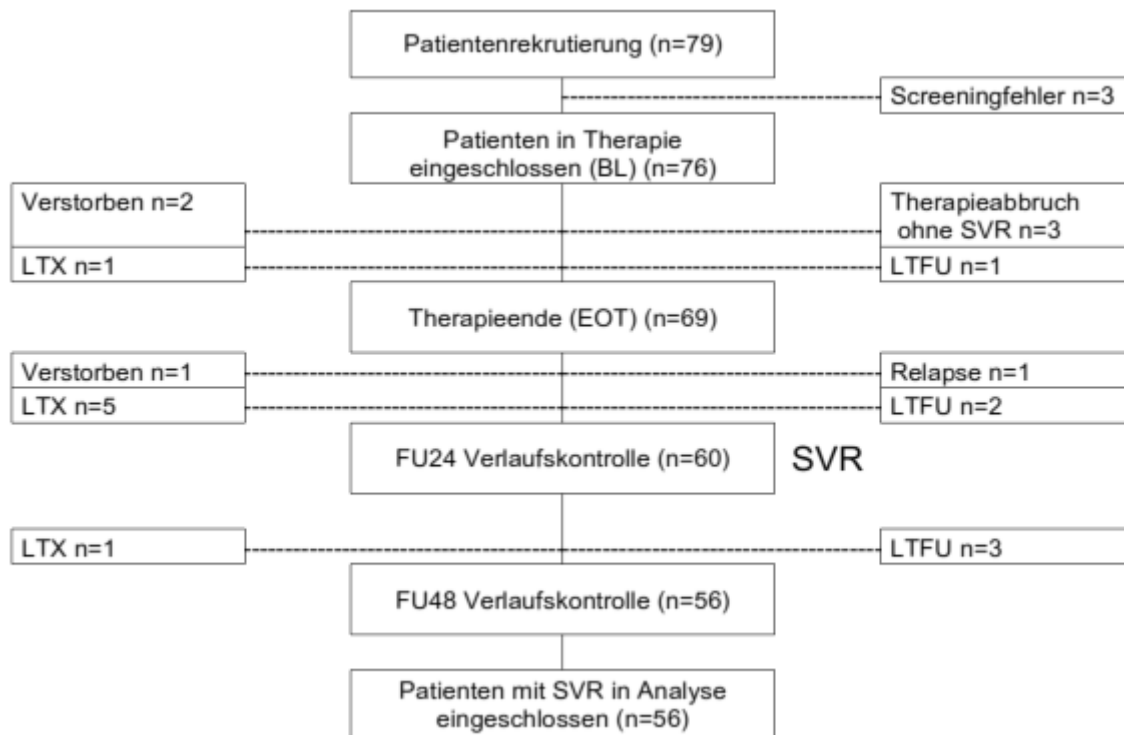


Abbildung 2: Übersicht zur Patientenrekrutierung modifiziert nach Knop et al.¹

Diese Abbildung gibt eine Übersicht der jeweiligen Messzeitpunkte, Ausschlussgründe und Anzahl der Patienten in der Studie.

Legende: BL Baseline, Therapiebeginn; EOT End of Treatment Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende; LTFU Lost to follow-up, Nicht zum Nachsorgetermin erschienen; LTX Lebertransplantation; SVR Sustained virological Response, anhaltendes virologisches Ansprechen; Relapse virologischer Rückfall

Das mediane (Min-Max) Alter im Kollektiv lag bei 58 (30-86) Jahren mit einer Geschlechtsverteilung von 2:1 (Männer:Frauen). Der mediane (Min-Max) BMI lag bei 26 (20-45) kg/m², wobei 13/56 (23%) adipös waren mit einem BMI ≥ 30 kg/m². Ein Nikotinkonsum bestand bei 27/56 (48%), wobei 13/56 (23%) Patienten mehr als 20 Packyears (1 Packyear= 20 Zigaretten/Tag über 1 Jahr) angegeben hatten.

Die HCV-Genotypverteilung in der Studie lag bei 18/56 (32%) für Typ 1a und jeweils 17/56 (30%) für Typ 1b und 3. Die Typen 2 und 4 waren nur mit 1/56 (2%) bzw. 2/56 (4%) vertreten (Abbildung 3). Bei 1 Patienten fehlte die Angabe zum HCV-Genotyp.

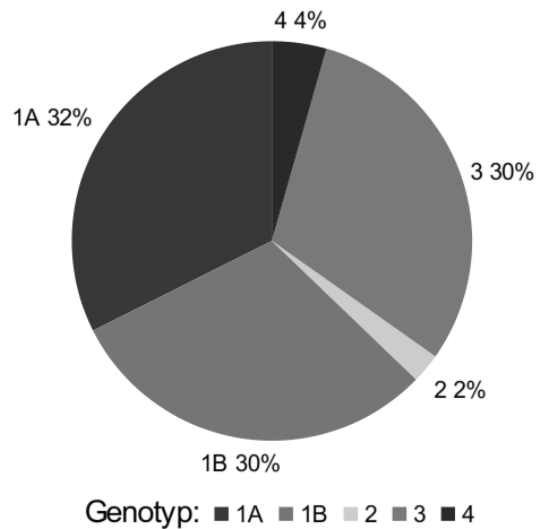


Abbildung 3: HCV-Genotypverteilung

In diesem Kreisdiagramm ist die prozentuale HCV-Genotypverteilung von 55 der 56 analysierten Patienten in der Studie dargestellt. Bei 1 Patienten fehlte die Angabe des HCV-Genotyps.

Eine Koinfektion mit dem HIV bestand bei 3/56 (5%) der Patienten. Gelistet für eine Lebertransplantation waren 5/56 (9%) und weitere 6/56 (11%) Patienten hatten bereits bei Studieneinschluss eine Lebertransplantation erhalten. Die Diagnose eines HCC wurde bei 4/56 (7%) Patienten während der Studie gestellt. Bei 2/56 (4%) Patient lag bereits bei Studienbeginn ein HCC vor. Ösophagusvarizen hatten die Mehrheit der Patienten (32/52 [62%]) zu Studienbeginn (Tabelle 2).

Tabelle 2: Ösophagusvarizenstatus der Patienten zu Baseline (n=56)

Grad der Ösophagusvarizen	Anzahl Patienten (%)
0	20 (36%)
1	18 (32%)
2	12 (21%)
3	2 (4%)
Nicht bekannt	4 (7%)

Außerdem zeigte sich bei der Untersuchung zu BL bei 5/56 (9%) Aszites und es lag anamnestisch bei 1/56 (2%) mindestens eine Episode einer hepatischen Enzephalopathie vor.

Aus den Laborparametern und weiteren Faktoren wurden MELD- und CPT-Score berechnet. Der durchschnittliche MELD-Score lag bei 10 Punkten wobei 46% (26/56) der Patienten einen MELD-Score von größer-gleich 10 hatten (Abbildung 4A).

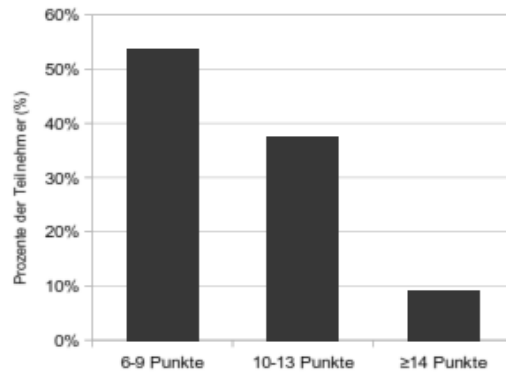


Abbildung 4A: MELD-Scoreverteilung zu Studienbeginn

Die Grafik zeigt die prozentuale Verteilung des MELD-Score zu Studienbeginn in 3 Gruppen gegliedert. Die MELD-Score Gruppierung erfolgte analog zum Risiko der klinischen Dekompensation der Leber bei (PEG)-IFN α -haltiger Hepatitis C Therapie.⁹² Laut einer Studie von Dultz et al. liegt dieses Risiko abhängig vom MELD-Score bei: 22% (MELD-Score 6-9 Punkte), 59% (MELD-Score 10-13 Punkte) und 83% (MELD-Score \geq 14 Punkte).⁹²

Legende: MELD Model of End Stage Liver Disease; (PEG)-IFN α (pegyliertes) Interferon-alfa

Der CPT-Score, welcher bei seiner Berechnung im Vergleich zum MELD-Score das Vorhandensein von Aszites und hepatischer Enzephalopathie berücksichtigt, lag durchschnittlich bei 6 Punkten (Abbildung 4B).

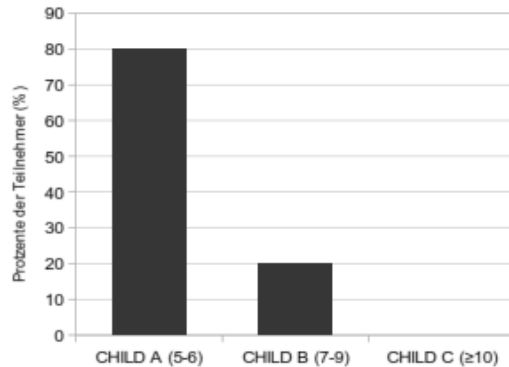


Abbildung 4B: CPT-Scoreverteilung zu Studienbeginn

Die Grafik zeigt die prozentuale Verteilung des CPT-Score zu Studienbeginn in 3 Gruppen gegliedert. Anhand der Gruppierung kann die Lebenserwartung sowie Leberfunktion wie folgt abgeschätzt werden [CPT Stadium-Leberfunktion (1-Jahres-Überlebensraten)]: CPT A- gute Leberfunktion (84%); CPT B- mäßige Leberfunktion (62%); CPT C- geringe Leberfunktion (42%).^{72,73}

Legende: CPT Child-Pugh-Turcotte

Alle Patienteneigenschaften zu Baseline sind in Tabelle 3A und Tabelle 3B detailliert aufgeführt.

Tabelle 3A: Patientencharakteristika zu Studienbeginn (n=56)

Parameter	Patienten
<i>Demographie</i>	
Alter [Jahre; Median(Min-Max)]	58(30-86)
Geschlechtsverteilung Mann/ Frau [n(%)]	36(64)/ 20(36)
Body Mass Index [kg/m ² ; Median(Min-Max)]	26(20-45)
Nikotinkonsum 0/1-20/>20 (Packyears)	29/14/13
<i>Komorbidität</i>	
HIV-Infektion [n(%)]	3(5)
HCC [n(%)]	2(4)
Zustand nach Lebertransplantation [n(%)]	6(11)
<i>Biochemische Laborwerte</i>	
Albumin im Serum [g/dl; Median(Min-Max)]	3,8(2,5-4,9)
ALT im Serum [U/l; Median(Min-Max)]	71(7-254)
AST im Serum [U/l; Median(Min-Max)]	82(17-260)
Bilirubin im Serum [mg/dl; Median(Min-Max)]	1,2(0,4-5,4)
Kreatinin im Serum [mg/dl; Median(Min-Max)]	0,81(0,53-1,90)
INR [Median(Min-Max)]	1,12(0,93-1,46)
Thrombozyten [/nl; Median(Min-Max)]	90(28-235)
<i>Virologie</i>	
HCV-Genotypverteilung 1a/1b/2/3/4 (n)	18/17/1/17/2
HCV-RNA [log ₁₀ IU/mL; Mittelwert ± SD]	5,93 ± 0,67

ALT Alanin-Aminotransferase; AST Aspartat-Aminotransferase; INR International Normalized Ratio der Prothrombinzeit; HCV Hepatitis C Virus; RNA Ribonukleinsäure; HCC Hepatozelluläres Karzinom; HIV Humanes Immundefizienz-Virus

Tabelle 3B: Patientencharakteristika zu Studienbeginn (n=56)

Parameter	Patienten
<i>Schweregrad der Zirrhose (Zirrhosestatus)</i>	
APRI-Score [Median(Min-Max)]	2,10(0,18-11,77)
Aszites [n(%)]	5(9)
Hepatische Enzephalopathie [n(%)]	1(2)
CPT-Score [Median(Min-Max)]	6(5-9)
CPT A/ B/ C [n(%)]	45(80)/ 11(20)/ 0(0)
Ösophagusvarizen [n(%)] ¹	32(62)
Grad der Ösophagusvarizen 1/2/3 (n) ¹	18/12/2
MELD-Score [Median(Min-Max)]	9(6-17)
MELD 6-9/ 10-13/ ≥ 14 [n(%)]	30(54)/ 21(37)/ 5(9)
Gelistet zur Lebertransplantation [n(%)]	5(9)
L-TE [kPa; Median(Min-Max)] ²	32,5(9,1-75,0)
L-ARFI [m/s; Median(Min-Max)]	2,66(1,17-4,12)
M-ARFI [m/s; Median(Min-Max)] ³	3,36(1,93-4,26)
Milzlänge [cm; Median(Min-Max)] ³	14,8(9,1-21,2)
Verhältnis Thrombozyten/Milzlänge [nl/cm; Median(Min-Max)]	5,96(1,62-21,36)

¹ 4 Patienten hatten keine Angaben zur ÖGD; ² 4 Patienten bekamen keine L-TE Untersuchung wegen Aszites (2) und Adipositas (2); ³ 1 Patient war Splenektomiert; APRI Alanin-Aminotransferase/Thrombozyten-Ratio Index; CPT Child-Pugh-Turcotte; MELD Model for End Stage Liver Disease; L-ARFI Leber-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie; L-TE Leber-Transiente Elastographie; M-ARFI Milz-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie

3.2 Antivirale Therapie

Die DAA-basierte, interferon-freie antivirale Therapie erfolgte adaptiert an die jeweils gültigen Leitlinienempfehlungen. Gegebenenfalls wurde die Therapielänge und die Gabe von RBV individuell nach ärztlicher Entscheidung angepasst. Insgesamt betrug die Therapielänge bei 19 Patienten 12 Wochen und bei 34 Patienten 24 Wochen. 3 Studienteilnehmer erreichten eine SVR, obwohl die Therapie vorzeitig beendet wurde (nach 5, 10 bzw. 16 Wochen). Einzelheiten der antiviralen Therapie sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Antivirales Therapieregime für 12 bis 24 Wochen (n=56)

DAA Therapieregime	Anzahl	zusätzlich Ribavirin
Sofosbuvir + Simeprevir	5	2
Sofosbuvir + Daclatavir	38	31
Sofosbuvir + Ledipasvir	12	9
Ombitasvir + Paritaprevir + Ritonavir + Dasabuvir	1	1

DAA Direct acting antiviral agent, direkt antivirales Medikament

3.3 Korrelation einzelner Parameter zu Studienbeginn

Die Lebersteifigkeit wurde mittels L-TE (Abbildung 5) und L-ARFI gemessen und korrelierte signifikant mit biochemischen Zirrhosemarkern. Im Detail korrelierte die L-TE zu Studienbeginn positiv mit Serumbilirubin ($p=0,001$), Milzlänge ($p=0,001$), M-ARFI ($p=0,001$), Ösophagusvarizennachweis ($p=0,035$) und AST ($p=0,033$) und negativ mit Serumalbumin ($p<0,001$) sowie dem Verhältnis von Thrombozyten/Milzlänge ($p=0,038$) (Tabelle 5A).

Tabelle 5A: Korrelation von L-TE mit klinischen Parametern zu Studienbeginn (n=56)

Parameter¹	Rs²	p-Wert³
Albumin im Serum	-0,52	0,000084 ⁴
ALT im Serum	0,277	0,154
APRI-Score	0,275	0,048 ⁴
AST im Serum	0,296	0,033 ⁴
Bilirubin im Serum	0,473	0,001 ⁴
BMI	0,25	0,074
CPT-Score	0,27	0,055
INR	0,25	0,074
Kreatinin im Serum	-0,185	0,189
L-ARFI	0,68	0,000000033011 ⁴
MELD-Score	0,225	0,11
M-ARFI	0,47	0,001 ⁴
Milzlänge	0,471	0,001 ⁴
Ösophagusvarizennachweis	0,035	0,035 ⁴
Thrombozytenzahl	-0,217	0,174
Verhältnis von Thrombozyten/ Milzlänge	-0,295	0,038 ⁴
Viruslast vor Therapie	-0,222	0,13

¹ Baselinevariablen, alphabetisch sortiert; ² Spearman's Rang Korrelationskoeffizient (2-seitiger Test); ³ p-Wert: Korrelation L-TE mit Baselineparameter; ⁴ signifikante Korrelation (Signifikanzniveau $p \leq 0,05$); ALT Alanin-Aminotransferase; APRI Alanin-Aminotransferase/Thrombozyten-Ratio Index; AST Aspartat-Aminotransferase; BMI Body-Mass-Index, Körpermasseindex; CPT Child-Pugh-Turcotte; INR International Normalized Ratio der Prothrombinzeit; MELD Model for End Stage Liver Disease; L-ARFI Leber-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie; L-TE Leber-Transiente Elastographie; M-ARFI Milz-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie

Die L-ARFI Messungen zu Studienbeginn korrelierten ebenfalls positiv mit dem BMI ($p < 0,0001$), der Milzlänge ($p < 0,0001$), M-ARFI ($p = 0,003$), Serumbilirubin ($p = 0,035$), Ösophagusvarizennachweis ($p = 0,046$) und INR ($p = 0,049$). Eine negative Korrelation zu Studienbeginn fand sich mit Serumalbumin ($p = 0,003$) (Tabelle 5B). Die L-TE und L-ARFI Messungen korrelierten signifikant miteinander ($p < 0,0001$) und mit den M-ARFI Messungen (L-TE: $p = 0,001$ bzw. L-ARFI: $p = 0,003$) zu Studienbeginn.

Tabelle 5B: Korrelation von L-ARFI mit klinischen Parametern zu Studienbeginn (n=56)

Parameter ¹	Rs ²	p-Wert ³
Albumin im Serum	-0,395	0,003 ⁴
ALT im Serum	-0,014	0,921
APRI-Score	0,135	0,322
AST im Serum	0,083	0,545
Bilirubin im Serum	0,283	0,035 ⁴
BMI	0,495	0,000106 ⁴
CPT-Score	0,24	0,077
INR	0,264	0,049 ⁴
Kreatinin im Serum	-0,045	0,742
L-TE	0,678	0,000000033011 ⁴
MELD-Score	0,173	0,202
M-ARFI	0,395	0,003 ⁴
Milzlänge	0,472	0,000318 ⁴
Ösophagusvarizennachweis	0,278	0,046 ⁴
Thrombozytenzahl	-0,165	0,223
Verhältnis von Thrombozyten/ Milzlänge	-0,248	0,071
Viruslast vor Therapie	-0,058	0,687

¹ Baselinevariablen, alphabetisch sortiert; ² Spearman's Rang Korrelationskoeffizient (2-seitiger Test); ³ p-Wert: Korrelation L-TE mit Baselineparameter; ⁴ signifikante Korrelation (Signifikanzniveau $p \leq 0,05$); ALT Alanin-Aminotransferase; APRI Alanin-Aminotransferase/Thrombozyten-Ratio Index; AST Aspartat-Aminotransferase; BMI Body-Mass-Index, Körpermasseindex; CPT Child-Pugh-Turcotte; INR International Normalized Ratio der Prothrombinzeit; MELD Model for End Stage Liver Disease; L-ARFI Leber-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie; L-TE Leber-Transiente Elastographie; M-ARFI Milz-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie

3.4 Dynamik der Leberelastographie

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der L-TE (Abbildung 6 und 7) und L-ARFI (Abbildung 8 und 9) Messungen im Studienverlauf dargestellt. Dabei wird genauer auf als signifikant definierte ($\geq 30\%$) und numerische Veränderungen eingegangen.

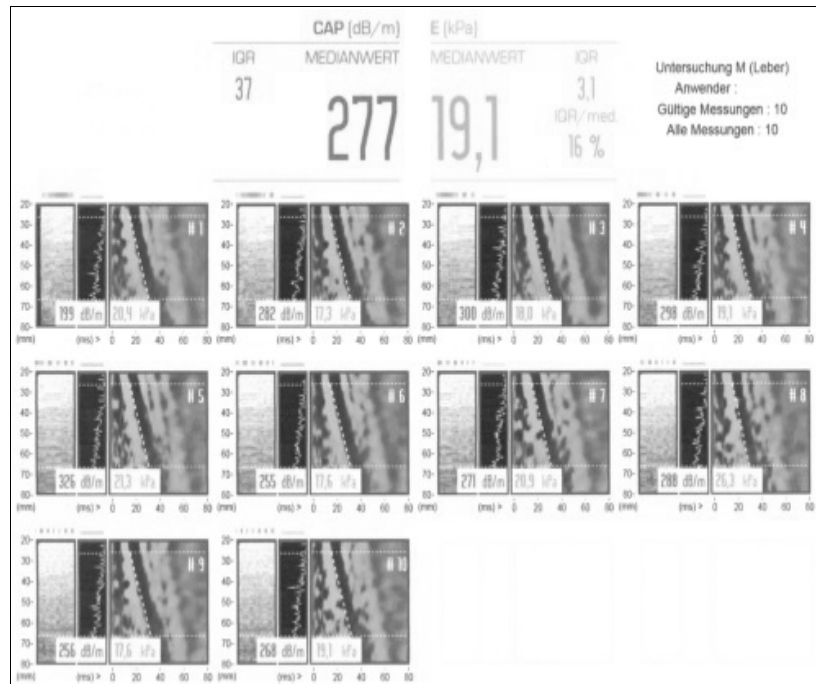


Abbildung 5: Beispiel einer L-TE Messung

Es werden 10 Einzelmessungen der Leber mit Steifigkeitsangabe gezeigt.

Bei 7/56 (12,5%) Patienten konnte eine L-TE aufgrund von Aszites oder Adipositas zu mindestens einem Messzeitpunkt nicht angewandt werden, wohingegen L-ARFI und M-ARFI bei ihnen durchführbar war. Die Analyse der Lebersteifigkeit zeigte eine signifikante Verbesserung der L-TE Messungen zwischen allen Messzeitpunkten (Tabelle 6 und Abbildung 7).

Tabelle 6: Dynamik klinischer, laborchemischer und elastographischer Parameter im Studienverlauf (n=56)

Parameter ²	BL ¹	EOT ¹	FU 24 ¹	FU48 ¹	p-Wert ³
Albumin im Serum	3,8(2,4-4,9)	4,1(2,5-4,9)	4,3(2,4-36,8)	4,3(2,8-4,9)	0,034 ⁴
ALT im Serum	71(7-254)	28(8-126)	27(7-96)	30(9-97)	0,000031 ⁴
APRI-Score	2,10(0,18-11,77)	0,80(0,16-3,64)	0,85(0,17-4,06)	0,83(0,27-4,22)	0,000001 ⁴
AST im Serum	82(17-260)	34(15-196)	35(16-108)	33(14-96)	0,000001 ⁴
Bilirubin im Serum	1,2(0,4-5,4)	0,9(0,4-20,2)	0,8(0,2-3,4)	0,7(0,3-4)	0,003 ⁴
BMI	26,1(19,9-44,8)	26,1(19,6-45,5)	26,3(20,1-44,8)	26,7(19,6-48,9)	0,13
CPT-Score	5(5-9)	5(5-10)	5(5-9)	5(5-9)	0,081
Milzlänge	14,8(9,1-21,2)	14,4(9,8-21,2)	14,6(9,2-21,4)	14,1(8,3-20,6)	0,001 ⁴
INR	1,10(0,93-1,46)	1,10(0,88-1,62)	1,10(0,89-1,47)	1,10(0,90-1,58)	0,096
Kreatinin im Serum	0,81(0,54-1,90)	0,81(0,49-1,40)	0,85(0,52-1,58)	0,89(0,52-2,14)	0,047 ⁴
L-ARFI	2,66(1,17-4,12)	2,39(1,17-4,11)	2,45(1,19-3,88)	2,64(0,94-3,82)	0,046 ⁴
L-TE	32,4(9,1-75,0)	21,1(6,7-73,5)	20,4(5,4-70,7)	17,1(3,7-59,3)	0,000001 ⁴
M-ARFI	3,36(1,93-4,26)	3,41(2,3-4,31)	3,42(2,22-4,40)	3,37(1,98-4,39)	0,996
MELD-Score	9(6-17)	8(6-20)	8(6-18)	8(6-18)	0,813
Thrombozytenzahl	90(28-235)	116(22-262)	106(27-238)	120(28-226)	0,137
Verhältnis Thrombozyte n/ Milzlänge	5,96(1,62-21,36)	7,37(1,49-24,08)	7,00(1,26-22,04)	7,65(1,51-27,11)	0,263

¹ Angabe der Werte in folgendem Format: Median(Min-Max); ² Baselineparameter alphabetisch sortiert; ³ p-Wert: Friedman-Test zwischen Messpunkten; ⁴ signifikant (2-seitiger Test mit p≤0,05); ALT Alanin-Aminotransferase; APRI Alanin-Aminotransferase/Thrombozyten-Ratio Index; AST Aspartat-Aminotransferase; CPT Child-Pugh-Turcotte; MELD Model for End Stage Liver Disease; L/M-ARFI Leber/Milz-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie; L-TE Leber-Transiente Elastographie

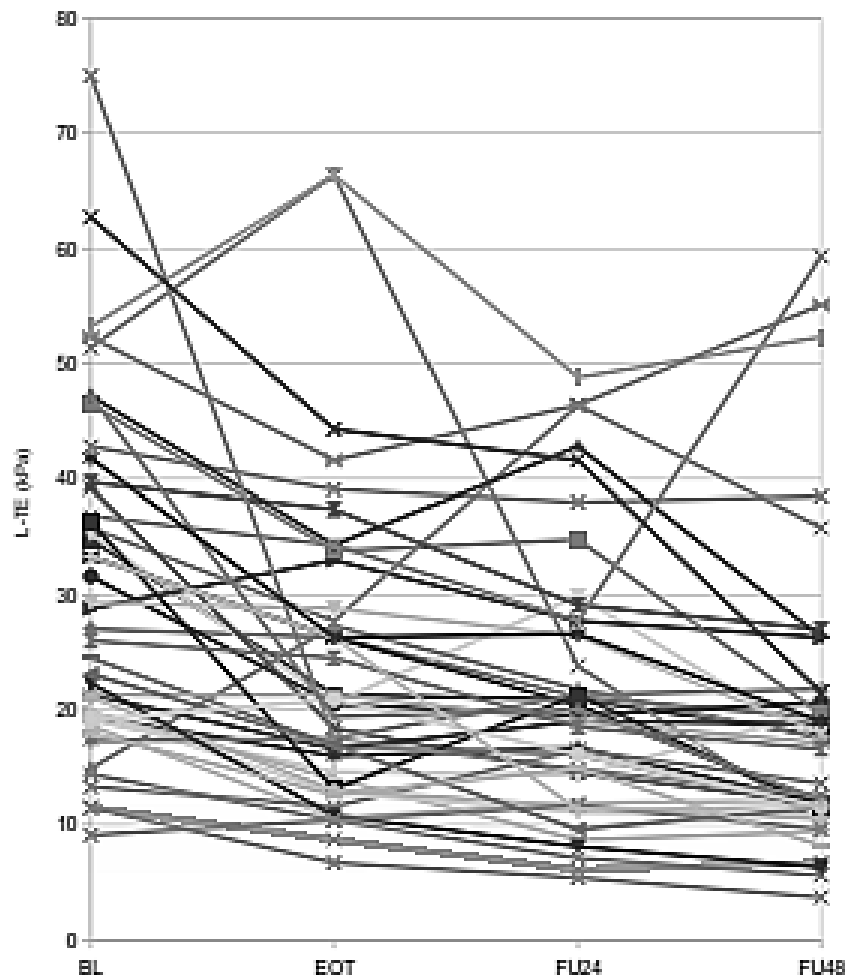


Abbildung 6: Dynamik der L-TE Messungen zwischen BL und FU48

Beispielhaft werden individuelle Verläufe der transienten Elastographie der Leber im Beobachtungszeitraum gezeigt.

Legende: BL Baseline, Therapiebeginn; EOT End of Treatment, Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende; L-TE Leber-Transiente Elastographie

Im Detail zeigte sich bis FU48 bei 42/49 (85,7%) der Patienten eine numerische Verbesserung der L-TE Werte und bei 35/49 (71,4%) eine signifikante Verbesserung ($\geq 30\%$) im Vergleich zu BL. Wie bereits im Abschnitt Statistische Analyse beschrieben, sind Veränderungen der elastographischen Messungen $\geq 30\%$ als signifikant definiert (Tabelle 7).

Die absolute (Min-Max) L-TE Verbesserung im Studienverlauf lag bei 10,4 kPa (-22,5-62,5), wobei es während der Therapie zu einer stärkeren Änderung von 5,4 kPa (-26,3-57,5) kam als im Nachbeobachtungszeitraum von 4,6 kPa (-25-56,3).

Tabelle 7: Veränderungen der Elastographie im Studienverlauf (n=56)

Messung (Anzahl)	Verbesserung Anzahl (%)	Gleichbleibend Anzahl (%)	Verschlechterung Anzahl (%)
Signifikante Veränderungen ($\geq 30\%$)			
L-TE (49)	35 (71%)	13 (27%)	1 (2%)
L-ARFI (55)	6 (11%)	43 (78%)	6 (11%)
M-ARFI (54)	2 (4%)	51 (94%)	1 (2%)
Numerische Veränderungen (ohne Grenzwert)			
L-TE (49)	42 (86%)	1 (2%)	6 (12%)
L-ARFI (55)	27 (49%)	1 (2%)	27 (49%)
M-ARFI (54)	28 (52%)	0 (0%)	26 (48%)

L-ARFI Leber-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie; L-TE Leber-Transiente Elastographie; M-ARFI Milz-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie

Die relative L-TE Verbesserung lag bei 37% im gesamten Studienverlauf, wobei es zu einer Verbesserung von 19% während der antiviralen Therapie und von 21% im Nachbeobachtungszeitraum kam. Dabei muss beachtet werden, dass der Nachbeobachtungszeitraum mit 48 Wochen mindestens doppelt so lang war, wie der Therapiezeitraum von 12-24 Wochen. Eine signifikante Verbesserung der L-TE zeigte sich häufiger zwischen Therapieende und letzter Nachsorge als zwischen Therapiebeginn und Therapieende (BL-EOT: 16/49 [32,7%] vs. EOT-FU48: 20/47 [42,6%]) (Abbildung 7). Bei 6/49 (12%) Patienten kam es zur Verschlechterung im L-TE, wobei nur 1 (2%) Person eine signifikante Verschlechterung zeigte.

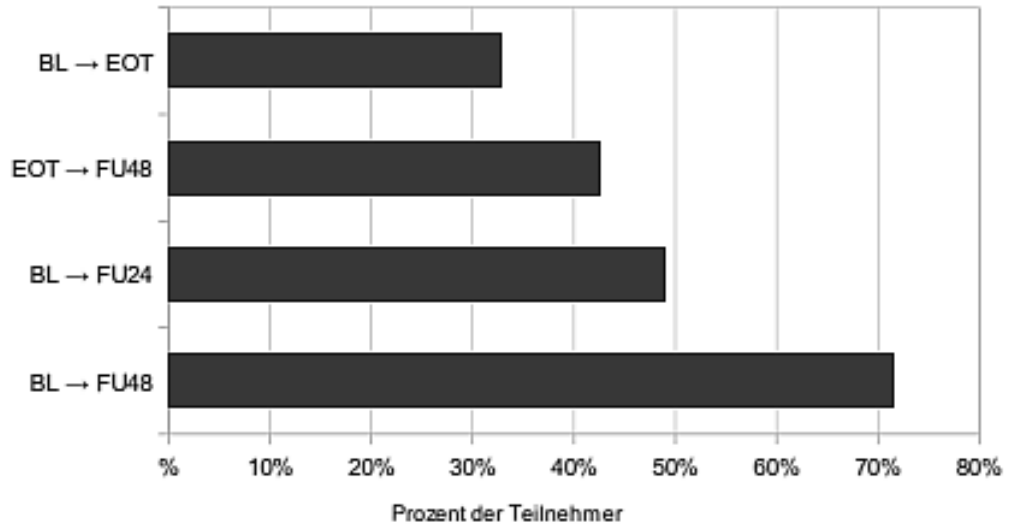


Abbildung 7: Darstellung der signifikanten Verbesserungen von L-TE Messwerten zu verschiedenen Zeiträumen

Prozentsatz der Patienten mit signifikanter Verbesserung der transienten Elastographie der Leber von mindestens 30% zwischen unterschiedlichen Zeitpunkten des Beobachtungszeitraums.

Legende: BL Baseline, Therapiebeginn; EOT End of Treatment, Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende

Daten der L-ARFI Messungen (Abbildung 8) fehlten bei 6/56 (11%) Personen (FU24: 5 Personen, FU48: 1 Person) aufgrund des Fernbleibens zu den Nachkontrollterminen FU24 und FU48. In den L-ARFI Messungen zeigte sich eine signifikante Verbesserung bis 24 Wochen nach Therapie. Danach kam es zum erneuten Anstieg des Median der L-ARFI Messungen bei FU48 (Tabelle 6 und Abbildung 8).

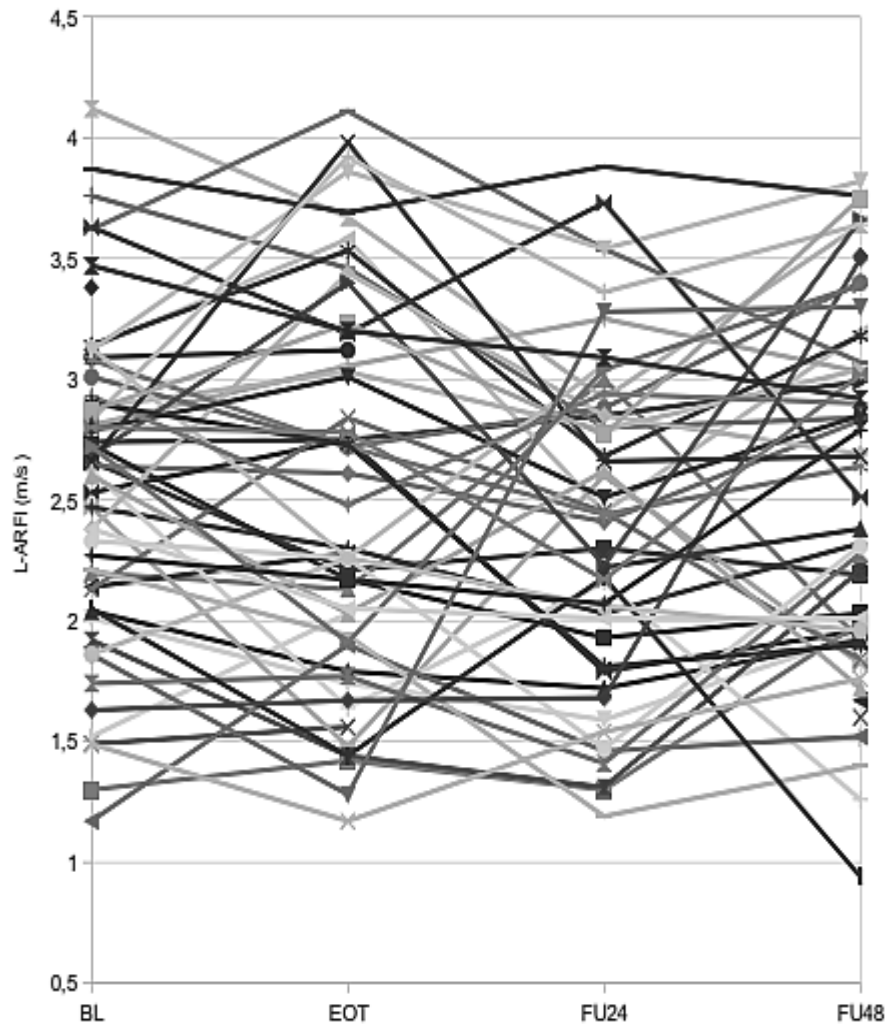


Abbildung 8: Dynamik der L-ARFI Messungen zwischen BL und FU48

Beispielhaft werden individuelle Verläufe der Acoustic Radiation Force Impulse-Messungen der Leber im Beobachtungszeitraum gezeigt.

Legende: BL Baseline, Therapiebeginn; EOT End of Treatment, Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende; L-ARFI Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie der Leber

Im Detail verbesserte sich im L-ARFI die Lebersteifigkeit bei 30/51 (58,8%) Patienten bis zur Verlaufskontrolle FU24 und bei 27/55 (49,1%) bis FU48. Dabei war die mediane (Min-Max) Verbesserung während der Therapie von 0,07 m/s (-1,32-0,99) höher als in der Nachbeobachtungszeit von 0,04 m/s (-2,02-1,3). Eine signifikante Verbesserung von L-ARFI zeigte sich bei 6/55 (11%) Personen (Abbildung 9).

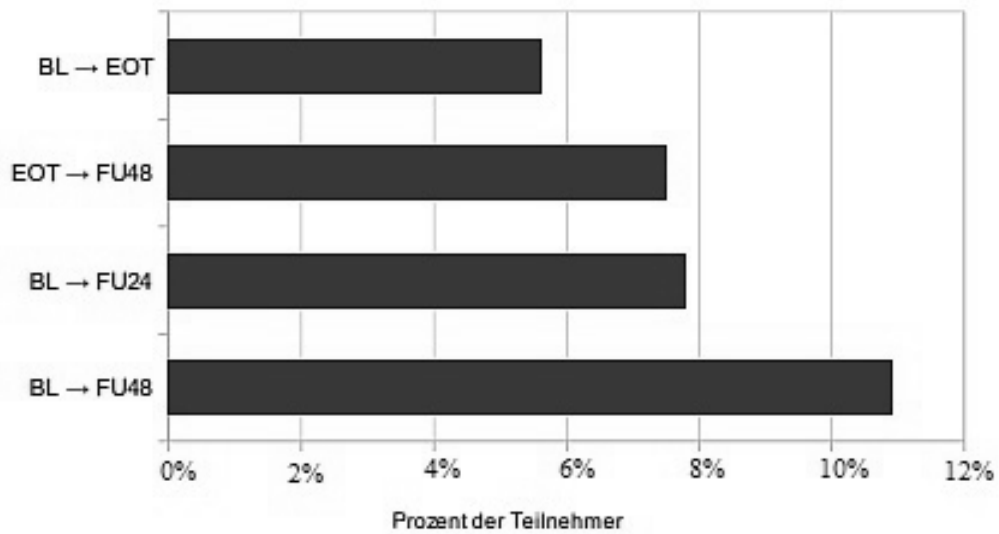


Abbildung 9: Darstellung der signifikanten Verbesserungen von L-ARFI Messwerten verschiedener Zeiträume

Prozentsatz der Patienten mit signifikanter Verbesserung der Acoustic Radiation Force Impulse-Messungen der Leber von mindestens 30% zwischen unterschiedlichen Zeitpunkten des Beobachtungszeitraums.

Legende: BL Baseline, Therapiebeginn; EOT End of Treatment, Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende

Die Dynamik der Transaminase AST zeigte keine Korrelation mit den Veränderungen der L-TE-, L-ARFI- oder M-ARFI-Messungen. Zwischen den Verläufen von ALT und L-ARFI- oder M-ARFI-Messungen zeigte sich ebenfalls keine Korrelation. Dagegen korrelierten die Verläufe von ALT und L-TE zwischen BL und EOT miteinander ($p=0,044$), aber nicht mehr zwischen EOT und FU24 oder FU48.

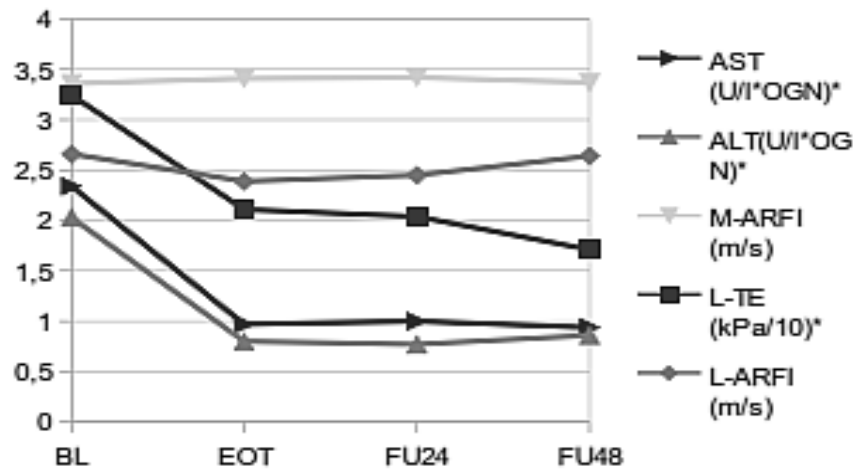


Abbildung 10: Übersicht der Dynamik von elastographischen Messungen und Transaminasen ALT und AST zwischen BL und FU48

Verlauf elastographischer Messungen von Leber und Milz sowie der Transaminasen AST und ALT im Beobachtungszeitraum.

Legende: * AST, ALT wurden zur besseren Veranschaulichung durch die obere Normwertgrenze und L-TE durch 10 dividiert; ALT Alanin-Aminotransferase; AST Aspartat-Aminotransferase; L/M-ARFI Leber/Milz-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie; L-TE Leber-Transiente Elastographie

3.5 Dynamik der Milzelastographie

Die nachfolgende Abbildung zeigt eine Beispielmesswerttabelle einer ARFI-Messung von Leber und Milz (Abbildung 11). In dem Abschnitt werden die Ergebnisse der M-ARFI Messungen (Abbildung 12 und 13) im Studienverlauf dargestellt. Dabei wird genauer auf als signifikant definierte ($\geq 30\%$) und numerische Veränderungen eingegangen (Tabelle 7).

Messungen Gewebeabschergeschwindigkeit Abdomen					
Ort 1 - Leber		Ort 2 - Milz			
Vs (m/s)	Tiefe (cm)	Vs (m/s)	Tiefe (cm)		
2,47	3,6	1,73	3,9		
2,93	3,4	1,80	3,9		
3,02	3,3	1,78	4,6		
3,02	3,6	1,55	4,4		
3,00	3,6	1,44	4,4		
3,02	3,6	1,77	3,9		
2,83	3,6	1,73	3,9		
3,06	4,2	1,67	3,9		
2,21	4,2	1,78	3,9		
2,74	3,6	1,75	4,3		
Median	2,97		1,73		
MW	2,83		1,68		
Std-Abw.	0,28		0,12		
IQB	0,28		0,20		
			Gesamtstatistik		
	Median	2,00	Std-Abw.	0,63	
	MW	2,26	IQB	1,24	

Abbildung 11: Beispiel einer ARFI-Messung von Leber und Milz

Es werden 10 Einzelmessungen einer ARFI-Messung in Milz und Leber mit den daraus berechneten Werten gezeigt.

Von 2 Patienten waren keine M-ARFI-Messdaten zu FU48 wegen früherer Splenektomie bzw. Fernbleibens zum Kontrolltermin verfügbar.

Die mittels ARFI gemessene Milzsteifigkeit zeigte keine signifikanten Veränderungen im Studienverlauf (Abbildung 12). Die mediane (Min-Max) Verbesserung im gesamten Studienzeitraum lag bei 0,045 m/s (-0,98-1,58). Bei 28/54 (52%) der Patienten war zumindest eine numerische Verbesserung der Milzsteifigkeit zu sehen. Eine signifikante Veränderung zeigte sich nur bei 3/54 (6%) der Patienten (Tabelle 7 und Abbildung 13). Davon waren 2/54 (4%) Verbesserungen und 1/54 (2%) eine Verschlechterung.

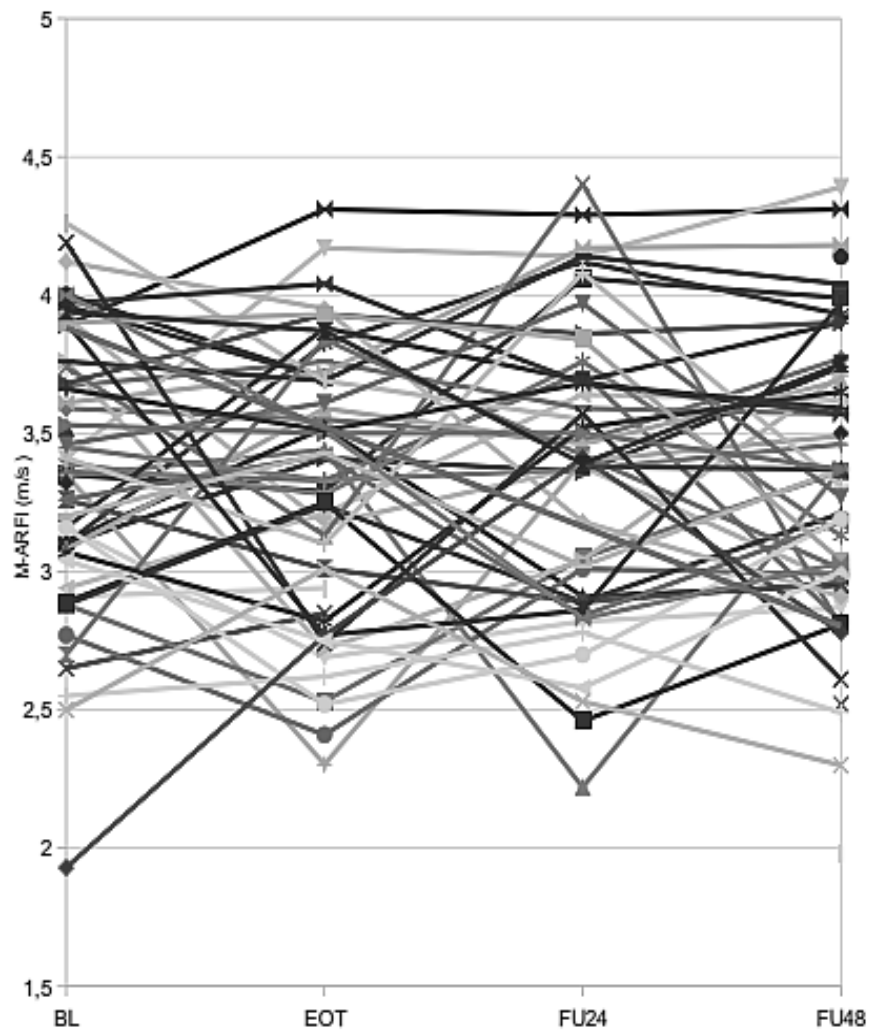


Abbildung 12: Dynamik der M-ARFI Messungen zwischen BL und FU48

Beispielhaft werden individuelle Verläufe der Acoustic Radiation Force Impulse-Messungen der Milz über den Studienverlauf gezeigt.

Legende: BL Baseline, Therapiebeginn; EOT End of Treatment, Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende; M-ARFI Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie der Milz

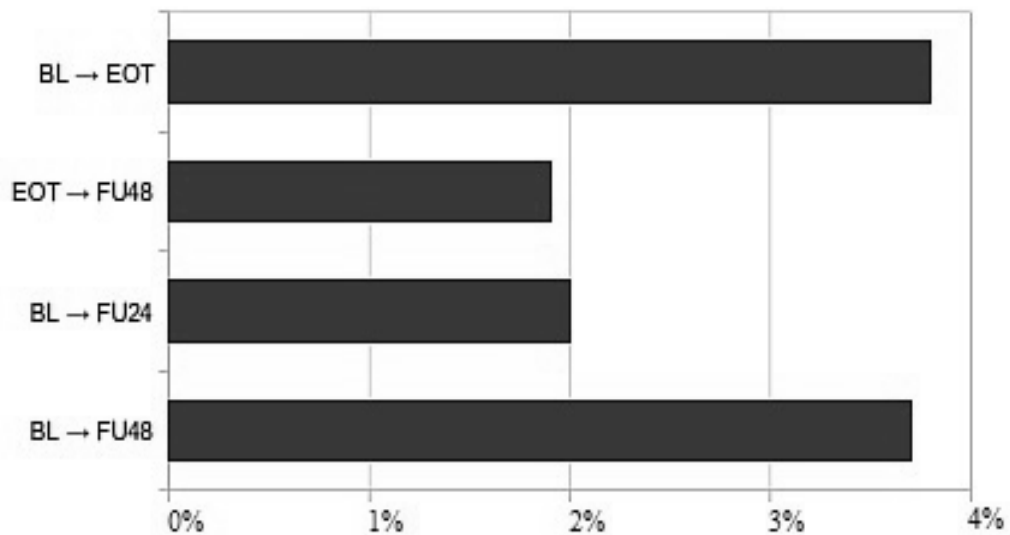


Abbildung 13: Darstellung der signifikanten Verbesserungen von M-ARFI Messwerten verschiedener Zeiträume

Prozentsatz der Patienten mit signifikanter Verbesserung der Acoustic Radiation Force Impulse-Messungen der Milz von mindestens 30% zwischen unterschiedlichen Zeitpunkten des Beobachtungszeitraums.

Legende: BL Baseline, Therapiebeginn; EOT End of Treatment, Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende

3.6 Dynamik von Zirrhosesurrogatmarkern und erfassten Laborwerten

Im folgenden Abschnitt werden die Verläufe der erhobenen Zirrhosesurrogatmarker (Abbildung 14) und Laborwerte im Studienverlauf dargestellt. Weiterhin wird auf das Vorkommen von Ösophagusvarizen, hepatischer Enzephalopathie und Aszites eingegangen.

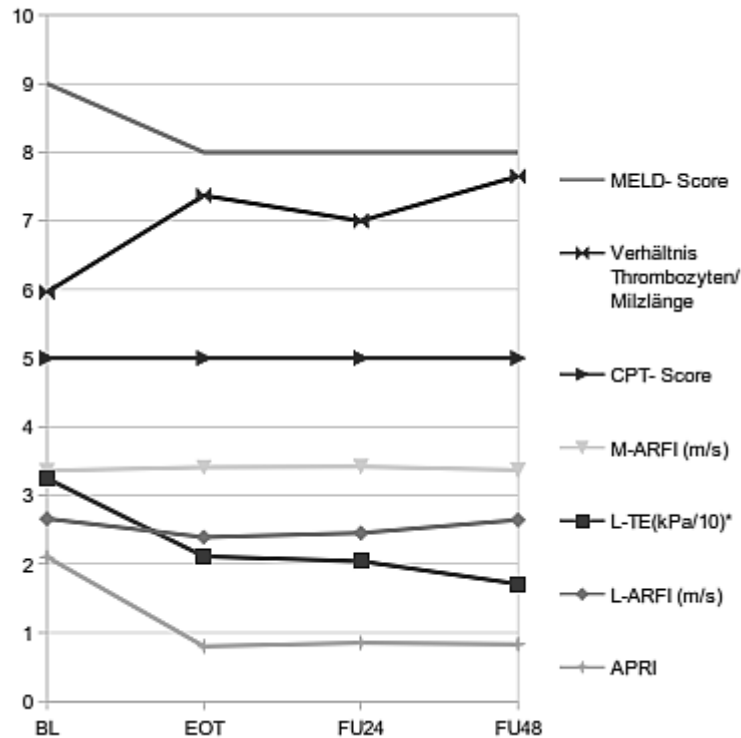


Abbildung 14: Dynamik von Zirrhose-relevanten Markern und elastographischen Messungen

Darstellung der Mediane von MELD-Score, Verhältnis Thrombozyten/Milzlänge, CPT-Score, transiente Elastographie der Leber, Acoustic Radiation Force Impulse-Messungen von Leber und Milz sowie APRI im Studienverlauf.

Legende: * Zur besseren Veranschaulichung wurden die L-TE-Werte durch 10 dividiert; APRI Alanin-Aminotransferase/Thrombozyten-Ratio; BL Baseline, Therapiebeginn; CPT Child-Pugh-Turcotte; EOT End of Treatment, Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende; L/M-ARFI Leber/Milz-Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie; L-TE Leber-Transiente Elastographie; MELD Model of End stage Liver Disease

Bei Betrachtung der Zirrhosesurrogatmarker in der gegenwärtigen Studie konnte eine signifikante Verbesserung ($p=0,012$) der MELD-Scorewerte zwischen BL und FU24 beobachtet werden. Es kam zur Verbesserung um 1 Punkt zwischen BL [Median (Min-Max), 9 (6-17)] und FU24 [Median (Min-Max), 8 (6-18)]. Eine signifikante Veränderung konnte jedoch nicht zwischen BL und EOT bzw. BL und FU48 beobachtet werden (Tabelle 6, Abbildung 14 und 15). Im Gegensatz zur MELD-Score-Verbesserung kam es zu keinen Veränderungen des CPT-Score im Studienverlauf (Abbildung 14 und 16).

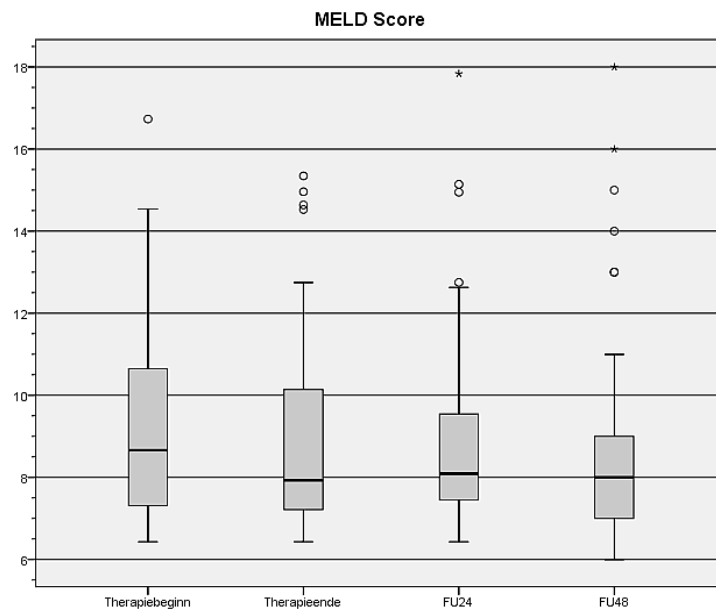


Abbildung 15: MELD-Score-Dynamik im Studienzeitraum

Boxplot der MELD-Scorewerte an den 4 Messzeitpunkten des Beobachtungszeitraums. Der graue Balken gibt den Bereich an in dem 50% der MELD-Scorewerte liegen. Der Querstrich im grauen Balken gibt den Median aller Patienten an dem jeweiligen Messzeitpunkt an.

Legende: FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende; MELD Model of End Stage Liver Disease

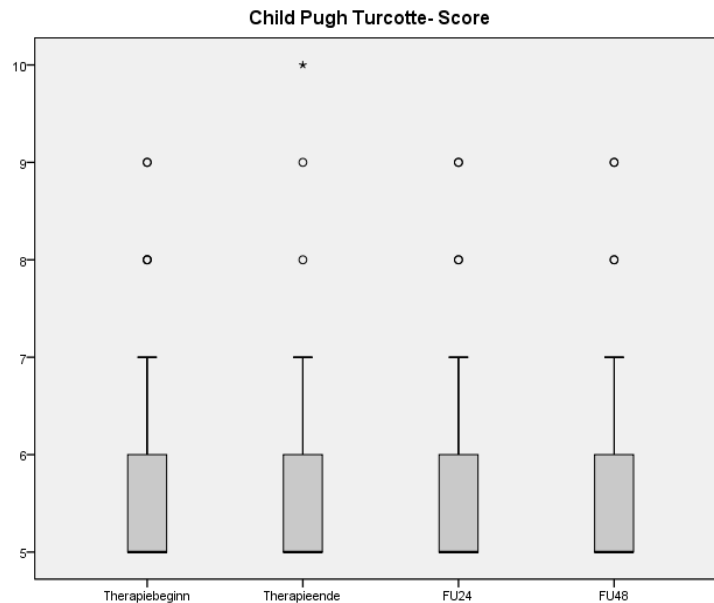


Abbildung 16: CPT-Score-Dynamik im Studienzeitraum

Boxplot der CPT-Scorewerte an den 4 Messzeitpunkten des Beobachtungszeitraums. Der graue Balken gibt den Bereich an in dem 50% der CPT-Scorewerte liegen. Der Querstrich im grauen Balken gibt den Median aller Patienten an dem jeweiligen Messzeitpunkt an.

Legende: FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende

Das Vorkommen von Ösophagusvarizen, hepatischer Enzephalopathie sowie Aszites zeigte keine relevanten Veränderungen im Studienverlauf. Es wurde konstant bei 5/56 (9%) Patienten Aszites festgestellt und 2/56 (4%) Patienten entwickelten eine klinisch relevante hepatische Enzephalopathie während der Studie. Ösophagusvarizen hatten 32/52 (57%) Patienten zu BL und 31/49 (55%) zu FU48. Dabei muss beachtet werden, dass neue ÖGD-Befunde nach EOT nur bei 27/56 (48%) der Patienten verfügbar waren.

Weiterhin zeigte der APRI-Score, eine signifikante Verbesserung (Abnahme) von BL bis EOT. Zu Studienbeginn lag der mediane (Min-Max) APRI bei 2,1 (0,18-11,77) und sank bis zum Therapieende auf 0,8 (0,16-3,64) (Tabelle 6 und Abbildung 14). In der Nachbeobachtungszeit kam es zu keinen weiteren Veränderungen des APRI-Score. Das Verhältnis von Thrombozyten zu Milzlänge, zeigte ebenfalls eine signifikante Verbesserung im Therapieverlauf von Median (Min-Max) 5,96 (1,62-21,36) /nl*cm auf

7,37 (1,49-24,08) /nl*cm. In der Nachbeobachtungszeit kam es zu keinen relevanten Veränderungen des Thrombozyten/Milzlängen-Verhältnisses (Tabelle 6 und Abbildung 14). Signifikante Verbesserungen zwischen BL und FU48 zeigten sich für Milzlänge ($p<0,0001$), sowie die Laborparameter Albumin ($p=0,01$), Gesamtbilirubin ($p=0,003$), AST ($p<0,0001$) und ALT ($p<0,0001$) (Tabelle 6 und Abbildung 17). Die Verbesserungen der AST und ALT Serumwerte traten während der antiviralen Therapie auf und stagnierten in der Nachbeobachtungszeit.

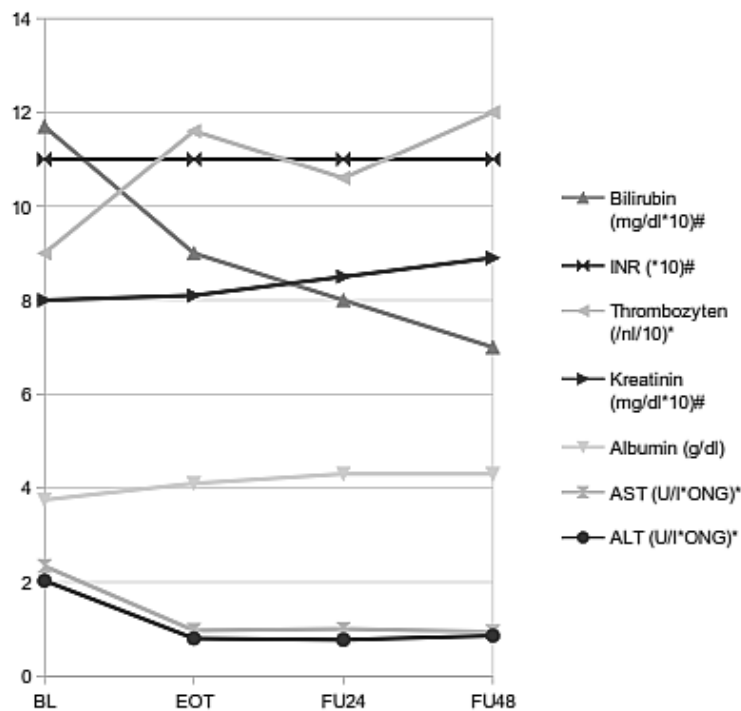


Abbildung 17: Dynamik der evaluierten Laborparameter

Darstellung der Mediane von den im Serum bestimmten Laborparametern Bilirubin, Kreatinin, Albumin, ALT und AST sowie von INR und Thrombozytenzahl im Studienverlauf.

Legende: * AST, ALT wurden zur besseren Veranschaulichung durch die obere Normwertgrenze; # Bilirubin, INR und Kreatinin wurden zur besseren Veranschaulichung mit 10 multipliziert; ALT wurden zur besseren Veranschaulichung durch die obere Normwertgrenze und L-TE durch 10 dividiert; ALT Alanin-Aminotransferase; AST Aspartat-Aminotransferase; BL Baseline, Therapiebeginn; EOT End of Treatment, Therapieende; FU24 Follow-up 24 Wochen nach Therapieende; FU48 Follow-up 48 Wochen nach Therapieende; INR International Normalized Ratio der Prothrombinzeit

In der univariaten Analyse wurde die Korrelation verschiedener Baselineparameter mit einer signifikanten Verbesserung ($\geq 30\%$) der Gewebesteifigkeit gemessen mittels L-/M-ARFI und L-TE überprüft. Dabei zeigte sich eine signifikante Korrelation von BMI und MELD-Score zu BL; das Geschlecht spielte keine Rolle. Ein MELD-Score zu BL bis 10 Punkte war häufiger mit signifikanten Verbesserungen der L-TE während der Therapie ($p=0,005$) und der L-ARFI in der gesamten Beobachtungszeit ($p=0,019$) korreliert, als ein MELD-Score über 10 Punkten. Ebenso korrelierte ein BMI bis 30 kg/m^2 häufiger mit signifikanten Verbesserungen im L-ARFI während der Therapie ($p=0,042$) und im L-TE bis FU24 ($p=0,022$) als ein BMI über 30 kg/m^2 .

Bei der Analyse der einzelnen HCV-Genotypen wurden die Unterschiede zwischen Typ 1a mit 18/56 (33%) und Typ 1b und 3 die mit jeweils 17/56 (31%) vertreten waren betrachtet. Die Genotypen 2 und 4 wurden bei der Analyse ausgeschlossen, weil sie mit 1/56 (2%) bzw. 2/56 (4%) kaum in der Studie vertreten waren. In der HCV Genotypenanalyse zeigten sich signifikant niedrigere Werte im L-ARFI der Genotypen 1a und 1b zu Therapiebeginn ($p=0,005$) und Therapieende ($p=0,003$) im Vergleich zu Genotyp 3. Bei Genotyp 1a zeigte sich im Vergleich zu 1b eine stärkere L-ARFI Verbesserung ($p=0,015$) in der Nachbeobachtungszeit und höhere mediane M-ARFI Werte ($p \leq 0,042$) an allen Messzeitpunkten. Die in der Studie berücksichtigten Laborparameter (Tabelle 1), Zirrhosesurrogatmarker und die Viruslast bei Studienbeginn zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den analysierten Genotypen.

4 Diskussion

Die chronische Hepatitis C führt zwar primär zu einer Hepatitis, kann aber über extrahepatische Manifestationen auch andere Organe schädigen. Durch die chronische Entzündung im Rahmen der Hepatitis kommt es bei einem Teil der infizierten Patienten zu einer progredienten Fibrosierung der Leber bis hin zur Entstehung einer Leberzirrhose.¹⁴ Mit zunehmender Schwere der Fibrose kommt es zum Anstieg des portalvenösen Drucks und zur Entstehung von Umgehungskreisläufen, die das Blut an der Leber vorbei in die Vena cava führen. Ab einem hepatischen Venenverschlussdruck von 6 mmHg spricht man von portaler Hypertension, wobei erst Drücke über 10 mmHg klinische Relevanz haben und mit Komplikationen assoziiert sind.^{22,26,29,93} Die portale Hypertension bei Leberzirrhose ist Ursache von Aszites, Ösophagusvarizen und Splenomegalie.

Die Ausheilung der chronischen Hepatitis C nach einer (PEG)-IFN α -basierten, antiviralen Therapie ist mit einer (partiellen) Fibroseregression der Leber als auch mit einer Verbesserung der portalen Hypertension bei fortgeschrittener Fibrose und frühen Leberzirrhose (niedriges CPT-A Stadium) assoziiert.⁹⁴⁻⁹⁸ Bis zur Einführung der DAA-basierten, (PEG)-IFN α -freien, antiviralen Therapie der Hepatitis C konnten Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose nicht antiviral behandelt werden.⁹⁹ Die Verbesserung der Zirrhose und der portalen Hypertension nach einer erfolgreichen DAA-basierten Therapie bei Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose ist noch nicht abschließend bekannt und wird aktuell erforscht.^{75,94,95,99,100}

In dieser Arbeit wurde mittels nicht-invasiver Verfahren die Rückbildung von Leberzirrhose und portaler Hypertension bei Patienten mit Leberzirrhose und DAA-induzierter SVR untersucht. Dazu wurden Patienten vom Therapiebeginn bis 48 Wochen nach Therapieende beobachtet und zu verschiedenen Zeitpunkten L-TE und L-/M-ARFI Messungen sowie relevante Tests und Laborparameter analysiert. Nachfolgend werden der Einfluss einer DAA-induzierten SVR auf die Zirrhoseregression und die portale Hypertension getrennt diskutiert. Im Abschnitt „Nicht-invasive Bestimmung der Zirrhoseregression bei DAA-induzierter SVR“ wird der Schwerpunkt auf die Zirrhoseveränderungen gelegt, für die vor allem die elastographischen Messungen der Leber in dieser Studie als Marker galten. Im darauffolgenden Abschnitt „Nicht-invasive Bestimmung der Regression der portalen

Hypertension bei DAA-induzierter SVR“ wird der Schwerpunkt auf die Dynamik der portalen Hypertension gelegt. Die elastographischen Messungen der Milz wurden als Marker für die Entwicklung der portalen Hypertension in dieser Studie gewählt.

Soweit mir bekannt ist, handelte es sich bei dieser Studie zum Zeitpunkt der Durchführung um die erste longitudinale ARFI-Studie über einen Zeitraum von 48 Wochen nach Therapieende einer DAA-basierten, (PEG)-IFN α -freien, chronischen Hepatitis C Therapie.

4.1 Methodenkritik

Nachfolgend werden die verwendeten Methoden dieser Studie und der Studienaufbau kritisch bewertet. Es handelt sich hierbei um eine monozentrische, prospektive Studie.

Das prospektive Studiendesign hat gegenüber dem retrospektiven Studiendesign den Vorteil der Datenerhebung nach Hypothesenbildung, wodurch die Daten in der Regel durch das Studienprotokoll vorgegeben und im Sinne der Fragestellung der Studie erhoben werden können. Monozentrische Studien sind vorteilhaft bei der Standardisierung des Studienablaufs und der Messwerte wie z.B. einheitliche Messmethoden für Laborwerte und Benutzung der gleichen Untersuchungsgeräte. Andererseits haben monozentrische Studien den Nachteil aus einem geringeren Patientenkollektiv akquirieren zu können. Dadurch war die Anzahl eingeschlossener Patienten begrenzt und die Studienpopulation heterogen mit Patienten unterschiedlicher Genotypen, Fibrosegraden und Begleiterkrankungen. Über eine Definition relevanter Ein- und Ausschlusskriterien sollte der Heterogenität der Studienpopulation entgegen gewirkt werden. Weiterhin ist zu kritisieren, dass das antivirale Therapieregime ebenso wie die Therapiedauer nicht im Studienprotokoll festgelegt war. Es gab vier unterschiedliche Therapieregime und die Therapielänge variierte zwischen 12 und 24 Wochen. Zudem waren die Intervalle zwischen den Studienterminen mit 12 bis 24 Wochen groß. Bei kürzeren Intervallen, z.B. alle 12 Wochen, wären mehr Daten über den Verlauf der elastographischen Messungen zur Analyse verfügbar gewesen. Andererseits ist davon auszugehen, dass die Fibroseregression bei Leberzirrhose ein langsamer Prozess ist, so dass häufigere Kontrolltermine mutmaßlich hinsichtlich der Fragestellung dieser Arbeit nicht von Vorteil gewesen wären. Weiterhin handelte es sich nicht um eine interventionelle Studie. Invasive Maßnahmen, wie z.B. eine ÖGD,

erfolgten im Rahmen der klinischen Routinebehandlung, wobei die verfügbaren Daten, im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet wurden. Hieraus resultiert aber auch ein Fehlen mancher Untersuchungen zu gegebenen Zeitpunkten. Dennoch war das Studiendesign insgesamt geeignet, um die Fragestellung zu beantworten.

4.2 Stellenwert der elastographischen Messmethoden zur nicht-invasiven Diagnostik von Zirrhose und portaler Hypertension

In den letzten Jahren gewannen elastographische Messmethoden bei der Evaluation von Leberfibrose oder -zirrhose sowie portaler Hypertension zunehmend an Bedeutung. Durch die zunehmende Verfügbarkeit und gute Evaluation der hier verwendeten Messmethoden ARFI und TE, können Patienten nicht-invasiv und schnell untersucht werden. Die direkte Verfügbarkeit der Messergebnisse bietet die Möglichkeit, eine weiterführende Diagnostik oder notwendige Therapie noch in der gleichen Sitzung einzuleiten. Allerdings sind mögliche Störfaktoren der TE und der ARFI zu beachten, weshalb eine Standardisierung der Untersuchungsbedingungen erforderlich ist. Im Folgenden wird dies für die TE und ARFI im Vergleich diskutiert.

Der technische Vorteil der ARFI gegenüber der TE ist die Integration in ein Standardultraschallgerät sowie die Wahlmöglichkeit der Untersuchungsregion. Für die ARFI und TE gibt es Untersuchungsstandards, welche für die TE besser als für die ARFI evaluiert sind, was durch die bereits längere Verfügbarkeit erklärt werden kann.^{54,83,87,101} Um einen Vergleich der beiden Messmethoden (TE und ARFI) in der hier vorliegenden Studie zu ermöglichen, wurden die gleichen Untersuchungsstandards benutzt. Der Median aus 10 Einzelmessungen wurde gebildet und Ergebnisse nur als valide gewertet bei einem Messerfolg über 60% und einem IQR vom Median unter 30%.⁸³ Dies wird im Folgenden im Detail diskutiert.

Die Ergebnisse einer Studie legen nahe, dass die TE anfälliger für Störfaktoren ist und häufiger zu invaliden Messungen führen könnte als die ARFI.⁴⁹ Insbesondere scheinen TE-Einzelmessungen bei einer erhöhten Gewebesteifigkeit ≥ 5 kPa stärkeren Schwankungen bis zu 20-30% zu unterliegen, was die Bedeutung repetitiver Messungen mit Ermittlung eines Medians unterstreicht.^{83,102} Als relevante Einflussfaktoren, die die TE-Messungen beeinflussen, wurden zudem Adipositas, Aszites und die Untersuchererfahrung identifiziert.¹⁰² Um Patienten mit Adipositas zu untersuchen,

wurde eine XL-Sonde mit erhöhter Eindringtiefe (35-75mm) entwickelt. Bei einem BMI über 28 kg/m² traten dabei in einer Studie im Vergleich zur M-Sonde 1,1% statt 16% (p<0,00005) fehlerhafte Messungen auf.¹⁰³ Nachteil der verschiedenen Sonden (M- und XL-Sonde) ist, dass Ergebnisse nicht direkt miteinander verglichen werden können, da XL-Sonden bei gleichem Patient eine geringere Steifigkeit messen.¹⁰³ In der vorliegenden Studie kamen beide Messsonden zum Einsatz. Da im Rahmen der Studie nicht Einzelmessungen, sondern Dynamiken der Mediane von ARFI und TE zu verschiedenen Zeitpunkten verglichen wurden, war dennoch eine sinnvolle Interpretation der Ergebnisse möglich. Als weitere relevante Störfaktoren der TE wurden eine nicht gleichbleibende Atemmittellage, zu enge Intercostalräume, ein nicht eingehaltenes Fasten von mindestens 2 Stunden und eine nicht eingehaltene Ruhephase von mindestens 10-20 Minuten vor der Untersuchung identifiziert.⁵⁴ Weiterhin können Begleiterkrankungen wie eine Lebervenenstauung z.B. bei Herzinsuffizienz, eine akute Hepatitis, eine extra-hepatische Cholestase sowie ein exzessiver Alkoholkonsum die TE-Messwerte beeinflussen.⁵⁴ Diesen Aspekten wurde durch eine standardisierte Untersuchung, einschließlich Beachtung einer adäquat langen Nahrungskarenz und einem Studienausschluss von Patienten mit relevant erhöhtem Alkoholkonsum, berücksichtigt.

Nachfolgend werden Faktoren beschrieben, die ARFI-Messungen beeinflussen können. Ähnlich wie bei der TE können eine nicht gleichbleibende Atemmittellage, ein nicht eingehaltenes Fasten von mindestens 2 Stunden und die Nekroinflammation der Leber die Genauigkeit der Messergebnisse beeinträchtigen.^{54,87} Zusätzlich ist der Messbereich mit 0,5-4,4 m/s im Vergleich zur TE von 2-75 kPa deutlich geringer und die Methode deswegen anfälliger für Messungenauigkeiten.^{54,87} Aufgrund dieser Einschränkungen wurde für beiden Methoden, ARFI und TE, ein Grenzwert von 30% Differenz zwischen den Medianen der Messungen zu verschiedenen Zeitpunkten definiert, um zwischen signifikanten und numerischen Änderungen zu differenzieren.^{83,87}

Trotz der Schwankungen und verfälschenden Faktoren können bei Einhaltung der genannten Untersuchungsstandards valide Ergebnisse mittels TE und ARFI gewonnen werden. Allerdings bleiben elastographische Messungen weiterhin eine indirekte Abschätzung der Leberfibrose oder portalen Hypertension. Die direkte Messung kann nur mittels invasiver Leberbiopsie und HVP-G-Messung über einen Katheter erfolgen. Dabei besteht ein geringes aber bei schwer kranken Patienten relevantes

Komplikationsrisiko. Außerdem geben Leberbiopsien auch nur einen punktuellen Eindruck über den Grad der Leberfibrose, welcher intrahepatisch stark variieren kann.^{36,39} Ein Alternativverfahren, welches den Fibrosegrad der gesamten Leber evaluieren kann, ist z.B. die Magnetresonanz-Elastographie. Auf Grund der hohen Untersuchungskosten wird dieses Verfahren aber bisher nicht routinemäßige angewandt und ist nicht abschließend evaluiert.^{54,104} Die ARFI und TE scheinen daher aktuell die am besten evaluierten Verfahren zur nicht-invasiven Evaluation von Leberfibrose und portaler Hypertension mit geringem Kosten und Zeitaufwand.

4.3 Diskussion der verwendeten, statistischen Verfahren

Die Datenerhebung im Rahmen dieser prospektiven, monozentrischen Studie erfolgte durch klinische und laborchemische Untersuchungen sowie anhand von anamnestisch dokumentierten Daten. An den vier Untersuchungsterminen zu BL, EOT, FU24 und FU48 wurden klinische und laborchemische Daten erhoben. Für jede Messgröße standen also maximal vier zu vergleichende Daten zur Verfügung. Vor der Auswahl statistischer Methoden wurden die Daten auf Normalverteilung überprüft. Dafür wurde der Test von Kolmogorov-Smirnov mit der Lillefors-Modifikation angewandt.⁹¹ Ein Vorteil normalverteilter Größen gegenüber nicht-normalverteilter Größen ist die höhere Teststärke der anwendbaren Tests.⁹¹ Wenn eine geringere Teststärke vorliegt, sollte dafür auf eine ausreichend hohe Fallzahl geachtet werden um valide Ergebnisse zu erhalten.⁹¹ Da die Analyse der Studiendaten mit dem Kolmogorov-Smirnov Test nicht sicher eine Normalverteilung zeigte, wurden für die finale Analyse statistische Testverfahren für nicht-normalverteilte Größen gewählt (Wilcoxon-Test, Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test und Friedman-Test).⁹¹ Für nicht-normalverteilte Größen ist es sinnvoll den Median statt des arithmetischen Mittels zu benutzen, da der Einfluss von Extremwerten geringer ist. Neben dem Median wurde immer der kleinste Wert (Minimum) und größte Werte (Maximum) der Messreihe angegeben. Es wäre auch möglich gewesen den IQR als Streuungsmaß vom Median oder das 25% und 75% Quartil als Bereich der mittleren 50% der Werte anzugeben. Damit aber die gesamte Spannweite der Messwerte erfasst wird und die oberen und unteren 25% nicht ausgeschlossen werden, wurde jeweils das Minimum und Maximum angegeben. Um zu prüfen, ob zwischen zwei Messreihen ein signifikanter Zusammenhang vorlag, wurde

der Rang-Korrelationskoeffizient (Spearman-Korrelation) gewählt.⁹¹ Alternativ hätte der lineare Korrelationskoeffizient (Pearson-Korrelation) gewählt werden können, welcher jedoch nur für normalverteilte Merkmale gilt. Die Daten wurden auf signifikante Unterschiede einer Messgröße an verschiedenen Zeitpunkten überprüft. Dazu wurde ein zweiseitiger Hypothesentest (Test auf Unterschied) und ein Konfidenzintervall von 95% gewählt, dass die Nullhypothese zutrifft. Das bedeutet, dass mit einer Wahrscheinlichkeit von weniger als 5% kein Unterschied zwischen den beiden Messreihen besteht. Ein einseitiger Test (Test auf Überlegenheit) hätte angewandt werden können, wenn nur eine Richtung der Testentscheidung hätte berücksichtigt werden sollen. Da nicht von vornherein gesagt werden konnte, ob es zur Verschlechterung oder Verbesserung der Werte kommt, war ein zweiseitiger Test hier sinnvoller. Zur Testauswahl musste zusätzlich noch die Anzahl der Stichproben sowie die Abhängigkeit bzw. Unabhängigkeit der Messreihen beachtet werden. Um Daten von allen vier Messzeitpunkten z.B. BL L-ARFI, EOT L-ARFI, FU24 L-ARFI und FU48 L-ARFI miteinander zu vergleichen wurde der Friedman-Test gewählt.⁹¹ Dieser ist sinnvoll bei drei oder mehr Messwiederholungen (abhängige Messungen). Als Test für nicht-normalverteilte Größen haben Extremwerte (Ausreißer) einen geringeren Einfluss als bei Tests für normalverteilte Größen, außerdem ist er auch bei kleinen Stichproben anwendbar. Zum Vergleich von zwei Messreihen wurden entweder der Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test (unabhängige Messreihen) oder Wilcoxon-Test (abhängige Messreihen) angewandt.⁹¹ Die Wahl der in dieser Studie angewandten statistischen Methoden erfolgte nach Beratung und in Absprache mit dem Institut für Biostatistik und Mathematische Modellierung des Universitätsklinikums Frankfurt am Main.

4.4 Nicht-invasive Bestimmung der Zirrhoseregression bei DAA-induzierter SVR

In diesem Abschnitt folgt unter Berücksichtigung der methodischen Einschränkungen eine Diskussion der Ergebnisse, in Bezug auf die nicht-invasive Bestimmung der Zirrhoseregression bei DAA-induzierter SVR. Zusätzlich wurde der Bezug zur aktuellen Studienlage hergestellt.

Bei der nicht-invasiven Messung mittels ARFI oder TE wird nicht der Fibrosegrad direkt, sondern die Gewebesteifigkeit gemessen. Somit können Einflussgrößen, die die Steifigkeit unabhängig vom Fibrosegrad erhöhen, zu höheren Meßwerten führen. Bei Vorliegen einer chronischen Hepatitis C kann dies durch die entzündliche Aktivität, beschrieben als Nekroinflammation, bedingt sein. Diese entzündliche Aktivität, wofür die Transaminase ALT als Surrogatmarker dienen kann, ist höher bei Virämie als nach SVR. Bei Vergleich von L-TE- und L-ARFI-Messdaten vor und nach SVR kann es daher zu einer Überschätzung der Fibroseregression durch die unterschiedliche Stärke der Nekroinflammation kommen.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷

Ein bedeutendes Ergebnis der vorliegenden Studie war der Rückgang der Lebersteifigkeit in der L-TE und L-ARFI sowie eine Verbesserung des MELD-Score bis 24 Wochen nach Therapieende. Im weiteren Nachbeobachtungszeitraum von 24 bis 48 Wochen nach Therapieende war nur in der L-TE eine weitere Verbesserung zu sehen. Der mediane CPT-Score blieb hingegen über den gesamten Studienzeitraum konstant. Die Verbesserungen der Werte in der L-TE und L-ARFI bis FU24 sowie des MELD-Score in dieser Studie und MELD- und CPT-Score in anderen Studien lassen vermuten, dass es mehrheitlich zu einer (partiellen) Fibroseregression bei Hepatitis C assoziierter Leberzirrhose nach DAA-induzierter SVR kommt.^{64,65,108}

Bei differenzierter Betrachtung der Daten erkennt man allerdings einen unterschiedlichen Verlauf in der L-TE und L-ARFI während und nach dem Ende der antiviralen Therapie in der vorliegenden Arbeit. Die L-TE-Messwerte sanken am stärksten während der antiviralen Therapie, welche im Folgenden als Phase 1 bezeichnet wird. In der Nachbeobachtungszeit, im Folgenden als Phase 2 bezeichnet, kam es zum geringeren Abfall der L-TE. Bei Beachtung der unterschiedlichen Länge der Phasen (Phase 1: 12-24 Wochen; Phase 2: 48 Wochen) wird dieser Unterschied nochmals deutlicher. In der L-ARFI kam es insgesamt zu schwächeren Veränderungen als in der

L-TE mit einer signifikanten Verbesserung bis FU24 und danach erneuter Verschlechterung. Insgesamt zeigten beide Messverfahren eine mehrheitliche Verringerung der Lebersteifigkeit, welche am stärksten während der antiviralen Therapie auftrat. Dies ließe sich einerseits durch eine stärkere Zirrhoseregression und andererseits durch die Reduktion von Nekroinflammation und Virämie in Phase 1 erklären.

Mehrere Studien konnten einen Zusammenhang der Messwerte der leberspezifischen Transaminase ALT mit L-ARFI und L-TE Messwerten zeigen.^{105,109,110} Da die Transaminase ALT ein Surrogatmarker der Nekroinflammation ist, weist dies auf einen Zusammenhang zwischen Nekroinflammation und Höhe der L-ARFI und L-TE Messwerten hin. Dieser Zusammenhang bestätigte sich ebenfalls in der hier vorliegenden Studie zwischen den ALT- und L-TE-Verläufen, jedoch nicht zwischen den ALT- und L-ARFI-Verläufen. In einer Studie von Bota et al. von 2013 wurden Leberbiopsien, Serum-ALT, L-TE und L-ARFI von 512 Patienten verglichen.¹⁰⁵ Dabei zeigte sich ein signifikanter ALT-Einfluss in der L-ARFI bei ALT-Werten über dem 5-fachen der oberen Normwertgrenze (ONG) und in der L-TE über dem 1,1-fachen der ONG. Da deutlich mehr Patienten der hier vorliegenden Studie einen Serum-ALT zu Therapiebeginn über 1,1xONG als über 5xONG (71,4% vs. 12,5%) hatten, wäre damit die stärkere L-TE Verbesserung im Vergleich zur L-ARFI Verbesserung in Phase 1 erklärbar. Außerdem lässt sich die stärkere Veränderung in Phase 1 im Vergleich zu Phase 2 durch die bis Therapieende mehrheitlich normalisierten Serum-ALT-Werte erklären. Weitere Studien kamen zu ähnlichem Ergebnis, dass eine Verbesserung in der L-ARFI und L-TE während der antiviralen Therapie, durch den Wegfall der Nekroinflammation bedingt sein könnte.^{99,107,110-112} Bei der Interpretation von TE- und vor allem ARFI-Messwerten sollte daher die Höhe der Serum-ALT und zusätzlich die Virämie berücksichtigt werden um das reale Ausmaß der Fibroseregression nicht zu überschätzen.^{105,106} Bei Nichtbeachtung kann es zur fehlerhaften Beurteilung des Fibrosegrades nicht virämischer Patienten führen.^{107,112} D'Ambrosio et al. schlägt daher vor, dass für die Evaluation einer Zirrhoseregression bei Patienten nach SVR der L-TE Cut-off Wert 12 kPa für Leberzirrhose nicht geeignet sei, da er bei virämischen Patienten bestimmt wurde.¹⁰⁷

Der Verlauf des APRI-Score in der vorliegenden Studie stützt diese Überlegungen. Es zeigte sich ein signifikanter Abfall in Phase 1 und kein weiterer Rückgang in der

Nachbeobachtungszeit. Diese Beobachtung sowie die Korrelation von APRI mit L-TE stärkt die oben genannte These des Einflusses der Nekroinflammation auf die Leberelastographieverbesserung in Phase 1. Eine weitere Studie konnte den Zusammenhang zwischen L-TE- und APRI-Verbesserung nach SVR durch DAA-basierte Therapie ebenfalls bestätigen.¹¹¹ Die fehlende Korrelation von APRI mit L-ARFI in der vorliegenden Studie könnte durch die Berechnung des APRI-Score erklärt werden. Der zur Berechnung notwendige Serum-ALT-Wert zeigt, wie bereits oben beschrieben, erst ab einem 5xONG einen signifikanten Einfluss auf die L-ARFI.¹⁰⁵

Weiterhin ist zu diskutieren, warum es nur bei einem Teil der Patienten zur L-TE- und L-ARFI-Verbesserung der Leber kam, während es bei einem anderen Teil zu keiner Veränderung oder sogar Verschlechterung kam. Zunächst ist zu sagen, dass die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie konkordant zu denen anderer Untersuchungen sind. Zwei Studien, die 2017 publiziert wurden, kamen zu ähnlichen Ergebnissen in Bezug auf den heterogenen L-TE Verlauf.^{100,110} In diesen Studien kam es neben den L-TE-Verbesserungen (60% der Patienten bei Sporea et al. und 67% der Patienten bei Lens et al.) bis zum Therapieende auch zu gleich bleibenden Verläufen oder Verschlechterungen.^{100,110} Dazu passen auch die MELD-Score Verläufe dieser und zwei weiterer Studien mit mehrheitlicher Verbesserung aber auch gleich bleibenden MELD-Score Verläufen und Verschlechterungen.^{94,108,113–115}

Zur Erklärung dieser Beobachtung gibt es unterschiedliche Möglichkeiten. Einerseits lässt es sich dadurch erklären, dass die Regeneration der Leber mit fortschreitender Zirrhose abnimmt oder ab einem gewissen Punkt durch zu starke Schädigung keine Regeneration mehr möglich ist.^{99,100,116} Zusätzlich könnte die Ursache der heterogenen Verläufe durch Komorbiditäten, Koinfektionen, Einnahme hepatotoxischer Substanzen (z.B. Medikamente, Alkohol) oder genetische Prädispositionen wie Interferon-gamma Rezeptor 2 Polymorphismen erklärt werden.^{18,19} Auch könnte die Zeitdauer einer Leberzirrhose bis zur erfolgreichen antiviralen Therapie der Hepatitis C bedeutsam für die Regenerationsfähigkeit der Leber sein. Als positive Einflussfaktoren einer signifikanten L-TE- und L-ARFI-Verbesserung konnte in der hier vorliegenden Studie ein BMI bis 30 kg/m² und ein MELD-Score bis 10 gefunden werden. Die genauere Untersuchung von Prädiktoren der Fibroseregession war jedoch nicht Bestandteil der Studie.

Weiterhin muss diskutiert werden, weshalb es in der vorliegenden Studie zu einer signifikanten Verbesserung des MELD-Score bis FU24 kam, welche sich aber nicht im CPT-Score Verlauf widerspiegelte. Dafür können mehrere Gründe in Betracht gezogen werden. Einerseits könnte der Grund eine zu geringe Verbesserung der Leberfunktion sein, was konkordant mit der Dynamik der L-ARFI-Messungen wäre. Daneben könnte ein niedriger medianer CPT-Score und MELD-Score zu Studienbeginn, sowie ein zu kurzer Beobachtungszeitraum ursächlich sein. Dafür spricht auch eine Studie von Curry et al. die besagt, dass erst ab einem Anfangs-MELD-Score über 15 Punkten es zu relevanten CPT-Score Veränderungen nach DAA-basierter, antiviraler Therapie kommt.¹⁰⁸ Da nur 2/56 (4%) der Patienten einen MELD-Score über 15 hatten, war eine Überprüfung der Aussage in dieser Studie nicht möglich. Eine andere Erklärung für den unterschiedlichen Verlauf von MELD- und CPT-Score könnte die Berechnung des CPT-Score sein. Dieser erfasst neben laborchemischen Parametern auch klinische Parameter wie Aszites und hepatische Enzephalopathie. Die hepatische Enzephalopathie wurde bei 1/56 (2%) und Aszites bei 5/56 (9%) am Anfang und Ende der Studie beobachtet. Für das Auftreten von Aszites ist bei Patienten mit Leberzirrhose neben dem Serum-Albumin die portale Hypertonie entscheidend.

Die Verringerung der elastographisch gemessenen Lebersteifigkeit während einer DAA-basierten, antiviralen Therapie könnte neben regenerativen Leberumbauprozessen durch die Nekroinflammation der Leber bedingt sein. In Phase 2 nach erreichter SVR spielt die entzündliche Aktivität der Leber vermutlich keine Rolle mehr, da sich der Surrogatmarker ALT mehrheitlich normalisiert hat. Es kann daher zur Überschätzung der Fibroseregression bei Vergleich von Leberelastographiewerten vor und nach SVR kommen. Die elastographisch gemessenen Veränderungen der Lebersteifigkeit nach erreichter SVR sprechen aber für eine Fibroseregression.

Zur weiteren Evaluation des Ausmaßes der Fibroseregression während und nach DAA-basierter, antiviraler Therapie wären Studien mit mehrfachen Leberbiopsien über einen längeren Zeitraum sinnvoll, da Störfaktoren der Elastographie durch den Vergleich mit den jeweiligen Biopsien verringert werden könnten. Dabei ließe sich auch der Einfluss von Nekroinflammation, Virämie und möglichen weiteren Faktoren auf die elastographischen Daten während der DAA-basierten, antiviralen Therapie genauer analysieren und deren Ausmaß bestimmen.

Außerdem sollten in weiteren Studien Prädiktoren der Fibroseregression ermittelt werden, damit das Risiko für klinische Dekompensationen der Leber nach SVR besser beurteilt werden kann.

4.5 Nicht-invasive Bestimmung der Regression der portalen Hypertension bei DAA-induzierter SVR

Neben der Beurteilung des Fibrosegrades können elastographische Messungen zur nicht-invasiven Evaluation von portaler Hypertension verwendet werden.^{41,44,49,53,87,116}

Das Ausmaß der portalen Hypertension korreliert mit dem Fibrosegrad der Leber. Bei der Ausbildung der portalen Hypertension spielen aber auch funktionelle Faktoren eine Rolle, weswegen dieser Aspekt hier gesondert besprochen werden soll.^{22,117}

Goldstandard der Schweregradbestimmung einer portalen Hypertension ist die invasive Messung des HVPG. Zur nicht-invasiven Evaluation der portalen Hypertension wurden je nach Studie Milz- oder Leberelastographien mit dem HVPG verglichen. In diesen Studien konnte gezeigt werden, dass die TE- und ARFI-Messungen von Milz und Leber mit dem HVPG korrelieren.^{52,53,118,119} Die stärkste Korrelation mit dem HVPG zeigen M-ARFI Messungen, weshalb diese Methode zur nicht-invasiven Evaluation der portalen Hypertension gewählt wurde.^{87,118} Ein Vergleich der M-ARFI Werte mit HVPG Werten war in der vorliegenden Arbeit nicht möglich, da keine HVPG Daten der Patienten erhoben wurden.

In der Analyse der vorliegenden Ergebnisse konnte zudem keine signifikante Veränderung der Milzsteifigkeit im M-ARFI gezeigt werden. Die M-ARFI Messdaten blieben zwischen BL und FU48 mit leichten Schwankungen fast konstant. Etwa die Hälfte der Patienten zeigte Verbesserungen der M-ARFI, die aber nicht bei allen Personen signifikant waren. Es gibt mehrere Möglichkeiten zur Erklärung dieser Ergebnisse. Eine Erklärung wäre, dass die M-ARFI nicht ausreichend sensitiv ist zur Detektion von geringen Änderungen der portalen Hypertension. Eine weitere Erklärung wäre, dass es sowohl Verbesserungen und Verschlechterungen der portalen Hypertension gab und dadurch der Median der M-ARFI Messungen im Verlauf fast gleich blieb. Dafür sprechen auch die numerischen Veränderungen der M-ARFI Messwerte mit fast gleich vielen Verbesserungen und Verschlechterungen im Studienverlauf.

Die Korrelation des HVPG mit der M-ARFI ist noch nicht ausreichend evaluiert, weswegen es noch keine definierten Grenzwerte zur Abschätzung der Höhe des HVPG bzw. der HVPG-Änderung mittels M-ARFI gibt. Für die schon länger verfügbare L-TE wurde ein Grenzwert über 20-25 kPa definiert, der gut mit dem Auftreten einer CRPH korreliert, sowie ein Grenzwert über 21 kPa für das wahrscheinliche Auftreten einer ersten klinischen Dekompensation mit ähnlicher Genauigkeit wie ein invasiv gemessener HVPG über 10 mmHg.^{120,121} Bei Anwendung des L-TE-Grenzwerts über 25 kPa für CRPH, zeigt sich eine deutliche Reduktion der CRPH-Häufigkeit und damit des HVPG, vor allem nach Therapieende [Patienten mit L-TE-Wert über 25 kPa: BL 25/52 (48%), EOT 22/50 (44%), FU48 12/52 (23%)].¹²¹ Die deutliche Reduktion der CRPH-Häufigkeit bei Anwendung des L-TE-Grenzwerts über 25 kPa steht jedoch im Widerspruch zur Analyse der vorliegenden M-ARFI Daten. Eine Studie, welche invasive HVPG-Messungen mit TE und ARFI Messdaten von Milz und Leber verglich, kam zu konkordanten Ergebnissen. Es zeigte sich hierbei, dass eine CRPH gut mittels Leberelastographie evaluiert werden kann, die Milzelastographie aber keine diagnostische Aussagekraft hat.¹¹⁹ Begründet wurden die von anderen Studien abweichenden Ergebnisse der Milzelastographie damit, dass es im Patientenkollektiv viele Patienten mit schwerer Leberzirrhose gab.^{118,119}

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse drei aktueller Studien mit HVPG-Messungen nach SVR durch DAA-basierte, antivirale Therapie können die hier dargestellten M-ARFI Ergebnisse dadurch erklärt werden, dass es neben Patienten ohne Änderung des HVPG annähernd gleich viele Patienten mit Verbesserungen wie Verschlechterungen des HVPG gibt.^{95,100,116} Diese drei Studien analysierten den Verlauf der portalen Hypertension vor und nach DAA-basierter, antiviraler Therapie mit gepaarten, invasiven HVPG-Messungen und unterschiedlich langer Nachbeobachtungszeit.^{95,100,116} Alle Studien kamen zum Schluss, dass es zur signifikanten Reduktion des HVPG nach DAA-basierter, antiviraler Therapie kommt.^{95,100,116,122} Die HVPG-Reduktion zeigte sich aber nur bei einem Teil des Patientenkollektivs. 1 Jahr nach Therapiebeginn wurde eine über 10% HVPG-Reduktion bei 140/226 (62%) Patienten mit SVR in der Studie von Lens et al. und bei 9/36 (24%) Patienten mit SVR in der Studie von Afdhal et al. beobachtet.^{95,100} Neben den deutlichen HVPG-Verbesserungen kam es aber auch zu Verschlechterungen oder gleichbleibenden Verläufen. Bei Mandorfer et al. zeigten 12/60 (20%) der Patienten eine Verschlechterung des HVPG und bei Lens et al. 84/226

(37%) der Patienten.^{100,116} Die Ergebnisse der genannten Studien bestätigen die Vermutung zur heterogenen Entwicklung der portalen Hypertension in beide Richtungen. Diese Interpretation passt auch zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie mit numerischen Veränderungen der M-ARFI mit fast gleich vielen Verbesserungen und Verschlechterungen im Studienverlauf. Die heterogene HVPG-Entwicklung könnte also auch Ursache der im Studienverlauf fast konstant gebliebenen Mediane der M-ARFI Messungen sein.

Es stellt sich nun die Frage nach den Ursachen für die unterschiedlichen Verläufe der Patienten und ob es mögliche Prädiktoren für die Reversibilität der portalen Hypertension gibt. In den oben genannten Studien konnte als Prädiktor der HVPG-Verbesserung ein niedriger HVPG-Wert sowie eine gute Leberfunktion bzw. ein niedriger MELD- und CPT-Score ermittelt werden.^{95,100,116,122} Es ist zu vermuten, dass der Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen den genannten Studien ebenfalls seinen Ursprung in den unterschiedlichen Leberfunktionen und HVPG-Werten der Patientenkollektive hat, wie bei Lens et al. bereits postuliert wurde.¹⁰⁰

Bei Betrachtung des MELD-Score der vorliegenden Studie kam es häufiger zu signifikanten Verbesserungen im L-TE und L-ARFI bei einem MELD-Score unter 10 im Vergleich zu höheren MELD-Scorewerten. Ein Unterschied in Messungen mittels M-ARFI konnte nicht gezeigt werden. Bei Vergleich des CPT-Scores der Patientenkollektive von Lens et al. mit 79% CPT-A und dem in der vorliegenden Studie mit 80% CPT-A, scheint ein ähnlicher medianer HVPG-Rückgang plausibel (bei Lens et al. wurde ein HVPG-Rückgang von $2,1 \pm 3,2$ mmHg zwischen Therapiebeginn und Kontrolluntersuchung 6 Monate nach Therapieende gemessen).¹⁰⁰ Bei der L-TE Analyse der vorliegenden Studie mit dem CRPH-Grenzwert von 25 kPa hatten 13/52 (25%) der Patienten weniger einen CRPH ein Jahr nach Therapieende als zu Therapiebeginn.¹²¹ Die invasiven HVPG-Messungen bei Lens et al. zeigten eine ähnliche Reduktion der CRPH-Häufigkeit nach 6 Monaten bei 50/226 (22%) der Patienten.¹⁰⁰ Ein CRPH blieb also bei der Mehrzahl der Patienten in der hier vorliegenden Studie und bei Lens et al. im Beobachtungszeitraum bestehen und damit einhergehend ein erhöhtes Risiko zur klinischen Dekompensation der Leber.^{100,120,121}

Es wurde postuliert, dass es einen Schweregrad der Leberzirrhose gibt, ab dem eine Beseitigung des auslösenden Agens der Lebererkrankung, z.B. einer DAA-induzierten SVR, mit keiner relevanten Verbesserung der Leberfunktion und portalen Hypertension

assoziiert ist.^{94,99,100,116} Weiterhin wurde von Deterding et al. ein zweiphasiger Verlauf der Regression der portalen Hypertension postuliert, ähnlichem dem in Kapitel 4.4 postulierten zweiphasigen Verlauf der Fibroseregression.¹²³ Durch den engen Zusammenhang zwischen Fibrosegrad und portaler Hypertension scheint ein ähnlicher Verlauf der Regeneration nach SVR durch DAA-basierte, antivirale Therapie wahrscheinlich. Langzeitstudien mit invasiver HVP-G-Messung und Korrelation mit elastographischen Messungen wären zur Klärung wünschenswert.

Entscheidend für den weiteren Krankheitsverlauf und das Komplikationsrisiko der Patienten scheint eine frühzeitige antivirale Therapie zu sein. Das Risiko an einem HCC zu erkranken oder eine Komplikation wie eine Ösophagusvarizenblutung zu bekommen bleibt bei fortgeschrittenem Erkrankungsverlauf vermutlich bestehen.^{100,121} Daher sind für Patienten mit Leberzirrhose auch nach SVR Kontrolluntersuchungen unabdingbar.

4.6 Abschließende Bewertung der Ergebnisse dieser Arbeit

In Zusammenschau der Ergebnisse kann gesagt werden, dass es mehrheitlich zu einer Verbesserung der Leberfunktion durch mutmaßliche Reduktion der Nekroinflammation und damit zusammen hängender Virämie sowie zu einer (partiellen) Fibroseregression nach erfolgreicher antiviraler Therapie mit DAA's und RBV für 12-24 Wochen kam. In den elastographischen Messungen der Leber korrelierten die ARFI und TE miteinander. Allerdings zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den Verläufen, wobei L-ARFI geringere Verbesserungen als L-TE zeigte. Die Ergebnisse legen nahe, dass die nicht-invasiv mittels L-ARFI und L-TE gemessene Verbesserung der Lebersteifigkeit unter Therapie sowohl auf einer Verbesserung der Nekroinflammation als auch der Fibrose beruht und abhängig ist von der Leberzellschädigung bei Therapiebeginn. Der Prozess der Fibroseregression nach DAA-induzierter SVR bei HCV-assoziiierter Leberzirrhose scheint langsam zu verlaufen und war mutmaßlich zum Studienende noch nicht beendet. Für die mit einer Leberzirrhose assoziierte portale Hypertension gelten ähnliche Überlegungen.

Die genauen Ursachen für die unterschiedlichen Verläufe und die bedingenden Faktoren sollten Bestandteil zukünftiger Forschung sein. Dies ist relevant, da auch nach ausgeheilten chronischer Hepatitis C weiterhin Vorsorgeuntersuchungen für das HCC und Ösophagusvarizen erfolgen sollten und ein Dekompensationsrisiko der Leber weiterhin bestehen kann. Sicher scheint nur, dass eine frühzeitige DAA-basierte, antivirale Therapie bei Patienten mit guter Leberfunktion den Krankheitsverlauf verbessert.

5 Zusammenfassung

Einleitung: Die chronische Hepatitis C gehört zu den häufigen Ursachen einer Leberzirrhose. Durch die Entwicklung von direkt antiviralen Medikamenten (direct acting antiviral agent, DAA) können Heilungsraten von über 90% bei chronischer Hepatitis C erreicht werden. Der Einfluss des Therapieerfolgs auf Fibroseregression und portale Hypertension ist insbesondere für Patienten mit Leberzirrhose bisher nicht ausreichend geklärt. Elastographische Messungen von Leber und Milz können als Surrogatmarker zur nicht-invasiven Evaluation von Fibroseregression und Rückgang von portaler Hypertension dienen. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Evaluation der Dynamik von Leberfibrose und portaler Hypertension mittels transienter Elastographie der Leber (L-TE) und Acoustic Radiation Force Impulse Elastographie von Leber (L-ARFI) und Milz (M-ARFI) bei Patienten mit DAA-induziertem anhaltendem virologischen Ansprechen (sustained virological response, SVR) und Hepatitis C Virus (HCV) assoziierter Leberzirrhose.

Patienten und Methoden: In dieser prospektiven, monozentrischen Studie wurden Daten von 56 Patienten mit chronischer Hepatitis C und assoziierter Leberzirrhose analysiert, die eine SVR nach 12-24 Wochen antiviraler Hepatitis C Therapie mit DAA's erreichten. Dabei wurden zu vier Zeitpunkten (Therapiebeginn [BL], Therapieende [EOT], 24 Wochen nach Therapieende [FU24] und 48 Wochen nach Therapieende [FU48]) Messungen vorgenommen. Zusätzlich wurden Leberzirrhose assoziierte Scores und Komplikationen sowie Laborparameter erhoben.

Ergebnisse: Die elastographischen Messungen der Leber zeigten signifikante Verbesserungen im Studienverlauf, am stärksten während der antiviralen Therapie. Im L-TE zeigten sich Verbesserungen zwischen BL [Median(Min-Max), 32,45(9,1-75)kPa] und FU48[Median (Min-Max), 17,1 (3,7-59,3) kPa] ($p < 0,0001$) und im L-ARFI zwischen BL [Median (Min-Max), 2,7 (1,2-4,1) m/s] und FU24 [Median (Min-Max), 2,5 (1,2-3,9)m/s] ($p = 0,011$), wobei signifikante Verbesserungen ($\geq 30\%$) bei 35/49 (71%) Patienten im L-TE und bei 6/55 (11%) im L-ARFI auftraten. Die M-ARFI Messungen als Korrelat der portalen Hypertension, zeigten kaum Veränderungen. Die medianen Werte blieben zwischen BL [Median (Min-Max), 3,4 (1,9-4,3) m/s] und FU48 [Median (Min-Max), 3,4(2-4,4) m/s] konstant ($p = 0,9$). Nur 2/54 (4%) der Patienten zeigten signifikante Verbesserungen. In der univariaten Analyse zeigten sich

als positive Einflussfaktoren der L-TE- und L-ARFI-Verbesserung ein MELD-Score bis 10 sowie ein BMI bis 30 kg/m².

Diskussion und Schlussfolgerung:

In Zusammenschau der Ergebnisse kann bei einem Teil der Patienten von einer Fibroseregression und dem Rückgang der portalen Hypertension nach DAA-basierter, interferon-freier antiviraler Therapie ausgegangen werden. Die mittels L-ARFI und L-TE gemessene Verbesserung der Lebersteifigkeit unter antiviraler Therapie scheint auf einer Verbesserung von Nekroinflammation und Leberfibrose zu basieren. Bei Nichtbeachtung des Einflusses der Nekroinflammation auf nicht-invasive Messungen der Lebersteifigkeit kann es zur Überschätzung der Fibroseregression nach SVR kommen. Da es sich bei der Zirrhose- bzw. Fibroseregression anscheinend um einen langsamen Prozess handelt, sind ausreichend lange Nachbeobachtungszeiten in entsprechenden Studien zu fordern.

Für die mit einer Leberzirrhose assoziierte portale Hypertension gelten ähnliche Überlegungen.

6 Abstract

Introduction: Chronic hepatitis C is a major cause for the development of liver cirrhosis. Through the development of direct-acting antiviral agents (DAA) over 90% of chronic hepatitis C carriers can reach a sustained virological response (SVR). The influence of SVR on regression of fibrosis and portal hypertension is still under debate, especially in patients with cirrhosis. Elastography of liver and spleen stiffness can be used as surrogate parameters for non-invasive evaluation of fibrosis and portal hypertension. The aim of the current study was the non-invasive evaluation of fibrosis and portal hypertension dynamics by transient liver elastography (L-TE) and acoustic radiation force impulse elastography of liver (L-ARFI) and spleen (M-ARFI) in patients with advanced liver disease and DAA-induced SVR

Patients and Methods: Data of 56 patients with SVR after 12-24 weeks of DAA-based, interferon-free antiviral treatment and was analyzed for this prospective, monocentric study. Liver and spleen stiffness was measured at four points of time (therapy baseline [BL], end of treatment [EOT], 24 weeks after treatment [FU24] and 48 weeks after treatment [FU48]). Alongside liver cirrhosis associated scores and complications as well as biochemical parameters were taken.

Results: Liver elastography showed significant improvement during the study, especially during antiviral treatment. The data of L-TE showed improvement between BL [median (min-max), 32,45 (9,1-75) kPa] and FU48 [median (min-max), 17,1 (3,7-59,3) kPa] ($p < 0,0001$) and the data of L-ARFI between BL [median (min-max), 2,7 (1,2-4,1) m/s] and FU24 [median (min-max), 2,5 (1,2-3,9) m/s] ($p = 0,011$). Whereas 35/49 (71%) patients had significant improvement ($\geq 30\%$) in L-TE and 6/55 (11%) in L-ARFI. Beside improvements there were also constant trends and worsening in liver stiffness. M-ARFI measurements, as correlate for portal hypertension hardly changed, between BL [median (min-max), 3,4 (1,9-4,3) m/s] and FU48 [median (min-max), 3,4 (2-4,4) m/s] ($p = 0,9$) it stayed constant. This could be explained by heterogeneous trends with similar numbers of improvement and worsening. Only 2/54 (4%) showed significant M-ARFI improvement ($\geq 30\%$) during the study. In the univariate analysis of baseline parameters predicting significant liver stiffness reduction a MELD-Score ≤ 10 and BMI ≤ 30 kg/m² was found.

Discussion and final conclusion: The data lets draw conclusion that DAA-based, interferon-free antiviral treatment leads to improvement of liver fibrosis and portal hypertension in a fraction of patients. The improvement of L-ARFI and L-TE during antiviral therapy seems to be due to improvement of necroinflammation and fibrosis. If the influence of necroinflammation is not considered in non-invasive evaluation of liver stiffness, fibrosis regression can be overestimated after SVR. The process of fibrosis regression is a continuous and slow process thus long enough follow-up should be considered in further studies.

Similar thoughts apply for cirrhosis associated portal hypertension.

7 Literaturverzeichnis

1. Knop V, Hoppe D, Welzel T, et al. Regression of fibrosis and portal hypertension in HCV-associated cirrhosis and sustained virologic response after interferon-free antiviral therapy. *J. Viral Hepat.* 2016;23(12):994-1002. doi:10.1111/jvh.12578.
2. Choo Q, Kuo G, Weiner A, Overby L, Bradley D, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science.* 1989;244(4902):359-362. doi:10.1126/science.2523562.
3. Kato N, Hijikata M, Ootsuyama Y, et al. Molecular cloning of the human hepatitis C virus genome from Japanese patients with non-A, non-B hepatitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1990;87(24):9524-9528. doi:10.1073/pnas.87.24.9524.
4. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology.* 2014;59(1):318-327. doi:10.1002/hep.26744.
5. World Health Organization. Hepatitis C Fact sheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>. Updated July 14, 2016. Accessed July 14, 2016.
6. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology.* 2013;57(4):1333-1342. doi:10.1002/hep.26141.
7. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med.* 2006;144(10):705-714. doi:10.7326/0003-4819-144-10-200605160-00004.
8. Poethko-Müller C, Zimmermann R, Hamouda O, et al. Die Seroepidemiologie der Hepatitis A, B und C in Deutschland: Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2013;56(5-6):707-715. doi:10.1007/s00103-013-1673-x.
9. Robert Koch Institut. *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger*

Krankheiten für 2015. Berlin; 2015.

http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2015.pdf?__blob=publicationFile. Accessed December 20, 2017.

10. Robert Koch Institut. *Hepatitis C - Ratgeber für Ärzte*; 2016.
http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_HepatitisC.html#doc2389942bodyText7. Accessed July 22, 2016.
11. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *The Lancet Infectious Diseases*. 2005;5(9):558-567. doi:10.1016/S1473-3099(05)70216-4.
12. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, et al. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. The Sentinel Counties Chronic non-A, non-B Hepatitis Study Team. *N Engl J Med*. 1992;327(27):1899-1905.
doi:10.1056/NEJM199212313272702.
13. Consensus Development Conference. Management of Hepatitis C: 2002. *NIH Consens State Sci Statements*. 2002;19(3):1-46.
14. Hajarizadeh B, Grebely J, Dore GJ. Epidemiology and natural history of HCV infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(9):553-562.
doi:10.1038/nrgastro.2013.107.
15. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J. Hepatol*. 1995;22(6):696-699. doi:10.1016/0168-8278(95)80226-6.
16. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *The Lancet*. 1997;349(9055):825-832.
doi:10.1016/S0140-6736(96)07642-8.
17. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology*. 1999;30(4):1054-1058. doi:10.1002/hep.510300409.
18. Nalpas B, Lavialle-Meziani R, Plancoulaine S, et al. Interferon gamma receptor 2 gene variants are associated with liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection. *Gut*. 2010;59(8):1120-1126. doi:10.1136/gut.2009.202267.
19. Trepo E, Pradat P, Potthoff A, et al. Impact of patatin-like phospholipase-3

- (rs738409 CG) polymorphism on fibrosis progression and steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2011;54(1):60-69. doi:10.1002/hep.24350.
20. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2012;380(9859):2095-2128. doi:10.1016/S0140-6736(12)61728-0.
21. Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJF, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol*. 2006;45(4):529-538. doi:10.1016/j.jhep.2006.05.013.
22. Franchis R de, Primignani M. Natural history of portal hypertension in patients with cirrhosis. *Clin Liver Dis*. 2001;5(3):645-663. doi:10.1016/S1089-3261(05)70186-0.
23. el-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2007;132(7):2557-2576. doi:10.1053/j.gastro.2007.04.061.
24. Robert Koch Institut. *Hepatitis C - GBE Themenheft*. Berlin; 2016. http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/Themenhefte/hepatitis_c_2016_inhalt.html?nn=2370692. Accessed July 28, 2016.
25. Cacoub P, Poynard T, Ghillani P, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. MULTIVIRC Group. Multidepartment Virus C. *Arthritis Rheum*. 1999;42(10):2204-2212. doi:10.1002/1529-0131(199910)42:10<2204:AID-ANR24>3.0.CO;2-D.
26. Herold G, ed. *Innere Medizin*. Köln: Gerd Herold; 2016.
27. Younossi Z, Park H, Henry L, Adeyemi A, Stepanova M. Extrahepatic Manifestations of Hepatitis C: A Meta-analysis of Prevalence, Quality of Life, and Economic Burden. *Gastroenterology*. 2016;150(7):1599-1608. doi:10.1053/j.gastro.2016.02.039.
28. Negro F, Forton D, Craxi A, Sulkowski MS, Feld JJ, Manns MP. Extrahepatic morbidity and mortality of chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2015;149(6):1345-1360. doi:10.1053/j.gastro.2015.08.035.

29. Adinolfi LE. Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: Clinical impact and mechanisms. *WJG*. 2014;20(13):3410. doi:10.3748/wjg.v20.i13.3410.
30. Hsu Y-C, Lin J-T, Ho HJ, et al. Antiviral treatment for hepatitis C virus infection is associated with improved renal and cardiovascular outcomes in diabetic patients. *Hepatology*. 2014;59(4):1293-1302. doi:10.1002/hep.26892.
31. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology*. 2004;39(4):1147-1171. doi:10.1002/hep.20119.
32. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *J Hepatol*. 1981;38(5):431-435. doi:10.1016/S0168-8278(03)00005-9.
33. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology*. 1994;19(6):1513-1520. doi:10.1002/hep.1840190629.
34. Takyar V, Etzion O, Heller T, et al. Complications of percutaneous liver biopsy with Klatskin needles: a 36-year single-centre experience. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;45(5):744-753. doi:10.1111/apt.13939.
35. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology*. 2009;49(3):1017-1044. doi:10.1002/hep.22742.
36. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38(6):1449-1457. doi:10.1016/j.hep.2003.09.022.
37. Sherman KE, Goodman ZD, Sullivan ST, Faris-Young S. Liver biopsy in cirrhotic patients. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(4):789-793. doi:10.1111/j.1572-0241.2007.01110.x.
38. Koff RS. Biopsy diagnosis of liver disease. By D.C. Snover, 300 pp. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992. \$75. *Hepatology*. 1992;16(4):1104. doi:10.1002/hep.1840160447.
39. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*.

- 2002;97(10):2614-2618. doi:10.1111/j.1572-0241.2002.06038.x.
40. Talwalkar JA, Kurtz DM, Schoenleber SJ, West CP, Montori VM. Ultrasound-based transient elastography for the detection of hepatic fibrosis: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5(10):1214-1220. doi:10.1016/j.cgh.2007.07.020.
41. Friedrich-Rust M, Ong M-F, Martens S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology*. 2008;134(4):960-974. doi:10.1053/j.gastro.2008.01.034.
42. Stebbing J, Farouk L, Panos G, et al. A meta-analysis of transient elastography for the detection of hepatic fibrosis. *J Clin Gastroenterol*. 2010;44(3):214-219. doi:10.1097/MCG.0b013e3181b4af1f.
43. Piscaglia F, Salvatore V, Di Donato R, et al. Accuracy of VirtualTouch Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) imaging for the diagnosis of cirrhosis during liver ultrasonography. *Ultraschall Med*. 2011;32(2):167-175. doi:10.1055/s-0029-1245948.
44. Friedrich-Rust M, Nierhoff J, Lupsor M, et al. Performance of Acoustic Radiation Force Impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a pooled meta-analysis. *J Viral Hepat*. 2012;19(2):e212-9. doi:10.1111/j.1365-2893.2011.01537.x.
45. Guha IN, Parkes J, Roderick P, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology*. 2008;47(2):455-460. doi:10.1002/hep.21984.
46. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients infected by hepatitis C virus: longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepat*. 2002;(2):128-133. doi:10.1016/S0140-6736(00)04258-6.
47. Rosenberg WMC, Voelker M, Thiel R, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: A cohort study. *Gastroenterology*. 2004;127(6):1704-1713. doi:10.1053/j.gastro.2004.08.052.
48. Morikawa H, Kawada N. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis. *Clin J Gastroenterol*. 2011;4(5):283-291. doi:10.1007/s12328-011-0248-3.
49. Bota S, Herkner H, Sporea I, et al. Meta-analysis: ARFI elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis. *Liver Int*. 2013;33(8):1138-

1147. doi:10.1111/liv.12240.

50. Park J, Kwon H, Cho J, et al. Is the spleen stiffness value acquired using acoustic radiation force impulse (ARFI) technology predictive of the presence of esophageal varices in patients with cirrhosis of various etiologies? *Med Ultrason*. 2016;18(1):11-17. doi:10.11152/mu.2013.2066.181.sff.

51. Takuma Y, Nouse K, Morimoto Y, et al. Prediction of oesophageal variceal bleeding by measuring spleen stiffness in patients with liver cirrhosis. *Gut*. 2016;65(2):354-355. doi:10.1136/gutjnl-2015-309741.

52. Attia D, Schoenemeier B, Rodt T, et al. Evaluation of Liver and Spleen Stiffness with Acoustic Radiation Force Impulse Quantification Elastography for Diagnosing Clinically Significant Portal Hypertension. *Ultraschall Med*. 2015;36(6):603-610. doi:10.1055/s-0041-107971.

53. Zyklus R, Jonaitis L, Petrenkiene V, Pranculis A, Kupcinskas L. Liver and spleen transient elastography predicts portal hypertension in patients with chronic liver disease: a prospective cohort study. *BMC gastroenterology*. 2015;15:183. doi:10.1186/s12876-015-0414-z.

54. Castera L, Chan HL, Arrese M, et al. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J. Hepatol*. 2015;63(1):237-264. doi:10.1016/j.jhep.2015.04.006.

55. Sebastiani G, Halfon P, Castera L, et al. SAFE biopsy: A validated method for large-scale staging of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2009;49(6):1821-1827. doi:10.1002/hep.22859.

56. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*. 2009;49(4):1335-1374. doi:10.1002/hep.22759.

57. Zeuzem S, Heathcote EJ, Shiffman ML, et al. Twelve weeks of follow-up is sufficient for the determination of sustained virologic response in patients treated with interferon alpha for chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2003;39(1):106-111. doi:10.1016/S0168-8278(03)00187-9.

58. Martinot-Peignoux M, Stern C, Maylin S, et al. Twelve weeks posttreatment

follow-up is as relevant as 24 weeks to determine the sustained virologic response in patients with hepatitis C virus receiving pegylated interferon and ribavirin. *Hepatology*. 2010;51(4):1122-1126. doi:10.1002/hep.23444.

59. Lee YA, Friedman SL. Reversal, maintenance or progression: what happens to the liver after a virologic cure of hepatitis C? *Antiviral Res*. 2014;107:23-30. doi:10.1016/j.antiviral.2014.03.012.

60. Pearlman BL, Traub N. Sustained virologic response to antiviral therapy for chronic hepatitis C virus infection: a cure and so much more. *Clin Infect Dis*. 2011;52(7):889-900. doi:10.1093/cid/cir076.

61. McHutchison JG, Ware JE, Bayliss MS, et al. The effects of interferon alpha-2b in combination with ribavirin on health related quality of life and work productivity. *J Hepatol*. 2001;34(1):140-147. doi:10.1016/S0168-8278(00)00026-X.

62. Scheel TKH, Rice CM. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. *Nat Med*. 2013;19(7):837-849. doi:10.1038/nm.3248.

63. Pawlotsky J-M, Feld JJ, Zeuzem S, Hoofnagle JH. From non-A, non-B hepatitis to hepatitis C virus cure. *J Hepatol*. 2015;62(1):87-99. doi:10.1016/j.jhep.2015.02.006.

64. Charlton M, Everson GT, Flamm SL, et al. Ledipasvir and Sofosbuvir Plus Ribavirin for Treatment of HCV Infection in Patients With Advanced Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015;149(3):649-659. doi:10.1053/j.gastro.2015.05.010.

65. Manns M, Samuel D, Gane EJ, et al. Ledipasvir and sofosbuvir plus ribavirin in patients with genotype 1 or 4 hepatitis C virus infection and advanced liver disease: A multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16(6):685-697. doi:10.1016/S1473-3099(16)00052-9.

66. Sarrazin C, Berg T, Buggisch P, et al. S3 guideline hepatitis C addendum. *Z Gastroenterol*. 2015;53(4):320-334. doi:10.1055/s-0034-1399322.

67. D'Amico G, Garcia-Pagan JC, Luca A, Bosch J. Hepatic vein pressure gradient reduction and prevention of variceal bleeding in cirrhosis: a systematic review. *Gastroenterology*. 2006;131(5):1611-1624. doi:10.1053/j.gastro.2006.09.013.

68. Ripoll C, Groszmann R, Garcia-Tsao G, et al. Hepatic venous pressure gradient predicts clinical decompensation in patients with compensated cirrhosis.

- Gastroenterology*. 2007;133(2):481-488. doi:10.1053/j.gastro.2007.05.024.
69. Suk KT. Hepatic venous pressure gradient: clinical use in chronic liver disease. *Clin Mol Hepatol*. 2014;20(1):6-14. doi:10.3350/cmh.2014.20.1.6.
70. Lv Y, Gong X, Xie X, Wang B, Yang Y, Li Y. Clinical study on the relationship between hematocytopenia and splenomegaly caused by cirrhotic portal hypertension. *Cell Biochem Biophys*. 2014;70(1):355-360. doi:10.1007/s12013-014-9920-9.
71. Dai C-Y, Ho C-K, Huang J-F, et al. Hepatitis C virus viremia and low platelet count: a study in a hepatitis B & C endemic area in Taiwan. *J Hepatol*. 2010;52(2):160-166. doi:10.1016/j.jhep.2009.11.017.
72. Child CG TJG. Surgery and portal hypertension. In: *The liver and portal hypertension*. 1964;Philadelphia: Saunders 1964:50-64.
73. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*. 1973;60(8):646-649.
74. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology*. 2001;33(2):464-470. doi:10.1053/jhep.2001.22172.
75. Afdhal N, Everson GT, Calleja JL, et al. Effect of long term viral suppression with sofosbuvir + ribavirin on hepatic venous pressure gradient in HCV-infected patients with cirrhosis and portal hypertension. *J Hepatol*. 2015;62(62):S269-S270. doi:10.1016/S0168-8278(15)30167-7.
76. Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, et al. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut*. 2006;55(3):403-408. doi:10.1136/gut.2005.069153.
77. Friedrich-Rust M, Wunder K, Kriener S, et al. Liver fibrosis in viral hepatitis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging versus transient elastography. *Radiology*. 2009;252(2):595-604. doi:10.1148/radiol.2523081928.
78. Wai C-T, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38(2):518-526. doi:10.1053/jhep.2003.50346.
79. Giannini E, Botta F, Borro P, et al. Platelet count/spleen diameter ratio: proposal

- and validation of a non-invasive parameter to predict the presence of oesophageal varices in patients with liver cirrhosis. *Gut*. 2003;52(8):1200-1205. doi:10.7326/ACPJC-2004-140-2-053.
80. Welzel TM, Petersen J, Herzer K, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, achieved high sustained virological response rates in patients with HCV infection and advanced liver disease in a real-world cohort. *Gut*. 2016;65(11):1861-1870. doi:10.1136/gutjnl-2016-312444.
81. Welker M-W, Luhne S, Lange CM, et al. Lactic acidosis in patients with hepatitis C virus cirrhosis and combined ribavirin/sofosbuvir treatment. *J Hepatol*. 2016;64(4):790-799. doi:10.1016/j.jhep.2015.11.034.
82. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis: A new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol*. 2003;29(12):1705-1713. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2003.07.001.
83. Boursier J, Zarski J-P, Ledinghen V de, et al. Determination of reliability criteria for liver stiffness evaluation by transient elastography. *Hepatology*. 2013;57(3):1182-1191. doi:10.1002/hep.25993.
84. Arena U, Vizzutti F, Corti G, et al. Acute viral hepatitis increases liver stiffness values measured by transient elastography. *Hepatology*. 2008;47(2):380-384. doi:10.1002/hep.22007.
85. Colombo S, Buonocore M, Del Poggio A, et al. Head-to-head comparison of transient elastography (TE), real-time tissue elastography (RTE), and acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging in the diagnosis of liver fibrosis. *J Gastroenterol*. 2012;47(4):461-469. doi:10.1007/s00535-011-0509-4.
86. Nightingale K, Soo MS, Nightingale R, Trahey G. Acoustic radiation force impulse imaging: in vivo demonstration of clinical feasibility. *Ultrasound Med Biol*. 2002;28(2):227-235. doi:10.1016/S0301-5629(01)00499-9.
87. Karlas T, Lindner F, Troltsch M, Keim V. Assessment of spleen stiffness using acoustic radiation force impulse imaging (ARFI): definition of examination standards and impact of breathing maneuvers. *Ultraschall Med*. 2014;35(1):38-43. doi:10.1055/s-0033-1356230.

88. Mauro E, Crespo G, Montironi C, et al. Portal pressure and liver stiffness measurements in the prediction of fibrosis regression after SVR in recurrent hepatitis C. *Hepatology*. 2017. doi:10.1002/hep.29557.
89. Hézode C, Castéra L, Roudot-Thoraval F, et al. Liver stiffness diminishes with antiviral response in chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(6):656-663. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04765.x.
90. Boursier J, Konaté A, Gorea G, et al. Reproducibility of liver stiffness measurement by ultrasonographic elastometry. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6(11):1263-1269. doi:10.1016/j.cgh.2008.07.006.
91. Billeter EP. *Grundlagen der erforschenden Statistik: Statistische Testtheorie*. Wien, New York: Springer; 1972.
92. Dultz G, Seelhof M, Herrmann E, et al. Baseline MELD score predicts hepatic decompensation during antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C and advanced cirrhosis. *PLoS One*. 2013;8(8):e71262. doi:10.1371/journal.pone.0071262.
93. Bosch J, Abraldes JG, Berzigotti A, Garcia-Pagan JC. The clinical use of HVPG measurements in chronic liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2009;6(10):573-582. doi:10.1038/nrgastro.2009.149.
94. Bruno S, Boccaccio V, Russo ML, Maisonneuve P. Is the benefit of treating patients with cirrhosis proven? *Liver International*. 2016;36(S1):21-27. doi:10.1111/liv.13013.
95. Afdhal N, Everson GT, Calleja JL, et al. Effect of Viral Suppression on Hepatic Venous Pressure Gradient in Hepatitis C With Cirrhosis and Portal Hypertension. *J Viral Hepat*. 2017. doi:10.1111/jvh.12706.
96. Iacobellis A, Siciliano M, Perri F, et al. Peginterferon alfa-2b and ribavirin in patients with hepatitis C virus and decompensated cirrhosis: a controlled study. *J Hepatol*. 2007;46(2):206-212. doi:10.1016/j.jhep.2006.08.020.
97. van der Meer, Adriaan J, Maan R, Veldt BJ, et al. Improvement of platelets after SVR among patients with chronic HCV infection and advanced hepatic fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2016;31(6):1168-1176. doi:10.1111/jgh.13252.
98. Gonzalez HC, Duarte-Rojo A. Virologic Cure of Hepatitis C: Impact on Hepatic

- Fibrosis and Patient Outcomes. *Curr Gastroenterol Rep.* 2016;18(7):32.
doi:10.1007/s11894-016-0508-y.
99. Libânio D, Marinho RT. Impact of hepatitis C oral therapy in portal hypertension. *World J Gastroenterol.* 2017;23(26):4669-4674.
doi:10.3748/wjg.v23.i26.4669.
100. Lens S, Alvarado E, Mariño Z, et al. Effects of All-oral Anti-viral Therapy on HVPG and Systemic Hemodynamics in Patients with Hepatitis C Virus-associated Cirrhosis. *Gastroenterology.* 2017. doi:10.1053/j.gastro.2017.07.016.
101. Karlas T, Pfrepper C, Wiegand J, et al. Acoustic radiation force impulse imaging (ARFI) for non-invasive detection of liver fibrosis: Examination standards and evaluation of interlobe differences in healthy subjects and chronic liver disease. *Scand J Gastroenterol.* 2011;46(12):1458-1467. doi:10.3109/00365521.2011.610004.
102. Castera L, Foucher J, Bernard P-H, et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology.* 2010;51(3):828-835.
doi:10.1002/hep.23425.
103. Myers RP, Pomier-Layrargues G, Kirsch R, et al. Feasibility and diagnostic performance of the FibroScan XL probe for liver stiffness measurement in overweight and obese patients. *Hepatology.* 2012;55(1):199-208. doi:10.1002/hep.24624.
104. Petitclerc L, Gilbert G, Nguyen BN, Tang A. Liver Fibrosis Quantification by Magnetic Resonance Imaging. *Top Magn Reson Imaging.* 2017.
doi:10.1097/RMR.000000000000149.
105. Bota S, Sporea I, Peck-Radosavljevic M, et al. The influence of aminotransferase levels on liver stiffness assessed by Acoustic Radiation Force Impulse Elastography: a retrospective multicentre study. *Dig Liver Dis.* 2013;45(9):762-768.
doi:10.1016/j.dld.2013.02.008.
106. Choi M, Kwon H, Cho J, et al. Serial change of liver stiffness measured by acoustic radiation force impulse imaging in chronic liver disease: correlation with biochemical markers. *J Med Ultrason (2001).* 2014;41(3):311-317. doi:10.1007/s10396-013-0508-6.
107. D'Ambrosio R, Aghemo A, Fraquelli M, et al. The diagnostic accuracy of

Fibroscan for cirrhosis is influenced by liver morphometry in HCV patients with a sustained virological response. *J. Hepatol.* 2013;59(2):251-256.

doi:10.1016/j.jhep.2013.03.013.

108. Curry MP, O'Leary JG, Bzowej N, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV in Patients with Decompensated Cirrhosis. *N Engl J Med.* 2015;373(27):2618-2628.

doi:10.1056/NEJMoa1512614.

109. Tapper EB, Cohen EB, Patel K, et al. Levels of alanine aminotransferase confound use of transient elastography to diagnose fibrosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10(8):932-937.e1.

doi:10.1016/j.cgh.2012.01.015.

110. Sporea I, Lupuşoru R, Mare R, et al. Dynamics of liver stiffness values by means of transient elastography in patients with HCV liver cirrhosis undergoing interferon free treatment. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2017;26(2):145-150.

doi:10.15403/jgld.2014.1121.262.dyn.

111. Bachofner JA, Valli PV, Kröger A, et al. Direct antiviral agent treatment of chronic hepatitis C results in rapid regression of transient elastography and fibrosis markers fibrosis-4 score and aspartate aminotransferase-platelet ratio index. *Liver Int.* 2017;37(3):369-376. doi:10.1111/liv.13256.

112. Tachi Y, Hirai T, Kojima Y, et al. Liver stiffness measurement using acoustic radiation force impulse elastography in hepatitis C virus-infected patients with a sustained virological response. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016;44(4):346-355.

doi:10.1111/apt.13695.

113. Afdhal N, Everson G, Calleja JL, et al. Sofosbuvir and Ribavirin for the Treatment of chronic HCV with cirrhosis and portal hypertension with and without decompensation: virologic response and safety. *J Hepatol.* 2014;60(1):S28.

doi:10.1016/S0168-8278(14)60070-2.

114. Deterding K, Höner Zu Siederdissen C, Port K, et al. Improvement of liver function parameters in advanced HCV-associated liver cirrhosis by IFN-free antiviral therapies. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;42(7):889-901. doi:10.1111/apt.13343.

115. Bashir MH, Fazili J, Madhoun MF, Kanagala R, Chen S, Nusrat S. Impact of sustained virologic response on short-term clinical outcomes in hepatitis C-related

- cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2017. doi:10.1097/MEG.0000000000001032.
116. Mandorfer M, Kozbial K, Schwabl P, et al. Sustained virologic response to interferon-free therapies ameliorates HCV-induced portal hypertension. *J. Hepatol*. 2016;65(4):692-699. doi:10.1016/j.jhep.2016.05.027.
117. Franchis R de. Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J. Hepatol*. 2015;63(3):743-752. doi:10.1016/j.jhep.2015.05.022.
118. Takuma Y, Nouse K, Morimoto Y, et al. Portal Hypertension in Patients with Liver Cirrhosis: Diagnostic Accuracy of Spleen Stiffness. *Radiology*. 2016;279(2):609-619. doi:10.1148/radiol.2015150690.
119. Elkrief L, Rautou P-E, Ronot M, et al. Prospective comparison of spleen and liver stiffness by using shear-wave and transient elastography for detection of portal hypertension in cirrhosis. *Radiology*. 2015;275(2):589-598. doi:10.1148/radiol.14141210.
120. Robic MA, Procopet B, Métivier S, et al. Liver stiffness accurately predicts portal hypertension related complications in patients with chronic liver disease: a prospective study. *J. Hepatol*. 2011;55(5):1017-1024. doi:10.1016/j.jhep.2011.01.051.
121. Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A, et al. EFSUMB-Leitlinien und Empfehlungen zur klinischen Anwendung der Leberelastographie, Update 2017 (Langversion). *Ultraschall Med*. 2017;38(4):e16-e47. doi:10.1055/s-0043-103952.
122. Trivedi et al. Noninvasive Assessment of Fibrosis Regression in Hepatitis C Virus Sustained Virologic Responders. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2017;10(13):587-595. <http://www.gastroenterologyandhepatology.net/archives/october-2017/noninvasive-assessment-of-fibrosis-regression-in-hepatitis-c-virus-sustained-virologic-responders/>.
123. Deterding K, Schlevogt B, Port K, Cornberg M, Wedemeyer H. Letter: Can persisting liver stiffness indicate increased risk of hepatocellular cell carcinoma after successful anti-HCV therapy? - authors' reply. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(4):546-547. doi:10.1111/apt.13499.

8 Tabellarischer Lebenslauf

9 Beachtung der Grundsätze der wissenschaftlichen Praxis

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

„Nichtinvasive Evaluation von Fibroseregression und Rückbildung der portalen Hypertension mittels transientser Elastographie und Acoustic Radiation Force Impulse-Elastographie bei Patienten mit Hepatitis C Virus-assoziiierter Leberzirrhose nach Interferon-freier, antiviraler Therapie.“

in der medizinischen Klinik I des Zentrum für Inneren Medizin im Universitätsklinikum Frankfurt am Main unter Betreuung und Anleitung von Herrn Privatdozent Dr. Martin-Walter Welker und Unterstützung durch Frau Dr. Viola Knop ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Vorliegende Ergebnisse der Arbeit wurden in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht:

Viola Knop, Daniel Hoppe, Tania Welzel, Johannes Vermehren, Eva Herrmann, Annika Vermehren, Mireen Friedrich-Rust, Christoph Sarrazin, Stefan Zeuzem, and Martin-Walter Welker, Titel: Regression of fibrosis and portal hypertension in HCV-associated cirrhosis and sustained virologic response after interferon-free antiviral therapy, Journal of viral hepatitis, Heft 12, Seiten 994-1002, Jahr 2016.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)

10 Danksagung