

Aus dem interdisziplinären US-Zentrum des Instituts für Radiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Korrelation der Pathophysiologie des Mammakarzinomrandes
mit modernen sonographischen Techniken

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Clarissa Elisabeth Renée Hameister

aus Solingen

Datum der Promotion: 06.09.2019

Widmung

Widmung

Für Daniel und meine Familie.

Vorwort

Teile dieser Arbeit, insbesondere die Abbildungen 9, 13, 14, 17 und 20 sowie Teile von Abbildung 2 und Tabelle 3, befinden sich im Publikationsprozess und sind unter dem Titel „Can Acoustic Structural Quantification be Used to Characterize the Ultrasound Echotexture of the Peripheral Zone of Breast Lesions?“ von dem Journal Clinical Hemorheology and Microcirculation bereits zur Publikation akzeptiert. Siehe hierzu auch die ausführliche Anteilserklärung am Ende der Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

WIDMUNG	2
VORWORT	3
INHALTSVERZEICHNIS	4
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	6
TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS	8
ZUSAMMENFASSUNG	10
ABSTRACT	12
1 EINLEITUNG	14
1.1 EPIDEMIOLOGIE DES MAMMAKARZINOMS	14
1.2 PATHOGENESE DES MAMMAKARZINOMS	15
1.2.1 <i>Genetische Dysregulation</i>	15
1.2.2 <i>Immunologische Dysfunktion</i>	16
1.2.3 <i>Mikroumgebung des Tumors</i>	16
1.3 KLASSIFIKATION & STADIENEINTEILUNG DES MAMMAKARZINOMS	17
1.3.1 <i>TNM-Stadien</i>	17
1.3.2 <i>Grading</i>	18
1.3.3 <i>Histologische Klassifikation</i>	18
1.3.4 <i>Zusätzliche histologische Untersuchungen</i>	19
1.4 PROGNOSEFAKTOREN DES MAMMAKARZINOMS	19
1.5 FRÜHERKENNUNG UND BASISDIAGNOSTIK DES MAMMAKARZINOMS	20
1.5.1 <i>Ablauf der Ultraschalluntersuchung und Anfertigung des Befundes</i>	21
1.5.2 <i>Entwicklung der Mammasonographie bis zur heutigen Befundung</i>	22
2 FRAGESTELLUNG	25
3 METHODIK	26
3.1 BESCHREIBUNG DES ZENTRUMS DER DATENAQUIRIERUNG	26
3.1.1 <i>Klinische Daten der Patienten</i>	27
3.1.2 <i>Untersuchungsgang</i>	27
3.2 ACOUSTIC STRUCTURE QUANTIFICATION (ASQ)	29
3.3 BESTIMMUNG DER GRÖÖE VON TUMOR UND PERIFOKALER ZONE	31
3.4 HISTOPATHOLOGISCHER BEFUND	33

3.5 STUDENTENBEFRAGUNG ZUM METHODENVERGLEICH	33
3.6 DATENANALYSE	34
4 ERGEBNISSE.....	36
4.1 CHARAKTERISIERUNG DER STUDIENPOPULATION	36
4.2 METHODENVERGLEICH DES HYPERECHOGENEN RANDSAUMS IM B-BILD UND DES HOMOGENEN RANDSAUMS IN ASQ	41
4.2.1 <i>Bland-Altman-Diagramm für die Halo-Tumor-Quotienten aus B-Bild und ASQ</i>	41
4.2.2 <i>Regressionsanalyse der Halo-Tumor-Quotienten in B- und ASQ-Bild</i>	42
4.3 KORRELATION DES HYPERECHOGENEN RANDSAUMS IM B-BILD UND DES HOMOGENEN RANDSAUMS IN ASQ MIT DEN HISTOLOGISCHEN BEFUNDEN	44
4.3.1 <i>Graphische Darstellung der Verteilung der Halo-Tumor-Ratios aus B- und ASQ-Bild in den unterschiedlichen Kategorien diverser prognostischer Marker</i>	45
4.3.2 <i>Interkorrelationstabelle für die Halo-Tumor-Ratios aus B- und ASQ-Bild und die prognostischen Marker</i>	48
4.3.3 <i>Korrelation der Halo-Tumor-Ratios aus B- und ASQ-Bild mit dem Vorhandensein einer Lymphangioinvasion</i>	51
4.4 METHODENVERGLEICH ZWISCHEN KONVENTIONELLEM B-BILD UND ASQ BEZÜGLICH DER DIAGNOSTISCHEN GENAUIGKEIT BEI UNERFAHRENEN ANWENDERN.....	52
4.4.1 <i>Übereinstimmung der Dignitätsbeurteilung in B-Bild und ASQ</i>	52
4.4.2 <i>Diagnostische Genauigkeit der Dignitätsbestimmung in B-Bild und ASQ</i>	53
4.4.3 <i>Halosichtbarkeit bei Interpretation von B-Bild und ASQ</i>	54
4.4.4 <i>Diagnosesicherheit bei Interpretation von B-Bild und ASQ</i>	55
4.4.5 <i>ROC-Kurve für Halosichtbarkeit und Diagnosesicherheit</i>	56
5 DISKUSSION.....	58
LITERATURVERZEICHNIS.....	72
EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	83
ANTEILSERKLÄRUNG AN ETWAIGEN ERFOLGTEN PUBLIKATIONEN	84
LEBENS LAUF	86
KOMPLETTE PUBLIKATIONS LISTE.....	88
DANKSAGUNG	89

Abkürzungsverzeichnis

ACR	American College of Radiology
AGO	Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie e.V.
ASQ	Acoustic Structure Quantification
ASR	Altersstandardisierte Mortalitätsrate
AUC	Area under the curve (Fläche unter der Kurve)
BI-RADS	Breast Imaging-Reporting and Data System
BRCA 1	Breast Cancer Gen 1
BRCA 2	Breast Cancer Gen 2
CAD	Computer-aided diagnosis
CHEK2	Gen, welches für das Protein Checkpointkinase 2 (CHK2) kodiert
DCIS	Duktales Carcinoma in situ
DEGUM	Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine (deutsch: Digitale Bildgebung und –kommunikation in der Medizin)
dTHI	Differential Tissue Harmonic Imaging
VEGF	Vascular endothelial growth factor
EU	Europäische Union
ER	Östrogenrezeptor
HDD	Hard Disc Drive
HER2/neu	Human epidermal growth factor-receptor 2-neu
ICD-10	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme in der 10. Auflage
IDC	Invasiv duktales Carcinoma
ILC	Invasiv lobuläres Carcinoma
Ki-67	Antigen Ki-67 (Ki = Kiel), kann während der Interphase im Zellkern gefunden werden – Markierung sich teilender Zellen möglich
LKG	Landeskrankenhausgesetz
M	Mittelwert
MIB-1	Molecular immunology borstel-1; Antikörper, der Ki-67 bindet
NIH	National Institute of Health

n.s.	Nicht signifikant
NST	Carcinoma of no special type, neue Bezeichnung für IDC
p53	Tumorprotein p53, Tumorsuppressor
p63	Tumorprotein p63
PACS	Picture Archiving and Communication System
PR	Progesteronrezeptor
RIS	Radiologieinformationssystem
ROC	Receiver Operating Curve
ROI	Region of Interest
SAP AG	SAP Aktiengesellschaft
SD	Standard Deviation/ Standardabweichung
SR	Speckle Reduction Imaging
TP53	Gen, das für Tumorprotein p53 (p53) kodiert
TGF β	Transforming growth factor beta
WHO	World Health Organization

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1 : ACR-BIRADS®- Beurteilungskategorien für die Sonographie(40)	22
Tabelle 2 : Ein- und Ausschlusskriterien der Studie	26
Abbildung 1: Schematische Darstellung des bei ASQ verwendeten Prinzips und der Ausgabemodi.....	30
Abbildung 2: Bildbeispiele von Raumforderungen in ASQ	30
Abbildung 3: Vermessung im B-Bild in ImageJ.....	32
Abbildung 4: Vermessung im ASQ-Bild in ImageJ.....	32
Abbildung 5: Verteilung der Proliferationsindices in der Studienkohorte	37
Abbildung 6: Verhältnis der Haloflächen und Halo zu Tumor-Ratios aus dem B-Bild zur Tumorflächen im B-Bild und ihre jeweiligen linearen Anpassungsgeraden.....	38
Abbildung 7: Verhältnis der Haloflächen und Halo zu Tumor-Ratios aus ASQ zur Tumorflächen in ASQ und ihre jeweiligen linearen Anpassungsgeraden.....	39
Abbildung 8: Tumorgroße in ASQ im Verhältnis zur Tumorgroße im B-Bild und ihre lineare Anpassungsgerade	40
Abbildung 9: Vergleichende Darstellung der Verhältnisse der Haloflächen aus B-Bild und ASQ zu der Tumorfläche im B-Bild.....	41
Abbildung 10: Bland-Altman-Plot: Vergleich des neuen Verfahrens der Haloausmessung mittels der Farbpixelzählung des blauen/homogenen Randsaums im ASQ-Bild bei ImageJ mit der Pixelzählung nach der Umrandung des hyperechogenen Randsaums im B-Bild	42
Abbildung 11 : Lineare Regression des Verhältnisses des Halos zur Tumorfläche für das ASQ-Bild auf die selbige Ratio für die Messungen im B-Bild	43
Abbildung 12 : Unterschiedliche Regressionsmodelle (linear, quadratisch, kubisch) für das Verhältnis des Halos zur Tumorfläche im ASQ-Bild auf die selbige Ratio im B- Bild.....	44
Abbildung 13: Boxplots: Verteilung der Halo-Tumor-Ratios bei Tumoren mit und ohne nachgewiesener Lymphangioinvasion für B-Bild (links) und ASQ (rechts)	
Abbildung 14: Boxplots: Verteilung der Halo-Tumor-Ratios bei N-Stadien 0 bis 2 für B- Bild und ASQ	46
Abbildung 15: Boxplots: Verteilung der Halo-Tumor-Ratios bei histologischem Grading G1 bis G3 für B-Bild und ASQ	47

Abbildung 16: Boxplots: Verteilung der Halo-Tumor-Ratios bei NST- , invasiv lobulären und anderen Tumoren	48
Abbildung 17: ROC-Kurven von Halo-Tumor-Ratios in ASQ- und B-Bild zur Diagnostik einer Lymphangioinvasion bei malignen Raumforderungen der Mamma	51
Abbildung 18: Eingeschätzte Dignität in B-Bild und ASQ	53
Tabelle 4: Vierfeldertafel für die Dignitätsbeurteilung durch die Studenten im B-Bild ...	53
Tabelle 5: Vierfeldertafel für die Dignitätsbeurteilung durch die Studenten in ASQ	54
Tabelle 6: Einfaktorielle ANOVA-Analyse der Halosichtbarkeit in B- und ASQ-Bild für benigne und maligne Befunde	55
Abbildung 19: ROC-Kurven für Halosichtbarkeit in B- und ASQ-Bild, sowie Diagnosesicherheit in B- und ASQ-Bild	56
Abbildung 20: Schema maligner Läsionen mit schmalem Ödemsaum gleichbleibender Breite und Angabe der jeweiligen Flächengrößen und -verhältnisse	61

Zusammenfassung

Ziel: Ziel dieser Studie war, die mittels akustischer Strukturquantifizierung (ASQ) von Ultraschallrohdaten erfasste, perifokale Zone um Mammakarzinome mit der im B-Bild hyperechogenen Randzonen um maligne Läsionen zu vergleichen. Wir untersuchten Korrelationen zwischen beiden Halophänomenen mit prognostischen Markern, besonders Lymphangiainvasion. Wir wollten zeigen, dass eine deutlichere Halosichtbarkeit in ASQ die Diagnosegenauigkeit und -sicherheit bei Ungeübten erhöht.

Methodik: Die vorliegende retrospektive Studie schloss 37 Patientinnen mit vorliegendem Brustultraschall beider Modi und histopathologischem Befund ein (positives Datenschutzvotum, E-Nr. 731-16). Es wurden jeweils Größe von Halo und Tumor softwarebasiert bestimmt und zueinander ins Verhältnis gesetzt. Wir bewerteten das ASQ-Verfahren in einem Bland-Altman-Diagramm und verwendeten Pearson's lineare Regression, um den Zusammenhang zwischen B-Bild und ASQ zu untersuchen. Mittels ANOVA-Analyse wurde nach Korrelationen mit Prognosefaktoren gesucht. Für die Auswertung der Lymphangiainvasion kamen Chi-Quadrat-Testung, Mann-Whitney-U-Test und ROC-Kurven zur Anwendung. Außerdem sollten sechs ungeübte Studenten verblindet und ohne klinische Angaben die Dignität für acht benigne und neun maligne Befunde jeweils in B- und ASQ-Bild bestimmen, Halosichtbarkeit einstufen und ihre Diagnosesicherheit angeben. Es wurden Spezifität, Sensitivität, positive und negative Vorhersagewerte bestimmt. Die statistische Auswertung der Halosichtbarkeit und Diagnosesicherheit erfolgte mittels ANOVA-Analyse, Wilcoxon-Test und ROC-Kurve.

Ergebnisse: Es bestand ein linearer Zusammenhang zwischen der Ratio in ASQ und der im B-Bild, jedoch auch ein systematischer Fehler bei der Ratio-Bestimmung. Im ASQ-Verfahren zeigte sich ein Trend zu höheren Ratios für Lymphangiainvasion ($p=.051$, n.s.) und höhere N-Stadien ($p>.925$, n.s.), während andere Marker nicht korrelierten. Durch die signifikant bessere Halosichtbarkeit im ASQ-Modus wurde bei Anwendung durch Ungeübte deskriptiv eine höhere Sensitivität (78% vs. 74%) und Spezifität (75% vs. 71%) und höhere negative und positive Vorhersagewerte (75% vs. 71% bzw. 78% vs. 74%) als im B-Bild erreicht. Gesteigerte Halosichtbarkeit hatte für

beide Methoden Einfluss auf die Diagnose maligner Läsionen, besonders eignete sich ASQ ($F_{\text{B-Bild}}(1,100) = 19.253, p < .001$; $F_{\text{ASQ}}(1,100) = 52.338, p < .001$). Die Studenten fühlten sich in der Beurteilung des ASQ-Bildes signifikant sicherer ($z = -3.023, p = .003$).

Schlussfolgerung: Wir schlussfolgerten, dass die Haloflächen in ASQ und im B-Bild auf unterschiedliche morphologische Korrelate zurückzuführen seien. Wichtiges Kernergebnis unserer Studie war der Nutzen des ASQ-Modus für die Diagnosegenauigkeit und -sicherheit bei der Anwendung durch Unerfahrene aufgrund der besseren Halodarstellbarkeit. Die in ASQ verwendeten Algorithmen könnten für die Mamma spezifiziert werden und würden zu einer besseren Standardisierung in der Mammasonographie und in der Klinik die diagnostische Genauigkeit steigern. Weitere Studien mit der Fragestellung nach dem Substrat des Halos und der diagnostischen Genauigkeit des ASQ-Verfahrens sollten in prospektivem Setting folgen.

Abstract

Purpose: In this study, we aimed to show equivalence or benefit of using acoustic structure quantification (ASQ) of ultrasound raw data in comparison to b-mode regarding presentation of perilesional zones. We proved possible relationships to multiple prognostic factors, especially lymphangiogenesis, and proposed that ASQ enhances halo visibility, and thereby improves diagnosis of breast cancer, even if rated by unexperienced.

Methods: This retrospective study included 37 patients with histopathological examination and lesion documentation in both modes (approved, control no 731-16). We measured sizes of halos and tumours in ImageJ, and calculated their ratios. Ratios from both methods were compared by Bland-Altman-analysis, equivalence examined by Pearson's linear regression. Correlation to prognostic factors was assessed by ANOVA-analysis, lymphangiogenesis further by chi-square test, Mann-Whitney-U-test and ROC-analysis. Six, blinded students were asked to assess dignity of eight benign and nine malignant lesions in both modes, rate halo visibility and grade their confidence. Sensitivity, specificity, and predictive values were calculated. To show higher halo visibility and subjective confidence in ASQ, we used ANOVA-analysis and Wilcoxon-test. Impact of halo visibility and confidence on dignity assessment was analyzed for both methods, using ROC.

Results: There was significant linear relation between both ratios, even though Bland-Altman-analysis showed a systematic bias between both methods used to derive halo-tumour-ratios. ASQ-mode trended to have higher ratios for both, lymphangiogenesis ($p=.051$, n.s.) and higher degrees of spread to regional lymph nodes ($p>.925$, n.s.). Other prognostic markers had no correlation. We were able to show that significantly better halo visibility in ASQ led to a descriptively higher sensitivity (78% vs. 74%), specificity (75% vs. 71%) and positive as well as negative predictive values (75% vs. 71% and 78% vs. 74% respectively) compared to b-mode, when assessed by inexperienced. Halo visibility had a high impact on diagnosis of malignancy for both methods, but even higher for ASQ ($F_{B-Bild}(1,100) = 19.253$, $p <.001$; $F_{ASQ}(1,100) =$

52.338, $p < .001$). Students felt significantly more confident about interpreting ASQ-mode ($z = -3.023$, $p = .003$).

Conclusion: We supposed that halos in b- and ASQ-mode were attributed to different morphological substrate. Most importantly, ASQ has shown to be a benefit for mamma diagnostics, especially for beginners. Modifying algorithms, to fit characteristics of breast tissue better, could lead to a better standardization of breast ultrasound, and increase diagnostic accuracy in clinical practice. Further studies in a prospective setting are needed to explore the halo's substrate and level of diagnostic significance for ASQ.

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie des Mammakarzinoms

Brustkrebs ist die zweithäufigste Krebsart weltweit und die häufigste unter Frauen sowohl in entwickelten als auch in unterentwickelten Ländern. 2012 machte Brustkrebs 25% aller neugestellten Krebsdiagnosen weltweit aus. Aufgrund der Verwestlichung des Lebensstils ist ein steigender Trend der Inzidenzraten für Tumore der Brust zu beobachten.(1, 2) Brustkrebs ist nach dem Lungenkrebs die zweithäufigste Todesursache bei an Krebs leidenden Frauen in den Industrieländern (198.000 Todesfälle in 2012, 15,4% aller an Krebs verstorbenen) und die häufigste in den Entwicklungsländern (324.000 in 2012, 14,3% aller an Krebs verstorbenen) (1).

In Deutschland sind bösartige Neubildungen (Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme in der 10. Auflage (ICD-10) Codes C00-D48) die zweithäufigste Todesursache nach Krankheiten des Kreislaufsystems und machen bei Frauen gut ein Drittel der Alterssterblichkeit aus (3). Auch in Deutschland ist das Mammakarzinom die häufigste Entartung bei Frauen (31,3 % aller Tumorleiden) und trägt mit 17,4% zur krebsbedingten Mortalität bei. Eine von acht Frauen wird im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs erkranken. 2010 kam es in Deutschland zu rund 70.000 Neuerkrankungen und 17.500 Sterbefälle (Inzidenz: altersstandardisierte Mortalitätsrate (ASR) 119,6/1000, Mortalität: ASR 24,0/1000) (4). Damit liegt Deutschland bezüglich der Brustkrebssterblichkeit im Vergleich mit den anderen Mitgliedern der Europäischen Union (EU) im Mittelfeld. Bis 2010 gab es gemäß des EU-weiten Trends einen Rückgang der Brustkrebssterberate von mehr als 9% auf eine standardisierte Sterberate von 24 je 100.000 Frauen.(5) Die relative 5-Jahresüberlebensrate lag 2010 gemittelt über alle Tumorstadien bei 87% (4). Sterbe- bzw. Überlebensraten weisen je nach Ausbreitungsstadium bei Erstdiagnose jedoch eine breite Varianz auf.

In Deutschland liegt das Erkrankungsalter im Schnitt bei 64 Jahren. Jede vierte Betroffene ist jedoch jünger als 55, jede zehnte jünger als 45 Jahre. Durch das 2005 eingeführte Mammographie-Screening werden Tumore der Brustdrüse deutlich früher erkannt. 2009 und 2010 wiesen rund 90% der Patientinnen bei Erstdiagnose ein

prognostisch günstigeres T1- oder T2-Stadium auf. Ob sich das Screening auch positiv auf das Überleben auswirkt, ist in Deutschland noch nicht beurteilbar.(4)

Auch Männer sind betroffen, obgleich die altersstandardisierten Inzidenz- und Mortalitätsraten bedeutend niedriger liegen (in Deutschland bei Männern 1,1/1000 bzw. 0,2/1000; respektiv) (4) und kaum zur Gesamtmorbidität und Mortalität beitragen.

1.2 Pathogenese des Mammakarzinoms

Viele Studien führen die Entstehung von Mammakarzinomen auf eine multifaktorielle Genese zurück (2, 6, 7). Dabei spielen sowohl Genetik, als auch exogene und endogene Faktoren in unterschiedlichem Ausmaß eine Rolle. Das weibliche Geschlecht und zunehmendes Alter bilden unabhängig von der Tumorart die bedeutendsten Risikofaktoren (8).

1.2.1 Genetische Dysregulation

Nachgewiesen ist die Schlüsselrolle der genetischen Dysregulation bei der Krebsentstehung. Besonders im Fokus stehen Gene der sogenannten Tumorsuppressoren und Protoonkogene. Dabei gibt es Mutationen unterschiedlicher Penetranz. Beispielsweise Genträger von Mutationen mit hoher Penetranz wie des Breast Cancer Gen (BRCA)1 oder BRCA2 werden mit hoher Wahrscheinlichkeit im Laufe ihres Lebens an einem Tumor der Brustdrüse erkranken. Ford et al. konnten bei familienanamnestisch gehäuften Auftreten von Tumoren der Mammae und der Ovarien in 80% der Fälle einen Zusammenhang mit BRCA1 nachweisen. BRCA2 scheint vor allem bei der Entstehung von Tumoren der männlichen Brust eine Rolle zu spielen und sei bei 77% der männlichen Brustkrebsfälle nachweisbar.(9) Mehrere Studien zeigen, dass solche Mutationen mit hoher Penetranz vor allem eine Rolle bei den familiären Mammatumoren spielen, die jedoch nur etwa 20% aller Brustkrebsfälle ausmachen (10). Gene mit geringerer Penetranz, wie das Gen, welches Checkpoint Kinase 2 kodiert, (CHEK2), scheinen zwar seltener bei den familiären Tumoren ursächlich zu sein, könnten jedoch zu der Entstehung der weitaus häufiger auftretenden sporadischen Brustkrebsfälle beitragen (11).

1.2.2 Immunologische Dysfunktion

Immunologische Dysfunktion könnte ein weiterer pathogenetischer Mechanismus bei Brustkrebs sein. Zuckerman et al. konnten in tumorfreien Lymphknoten nodal-positiver Brustkrebspatienten eine Downregulation von Genen nachweisen, die eine Rolle bei der immunologischen Signalübertragung spielen. Die Tatsache, dass diese genetische Veränderungen auch in nicht befallenen Lymphknoten belegt werden konnte, deutet an, dass es sich nicht um ein Merkmal der Tumorinvasion, sondern eher um eine systemische Prädisposition handelt. Eingeschränkte Immunfunktion scheint die Vulnerabilität für Lymphknoteninvasion – ein wichtiger prognostischer Marker - zu erhöhen.(12)

Jeong et al zeigten kürzlich an speziellen BRCA2-Knockout-Mäusen eine verminderte Zahl naiver T-Zellen und eine beeinträchtigte T-Zellfunktion. Insgesamt knüpft diese Arbeit einen Anschluss zwischen der Theorie eines defekten Immunsystems und dem allgemein anerkannten pathogenetischen Mechanismus der genetischen Dysregulation.(13)

Es wurde von mehreren immunologischen Abnormalitäten in Brustkrebspatienten berichtet. Im Moment muss noch ein überdachendes Grundkonzept dargelegt werden, um diesen pathogenetischen Ansatz endgültig zu etablieren.

1.2.3 Mikroumgebung des Tumors

Ein Konzept, das sich auch im Rahmen der Forschung an immunologischen Besonderheiten immer weiter entwickelt, ist das der Mikroumgebung des Tumors. Jüngere Forschungsergebnisse legen nahe, dass weniger die Tumorzelle selbst als vielmehr die Zellen der extrazellulären Matrix in ihrer unmittelbaren Umgebung zu einer Tumorprogression führen.

Ma et al. konnten 2009 erneut bestätigen, dass sich die Genexpression von invasiven duktalem Karzinomen (IDC, aktuelle Bezeichnung: Carcinoma of no special type (NST)) im Vergleich zu der ihrer Vorstufe, der duktalem Carcinoma in situ (DCIS), nicht wesentlich verändert. Ergänzend fanden sie heraus, dass während der Progression von DCIS zu NST 76 Gene in Stromazellen hoch- und 229 herunterreguliert wurden.(14)

Dieses Ergebnis ist vereinbar mit der Forschung von Hu et al., die 2008 über die Rolle von Fibroblasten und Myoepithelzellen in der Progression vom DCIS zum IDC publizierten. Sie fanden heraus, dass normale Myoepithelzellen ein invasives Fortschreiten des Tumors unterdrücken und Fibroblasten unabhängig ihrer Herkunft aus Normal-, Tumor- oder rheumatisch erkranktem Gewebe eine Tumorprogression vorantreiben. Ein Verlust myoepithelialer Zellen ist assoziiert mit Invasivität. Vermutlich wird das Tumorgewebe vor allem parakrin von seiner Mikroumgebung beeinflusst. Vielversprechende Signalwege scheinen in diesem Zusammenhang über Transforming growth factor beta (TGF β), Hedgehog, Zelladhäsion und Tumorprotein p63 (p63) zu laufen. Ziel dieser Signalketten sind unter anderem Proteine und Rezeptoren der extrazellulären Matrix. Daraus resultieren positiv verstärkende Feedback-Loops. Es scheint außerdem naheliegend, dass die phenotypischen Veränderungen vor allem der Myoepithelzellen in einem Abbau der Basalmembran resultieren, wobei es sich möglicherweise um den ersten Schritt einer beginnenden Tumorinvasivität handelt.(15)

Signaltransduktionsketten, die bei Tumoren und ihrer Mikroumgebung gefunden bzw. vermutet werden, kommen auch bei der Wundheilung vor. Mutmaßlich trägt zusätzliche Inflammation auch zur Therapieresistenz mancher Tumore bei.(16) Schon Dvorak bezeichnete 1986 Tumore als nicht heilende Wunden (17). Ein Ansatz, dem heutzutage wieder verstärkt nachgegangen wird.

1.3 Klassifikation & Stadieneinteilung des Mammakarzinoms

1.3.1 TNM-Stadien

Die Ausbreitung der Tumorerkrankung des Brustgewebes kann wie die vieler anderer Tumorarten mithilfe einer klinischen und beziehungsweise oder pathologischen TNM-Klassifikation dokumentiert werden. Dabei bezieht sich der Zahlenwert für T auf die Größe des Primärtumors, der für N auf die Einbeziehung regionaler Lymphknoten und der für M gibt eventuell vorliegende Fernmetastasen an. Zuletzt wurde die TNM-Klassifikation für Brustkrebs 2002 überarbeitet und sowohl den neuen diagnostischen Möglichkeiten als auch dem aktuellen Forschungsstand angepasst.(18)

1.3.2 Grading

Zur Differenzierungseinstufung werden Tubulusbildung, Kernpolymorphie und Mitoserate histologisch semiquantitativ bewertet und jeweils ein bis drei Punkte vergeben. Daraus wird ein Summenscore von drei bis neun Punkten gebildet. Die Graduierung erfolgt nach Elston und Ellis, wobei zwischen einem geringen Malignitätsgrad bzw. einer guten Differenzierung (G1), einem mäßigen Malignitätsgrad mit ebensolcher Differenzierung (G2) und einem hohen Malignitätsgrad bei schlechter Differenzierung (G3) unterschieden wird.(19, 20)

1.3.3 Histologische Klassifikation

Die zuletzt 2012 revidierte Klassifikation der Mammakarzinome der World Health Organization (WHO) ist die Grundlage der diagnostischen Einordnung (21). Die histologische Einteilung der Brusttumore beruht auf ihrem morphologischen Phänotyp und stützt sich zusätzlich auf klinische, epidemiologische und/oder molekulare Merkmale.

Tumore der Brust werden laut WHO grob in invasiv und nicht invasiv unterteilt. Definitionsgemäß überwinden invasive Karzinome die Basalmembran und dringen in das umgebende Stroma ein. Die invasiven Tumoren lassen sich nochmals in nicht spezielle Typen (früher IDC) und spezielle Typen (Invasiv lobuläre Karzinome (ILC) als größte Untergruppe) unterscheiden. Der alte Terminus „duktales invasives Karzinom“ implizierte eine bisher unbewiesene Histogenese und suggeriert eine Homogenität, die bei dieser Gruppe nicht vorliegt. Außerdem sind DCIS auch Vorläufer für spezielle Tumortypen. Aus diesen Gründen wurde der Terminus „duktales“ verlassen und bei gleicher Definition in „NST“ umbenannt.

Darüber hinaus wird zwischen reinen und gemischten Typen unterschieden. Ein Tumortyp ist rein, wenn er zu mindestens 90% das jeweils charakteristische Muster eines speziellen Typs besitzt oder über 50% dem Tumortyp NST zugeordnet werden können.

NST sind der häufigste histologische Subtyp und machen bis zu 80% der invasiven Brusttumore aus. An zweiter Stelle steht das ILC mit etwa 10%. Auch bei den Carcinoma in situ sind duktales bzw. NST und lobuläre Tumortypen am häufigsten.(22)

1.3.4 Zusätzliche histologische Untersuchungen

Der technische Fortschritt hat auch die Klassifikation der Mammatumore beeinflusst. Neben der oben beschriebenen histomorphologischen Phänotypisierung ermöglichten immunhistochemische, molekulare und genetische Diagnostik weitere Charakterisierung der Tumorarten.

Der Grundstein für die molekulare Subtypisierung wurde 2013 auf der St. Gallen International Breast Cancer Conference gelegt. Die dort vorgeschlagene und sich nun etablierende Subtypisierung berücksichtigt den Hormonrezeptorstatus, die Expression des Human epidermal growth factor-receptor 2/neu (HER2/neu), sowie den Proliferationsindex und unterteilt die Mammatumore in Luminal A, Luminal B, HER-2-positiv und triple-negativ.(23)

Obgleich die Bestimmung des molekularen Subtyps von der aktuellen S3-Leitlinie nicht vorgeschrieben wird, müssen doch bei invasiven Mammakarzinomen zusätzlich Östrogen (ER)- und Progesteronrezeptor (PR)-, sowie HER2/neu-Status bestimmt werden. Weitere Zusatzuntersuchungen wie der Antigen Ki-67 (Ki-67)- beziehungsweise der Molecular immunology borstel-1 (Mib-1)-Proliferationsindex werden von der deutschen Leitlinie frei gestellt.(24) Diese Merkmale sind prognostisch bedeutsam und grundlegend für die Wahl des Therapieregimes (23, 25).

Amplifikation des HER2/neu-Gens mit konsekutiver Überexpression des HER2/neu-Proteins wird beispielsweise bei 20-30% aller invasiven Mammakarzinome beobachtet. Assoziiert ist diese Veränderung mit verstärktem Lymphknotenbefall und früheren Rezidiven, sowie kürzerem Überleben. (26) Zudem beeinflusst HER2/neu die Wirksamkeit der Chemotherapie (27). Dadurch rückte HER2/neu in den Fokus der Forschung zu monoklonaler Antikörpertherapie. Der zur Zeit auf dem Markt befindliche humanisierte monoklonale Antikörper Trastuzumab hat sich auch in den deutschen S3-Leitlinien zur Behandlung HER2/neu-positiver (immunhistochemischer Score 3+) Tumore ab einem Durchmesser von einschließlich einem Zentimeter etabliert.(24, 28, 29) Der Nutzen dieses Therapieregimes ist erwiesen (30).

1.4 Prognosefaktoren des Mammakarzinoms

Eine schlechtere Prognose ist assoziiert mit größeren Tumoren bzw. höherem T-Stadium, Lymphknotenbefall und höheren N-Stadien, sowie Fernmetastasierung

allgemein, den histologischen Typen ILC, typisch medullär und gemischt NST. Die schlechteste Prognose findet sich bei rein NST- und atypisch medullären Tumoren, höherem Grading, jüngeren Patienten, Lymphangioinvasion, höherer HER2/neu-Expression und einem höheren Proliferationsindex. Der Hormonrezeptorstatus hat nur für die ersten Jahre nach Diagnosestellung eine prognostische Relevanz. In diesem Zeitraum korrelieren niedrige Hormonrezeptorwerte mit einer schlechteren Prognose. Auf das Langezeitüberleben hat der Hormonrezeptorstatus keinen signifikanten Einfluss.(24, 31-33)

1.5 Früherkennung und Basisdiagnostik des Mammakarzinoms

Da das Alter für Frauen den größten unabhängigen Risikofaktor darstellt, fällt der altersgestaffelten Brustkrebsfrüherkennung eine besondere Bedeutung zu. In der Regel kommt die Mammographie als Standardverfahren sowohl im Screening als auch in der Diagnostik zum Einsatz, da sie im Vergleich zur körperlichen und sonographischen Untersuchung die höchste Sensitivität und diagnostische Genauigkeit bietet. Die Aussagekraft der Mammographie wird jedoch deutlich durch die Dichte des Drüsengewebes beeinflusst, wodurch sich die Sensitivität vor allem bei jungen Patientinnen vor der Involution von deutlich über 70% auf bis zu 40% reduziert. Hier rührt der Stellenwert der durch die Brustdrüsendichte unbeeinflussten Mammasonographie für junge Patientinnen her. Durch eine Kombination von Mammographie und Ultraschall kann die Sensitivität auf 97% gesteigert werden.(34)

Das MRT konnte zwar in mehreren Studien eine höhere Sensitivität und Spezifität als die Mammographie nachweisen, gleichwohl hat sich das MRT wegen seiner im Vergleich zur Mammographie hohen Falsch-Positiv-Rate und der Überschätzung von Befunden bei zugleich höheren Kosten nicht für Standarduntersuchungen durchgesetzt.(35-38)

Aufgrund dieser Studienlage kommt es zu einem gestaffelten Einsatz der Diagnostik. Ab einem Alter von 30 Jahren soll Frauen jährlich die klinische Brustuntersuchung und erst ab 50 das Mammographie-Screening angeboten werden. Bei auffälligen Befunden wird die Diagnostik durch bildgebende Maßnahmen und ggf. einen histologischen Nachweis komplettiert. Zudem soll jede Frau mit erwiesenen Risikofaktoren einem gesonderten und intensivierten

Brustkrebsfrüherkennungsprogramm unterzogen werden, welches alle vier Modalitäten umfasst.(8)

Bei symptomatischen und beziehungsweise oder in der Früherkennung auffällig gewordenen Befunden wird eine Basisdiagnostik eingeleitet. Der Ultraschall ist hierbei neben der klinischen Untersuchung bestehend aus Inspektion und Palpation von Brust und Lymphabflussgebieten, sowie der Mammographie ein Hauptpfeiler und wird als komplementäre Diagnostik bei unklaren Befunden, sowie bei Abweichungen zwischen Klinik und Mammographie oder bei symptomatischen Befunden hinzugezogen. Zur Diagnosesicherung soll vorzugsweise eine sonographisch gesteuerte Stanzbiopsie, wahlweise auch eine Vakuumbiopsie herangezogen werden. Eine chirurgische Probenentnahme muss erfolgen, wenn die Histologie nicht konkordant zum Befund der Bildgebung ist oder die Dignität der Läsion fraglich bleibt.(24, 31)

1.5.1 Ablauf der Ultraschalluntersuchung und Anfertigung des Befundes

Um den hohen Ansprüchen der Früherkennung und Basisdiagnostik genüge zu leisten, ist eine vergleichbare, das heißt systematische und reproduzierbare Untersuchung notwendig. Eine Standardisierung des Untersuchungsgangs, der zur Diagnose verwendeten Kriterien und der für den Befund genutzten Termini ermöglicht zum einen eine Verlaufsbeurteilung und schafft zum anderen eine Grundlage zur Qualitätssicherung.(24) Internationaler Beurteilungsstandard ist die *Breast Imaging-Reporting and Data System* (BI-RADS)-Klassifikation des *American College of Radiology* (ACR) (39, 40). Auf der vierten von aktuell fünf Auflagen dieser Klassifikation basieren auch die deutschen Kriterien zur einheitlichen Befunddokumentation im Brustultraschall der Arbeitsgruppe Mammasonographie der Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin (DEGUM) (41). Laut BI-RADS soll neben dem eigentlichen Herdbefund auch die Echotextur des Hintergrunds und neuerdings laut BI-RADS-V-Katalog auch die Elastizität beurteilt werden. Geringe Elastizität sind kongruent zu der schon gemäß BI-RADS-IV bewerteten, reduzierten Verschieblichkeit ein Hinweis für Malignität. Weitere, auf maligne Befunde hindeutende Merkmale sind laut DEGUM irreguläre Berandung, zur Hautoberfläche nicht parallele Achse der Läsion, Unschärfe der Kontur, komplexe Binnenstrukturen der Läsion, dorsale Schallabschwächung, gruppierter oder pleomorpher Mikrokalk, infiltratives Wachstum, welches in Form von Architekturzerstörung auffällig wird, verstärkte Durchblutung von Tumor und

beziehungsweise oder Randbereich, sowie suspekte Lymphknoten. Laut DEGUM ist auch ein echoreicher Randsaum um eine zumeist echoarme Läsion malignitätssuspekt. (42) Auch im BI-RADS-IV-Katalog wurde noch der Grenzbereich in abrupte Grenzflächen und echogenen Vorhof unterteilt. Aufgrund der als gering erachteten Spezifität des echogenen Vorhofs fand dieses Kriterium jedoch keinen Eingang mehr in den BI-RADS-V-Katalog (39, 40).

In Zusammenschau aller vorliegenden Untersuchungsergebnissen jeglicher Modalität erfolgt abschließend die Beurteilung nach ACR BI-RADS®. An diese Beurteilung knüpft sich das weitere Procedere (siehe Tabelle 1).(40)

Tabelle 1 : ACR-BIRADS®- Beurteilungskategorien für die Sonographie (40)

BI-RADS-Kategorie	Befund	Definition und Konsequenz
0	unvollständig	Weitere Bildgebung zur abschließenden Beurteilung erforderlich
1	unauffällig	Kein auffälliger Befund
2	gutartig	Kein auf Malignität verdächtiger Befund
3	wahrscheinlich gutartig	Befund, dessen Wahrscheinlichkeit, maligne zu sein, auf <2% geschätzt wird – kurzfristige Kontrolle empfohlen!
4	verdächtig	Befund, dessen Wahrscheinlichkeit, maligne zu sein, auf 3-94% geschätzt wird – Biopsie sollte erwogen werden!
5	hochverdächtig	Befund, dessen Wahrscheinlichkeit, maligne zu sein, auf >94% geschätzt wird - endgültige Behandlung indiziert!
6	gesichert maligne	Bereits durch Biopsie bestätigt

1.5.2 Entwicklung der Mammasonographie bis zur heutigen Befundung

Schon zu Beginn der Ultraschalldiagnostik in den 1950-er Jahren, als lediglich Darstellungen im A-Mode möglich waren, zeigten Pioniere wie Wild et al., dass sich normales Brustdrüsengewebe echographisch von Brustläsionen unterscheidet (43). Auch erste Möglichkeiten der Differenzierungen zwischen benignen und malignen Befunden wurden diskutiert und es gelang die erste Darstellung einer Brustläsion im zweidimensionalen Ultraschall (44, 45). Die Entwicklung einer Graustufenskala und damit des heutigen B-Bildes trieb weitere Forschung voran und führte zur Beschreibung von noch heute gültigen Dignitätsmerkmalen. Kossoff beschrieb beispielsweise 1974

eine Zyste als echofreie, umschriebene Läsion mit lateralem Randschatten, wohingegen sich ein szirrhöses Karzinom als echoarme, spikulierte und von einem hyperechogenen Randsaum umgebene Läsion darstelle. Allein anhand dieser Merkmale gelang Kossoff die sonographische Karzinomdiagnose in 85% der Fällen (46).

Jellins et al. hielten in ihrer Publikation 1975 eine erste Methodik zur Interpretation von Brustläsionen fest. Die Befundinterpretation erfolgte in Zusammenschau des Binnenechos, der Kontur, des dorsalen Schallverhaltens, der Form und Lage der Läsion, sowie einer Beurteilung des umgebenden Gewebes. Dabei seien homogene Binnenechos und eine glatte Kontur hinweisend auf benigne Läsionen und unscharfe und unregelmäßige Ränder auf maligne Läsionen. Für flüssigkeitsgefüllte Räume wie Zysten wurde eine dorsale Schallverstärkung beschrieben. Vor allem größere maligne Tumore verhielten sich wie normales Brustdrüsengewebe bezüglich des dorsalen Schallverhaltens. Gerade kleinere maligne Läsionen zeigten auch dorsalen Schallschatten. Eine ovaläre Form wurde vor allem bei benignen und teilweise bei malignen Befunden im Anfangsstadium beschrieben. Maligne Tumore nahmen sehr variable Formen an. Bezüglich des umgebenden Gewebes beschrieben Jellins et al. eine Tendenz zur Kapselbildung bei benignen Befunden und eine fibröse Umgebungsreaktion um Karzinome, die sich als hyperechogene Randzone darstelle.(47)

Alle diese Ergebnisse haben auch heute noch höchste Aktualität. Die hyperechogene Randzone wurde in den folgenden Jahren noch von vielen Forschern als Malignitätskriterium beschrieben. Kasumi et al. schlugen den Begriff „maligner Halo“ vor (48). Die Real-Time-Technik eröffnete in den 1980-er Jahren neue sonographische Möglichkeiten in Bezug auf die dynamische Beurteilung beispielsweise zur Evaluation von Elastizität, Verschieblichkeit oder Änderungen der Absorption bei Gewebekompression. Daraus ergaben sich neue Malignitätsmerkmale wie fehlende Deformierbarkeit, fehlende Verschieblichkeit bzw. Fixation, sowie auch unter Kompression nachweisbarer Schallschatten.(49) Das Doppler-Verfahren half bei der Visualisierung der verstärkten Vaskularisierung von Tumoren und deren Randbereichen (41). Durch die Möglichkeit der Elastographie gewann die Elastizität an Bedeutung für die Differenzierung maligner und benigner Läsionen und wurde zuletzt sogar in den aktuellen BI-RADS-US-V-Katalog aufgenommen (39, 50, 51). Neue 3D-

Ultraschalltechniken versprechen die Diagnostik hinsichtlich der Erkennung von Retraktionsmustern bei malignen und Kompressionsmustern bei benignen Tumoren zu erleichtern (41).

So sind mit dem technischen Fortschritt die Dignitätsmerkmale erweitert und weiter spezifiziert worden. Von den ursprünglichen Dignitätsmerkmalen sind bis auf die hyperechogene Randzone auch in der aktuellen, fünften Auflage des BI-RADS-US-Katalogs noch alle Kategorien enthalten. *Lesion boundary*, also die Beschreibung des Grenzbereichs, ist in der neuen Auflage aus dem Katalog genommen worden, weil eine hyperechogene Übergangszone sowohl bei malignen Befunden als auch bei Abszessen beschrieben wurde und das Fehlen einer solchen Zone derart häufig aufträte, dass es einer diagnostischen Signifikanz entbehre (52). Demgegenüber stehen die Jahrzehnte lang beschriebenen Randzonenverhalten um maligne Raumforderungen (46-49) und Forschungen wie Marquet et al., die 2002 zeigten, dass es sich bei dem Halophänomen um das wichtigste Malignitätskriterium handelt (53), was unter anderem auf seiner geringen Interobservervariabilität beruht (54, 55). Auch mittels neuer, sonographischer Techniken wie der akustischen Strukturquantifizierung (ASQ) lässt sich eine deutliche Randzone um maligne Tumore darstellen. Gerade, wo aktuelle Forschung darauf hinweist, dass Veränderungen in der Mikroumgebung von Mammatumoren maßgeblich an der Tumorprogression beteiligt sind (14-17) scheint es nicht abwegig, dass die moderne Bildgebung neben der bekannten Ödembildung um maligne, schnell wachsende Läsionen auch die strukturelle Differenz, die durch die veränderte Mikroumgebung entsteht, erfassen könnte. Die bisher verwendete B-Bild-Sonographie könnte hier durch die vielen Bildoptimierungsverfahren gerade Nuancen als Bildrauschen fehl deuten und übersehen. Die Verwendung von Ultraschallrohdaten, wie etwa bei der Verwendung des ASQ-Programms, scheint hier eine adäquate Möglichkeit zu bieten, den bisher hauptsächlich molekular bekannten Veränderungen der Mikroumgebung ein makroskopisches, bildgebendes und dadurch leicht diagnostisch erfassbares Korrelat zu geben. Gerade das Halophänomen könnte eine Brücke zwischen Grundlagenforschung bezüglich der Entartung von Brustgewebe und der bildgebenden Diagnostik von Brustkrebs schlagen und dadurch nicht zuletzt die Früherkennung bereichern.

2 Fragestellung

Der in der B-Bild-Sonographie nachweisbare, weitgehend gleichmäßig hyperechogene und flächige Randsaum um Herdläsionen, der oft als Zeichen der Umgebungsreaktion bei malignen Befunden beschrieben wurde (43, 46, 56), weist eine geringe Interobservervariabilität auf (54, 55) und zählt damit auch heute nachgewiesenermaßen zu den wichtigsten Malignitätskriterien (53). Dennoch wird der hyperechogene Randsaum im aktuellen BI-RADS-US-V-Katalog nicht mehr als eigenständiges Kriterium geführt (39). Diese Entwicklung scheint weder dem wissenschaftlich nachgewiesenen Stellenwert des hyperechogenen Halos noch seinem Potential für die Erforschung der Tumorentstehung angemessen. Wir wollten deswegen das Halokriterium mit der verbesserten, heute zur Verfügung stehenden Ultraschalltechnologie erneut untersuchen. Bei der akustischen Strukturquantifizierung von Rohdaten im neuen ASQ-Programm fiel die farbkodierte Darstellung eines homogenen Areals auf, welches an die hyperechogene Zone im B-Bild erinnerte. Wir postulierten,

1. dass die homogene perifokale Zone in ASQ ein Korrelat der hyperechogenen Zone im B-Bild sei und
2. dass aufgrund der Farbkodierung eine genauere Quantifizierung mittels Pixelzählung möglich sei und konsekutiv
3. eine erneute Exploration möglicher Korrelationen dieses in beiden Methoden bestimmten Halo-Tumor-Verhältnisses mit den prognostischen Markern Tumorgroße, T-Stadium, N-Stadium, Patientenalter, Tumorart, Grading, Proliferationsindex und ER-, PR- und HER2/neu-Rezeptor-Besatz notwendig sei, dabei v.a.
4. der Nachweis einer Korrelation mit einer histologisch nachgewiesenen Lymphangiainvasion als ersten Schritt zur Invasivität und letztlich
5. dass die Verwendung des ASQ-Verfahrens durch eine bessere Darstellung der perifokalen Zone gerade Ungeschulten die Bewertung mammasonographischer Läsionen erleichtere.

3 Methodik

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine klinische Studie mit sekundärer Datenanalyse. Das Vorhaben wurde gemäß §25 des Landeskrankenhausgesetzes (LKG) Berlin geprüft und unter der Kontrollnummer 731-16 für zulässig erklärt.

3.1 Beschreibung des Zentrums der Datenaquirierung

Tabelle 2 : Ein- und Ausschlusskriterien der Studie

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> - Maligner Tumor der Brustdrüse - Herdläsion und Halo sonographisch in ASQ und B-Bild gut darstellbar - in B-Bild-Modus und in ASQ dargestellt - mindestens ein histologischer Befund (Stanze oder Entnahmepräparat) inklusive immunhistochemischer Charakterisierung vollständig vorliegend - Einverständnis der Patientin 	<ul style="list-style-type: none"> - Zustand nach Therapie (yTNM)

Die Charité verfügt über ein zertifiziertes Brustzentrum, das einen multidisziplinären Versorgungsansatz verfolgt. Hier kommt die Mammasonographie leitliniengerecht in Früherkennung und Diagnostik zum Einsatz und Befunde werden durch Ultraschall-gestützte Stanzbiopsien gesichert. In der Abteilung für Sonographie im Institut für Radiologie der Charité Campus Mitte werden solche standardisierten Untersuchungen zur Abklärung eines Brusttumors regelmäßig von geschultem Fachpersonal durchgeführt. Die sonographischen Rohdaten werden zunächst auf der *Hard Disk Drive (HDD)*-Festplatte des Ultraschallsystems gespeichert und simultan dem

Patientendatenmanagementsystem im Format nach *Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM-Format)* zugeführt. Eine histologische Beurteilung des stanzbioptisch gewonnenen Materials erfolgt durch das Institut für Pathologie der Charité Campus Mitte. Aus den Unterlagen des Patientenkollektivs dieser senologischen Spezialsprechstunde haben wir für den Zeitraum vom 01.06.2011 bis zum 08.05.2014 nach Evaluation der in Tabelle 2 gelisteten Ein- und Ausschlusskriterien Patientinnen für unsere Studie bezogen. Es wurden die letzten 50 Patientinnen in die Studie eingeschlossen, bei denen eine vollständige Rohdatenanalyse möglich war und keine Filtertechnik zur Speicherung des B-Bildes genutzt wurde.

3.1.1 Klinische Daten der Patienten

Die Rohdaten wurden retrospektiv dem *Radiologieinformationssystem (RIS)* beziehungsweise dem *Picture Archiving and Communication System (PACS)*, welche von der *Aktiengesellschaft SAP (SAP AG)* vertrieben werden, entnommen. Folgende Daten wurden für die Studie in einer selbst erstellten Datenbank gespeichert: Name, Geburtstag, Patientenalter zum Untersuchungszeitpunkt und Zeitpunkt der Ultraschalluntersuchung, Größe des Tumors, Größe des Halos und daraus errechnete Parameter, Lokalisation und Dignität des Befundes, TNM-Stadium, Differenzierungsgrad, histologischer Rezeptorbesatz und Wachstumsfraktion der Läsion, sowie begleitende Lymphinvasion und zusätzliches Carcinoma in situ. Sowohl der histologische Befundbericht der Stanzuntersuchung als auch der Exzisionsbiopsie bzw. des Resektats wurden in unsere Datentabelle eingepflegt. Befunde aus den Stanzbiopsien fanden in der statistischen Auswertung unserer Studie nur Verwendung, wenn keine chirurgische Probenentnahme erfolgt war.

3.1.2 Untersuchungsgang

Die sonographische Untersuchung wurde an einem high-end Ultraschallgerät (Aplio XG und 500 der Firma Toshiba, Toshiba Medical Systems GmbH, Otawara, Japan, mittlerweile zu Canon, Canon Medical Systems GmbH, Tokio, Japan, gehörend) mit einem 5cm langem Linear-Breitbandschallkopf je nach Tiefe der Brustläsion und Brustvolumen mit 9 bis 14 Megahertz (MHz) durchgeführt. Die unterschiedlichen

verwendeten Presets zur Verbesserung der Bildqualität, namentlich räumliches (*spatial*) *Compounding*, frequenzbasiertes *Compounding*, differenzierte harmonische Bildgebung und der gesonderte Schallfilteralgorithmus „*Precision Imaging*“ © werden in einem späteren Abschnitt näher erläutert.

Der Untersucher war ein Facharzt für diagnostische Radiologie mit mehrjähriger Erfahrung im Bereich der Mammasonographie und *DEGUM* Stufe 2 Zertifikat in der Mammasonographie sowie Stufe 3 Zertifikat in der Radiologie. Die Untersuchung erfolgte in Rückenlage mit elevierten Armen und im Nacken verschränkten Händen. Bei Bedarf erfolgte die Untersuchung in alternierender Halbseitenlage oder mit Unterlegung der zu untersuchenden Brust. Der Schallkopf wurde mit leichtem Kopplungsdruck senkrecht zur Brustoberfläche geführt. Es wurde auf eine gleichmäßige Fokussierung zwischen Kutis und Faszie geachtet und ein Mehrfachfokus verwendet. Zur Bildoptimierung wurden räumliches *Compounding*, frequenzbasiertes *Compounding*, *ApliPure*[™] Stufe 5-7, *differential Tissue Harmonic Imaging (dTHI)*© und *Precision Imaging*© mit einer *Speckle Reduction (SR)* der Stufe 4-5 verwendet. *ApliPure*[™] ist ein von der Toshiba Medical Systems GmbH entwickeltes und nun von Canon Medical Systems GmbH weiter vermarktetes Preset, das sowohl die Resultate frequenzbasierten als auch räumlichen *Compoundings* verwendet. (57) Das früher von Toshiba Medical System GmbH und aktuell von Canon Medical Systems GmbH vermarktete *differential Tissue Harmonic Imaging (dTHI)*© appliziert einen aus zwei Frequenzen bestehenden Impuls auf das Gewebe und der Schallkopf empfängt die niedrigeren Frequenzanteile, das heißt die Differenz der ursprünglichen Frequenzen, und die harmonische Welle der ersten Frequenz und nutzt diese zur Bildverarbeitung. Diese Technik ist nachgewiesenermaßen dem unbearbeitetem B-Bild und üblicher, harmonischer Bildgebung überlegen.(58) Bei SR wird ein Schallfilteralgorithmus verwendet, der nach einer Kontextbewertung als Rauschen gewertete Pixel unterdrückt. So erfolgte ein standardisierter Untersuchungsgang, bei dem je nach Fragestellung beide Mammæ und dazugehörigen Axillæ systematisch und reproduzierbar untersucht wurden. Die Dokumentation von Herdbefunden erfolgte unter Angabe der Lokalisation (Brustseite und Quadrant) in zwei senkrecht zueinander stehenden Ebenen, wovon eine den größten Tumordurchmesser abbildete, und unter Angabe der Befundgröße (Durchmesser in allen drei Ebenen). Zusätzlich wurden Aufzeichnungen der Herdbefunde in weiteren Modi wie etwa ASQ und Elastographie angefertigt.

Gegebenenfalls erfolgte eine mammasonographisch kontrollierte, stanziobiotische Entnahme einer Gewebeprobe zur weiteren histologischen Diagnostik. Das Gesamtergebnis der Untersuchung wurde in einem bebilderten Befundbericht festgehalten.

3.2 Acoustic Structure Quantification (ASQ)

Acoustic Structure Quantification (ASQ) ist ein von Toshiba Medical System GmbH (zwischenzeitlich übernommen von Canon Medical Systems GmbH) vermarktetes Programm, das seinen Ursprung in Bemühungen zur non-invasiven Bestimmung von Leberzirrhose und –fibrose hat. Die zugrundeliegenden physikalischen und statistischen Prinzipien sind detailliert in anderen Arbeiten beschrieben.(59-61) Im Folgenden soll das grundlegende Prinzip erläutert werden.

Der Untersucher legt eine oder mehrere sogenannte „primäre“ Region of Interest (ROI) in die Struktur, deren Eigenschaften gemessen werden sollen. Dadurch kann zum Beispiel vermieden werden, dass große Gefäße die Werte verfälschen. Das Programm selbst legt jetzt in die primäre ROI „sekundäre“ ROIs, deren Durchmesser meist über dem doppelten des Auflösungslimits des Ultraschallgeräts liegen. Die Reflexion jedes einzelnen sekundären ROIs wird nun herangezogen, um

- a) einen geschätzten Normalwert (eine Rayleigh-Verteilung vorausgesetzt) zu ermitteln und
- b) mittels eines modifizierten Chi-Quadrat-Tests die Abweichung der Reflexionen von diesem angenommenen Normalwert anzugeben (C^2_m).

ASQ nutzt für diese Berechnungen nicht die komprimierten, sondern die Rohdaten. Das Ergebnis kann man als Einzelwert C^2_m , als Verteilungskurve oder farbkodiert im Ultraschallbild ablesen (vergleiche Abbildung 1) (62).

In unserer Arbeit fand die Darstellung in Form eines parametrischen Bildes Anwendung. Beim parametrischen ASQ wird für jeden Voxel die Abweichung vom Erwartungswert, eine Rayleigh-Verteilung vorausgesetzt, in Sigmas angegeben und visuell durch unterschiedliche Farbgebung dargestellt. Dadurch ist es möglich, die Homogenität von Strukturen im farbkodierten, parametrischen ASQ-Bild abzulesen. Bei unserer Studie war den Standardeinstellungen entsprechend die Farbe Blau homogenen Strukturen und Rot inhomogenen Strukturen zugeordnet.

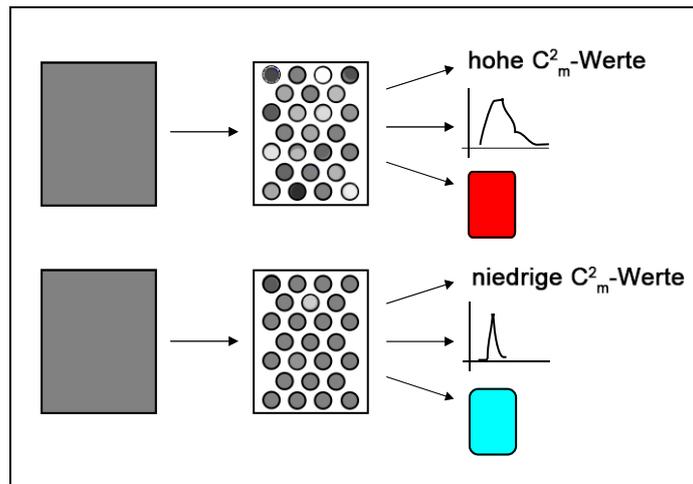


Abbildung 1: Schematische Darstellung des bei ASQ verwendeten Prinzips und der Ausgabemodi.

Links zeigt sich die vom Untersucher gewählte primäre ROI im B-Bild – für beide Beispiele wurde hier ein homogener erscheinender Bereich ähnlicher Echogenität gewählt. In der Mitte wird schematisch die Aufteilung der primären ROI in sekundäre ROIs durch das Programm dargestellt. Bei den sekundären ROIs zeigen sich sehr wohl Unterschiede in der Echogenität der einzelnen Teilbereiche – das obige Beispiel ist inhomogen, das untere homogen. Die statistische Abweichung der sekundären ROIs von Rayleigh-verteilter Streuung durch Normalgewebe wird berechnet und schließlich die Homogenität des vom Untersucher markierten Areals in einem der drei rechts abgebildeten Ausgabemodi dargestellt. Als Ausgabemodi stehen der C^2_m -Wert, eine Verteilungskurve und das farbkodierte, parametrische Bild (von oben nach unten) zur Verfügung. Statt einer gewählten ROI ist es auch möglich, das gesamte Bild in ASQ darstellen zu lassen.

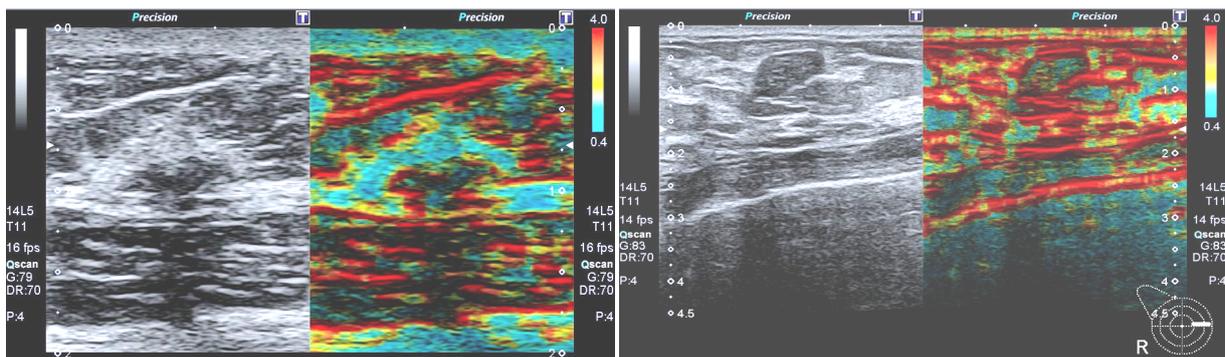


Abbildung 2: Bildbeispiele von Raumforderungen in ASQ. (in Anlehnung an Bach/Hameister voraussichtlich 2019 (63))

Links: Bildbeispiel einer malignen Raumforderung (invasiv lobuläres Mammakarzinom) mit hyperechogener, perifokaler Zone im B-Bild und blauer perifokaler Zone im ASQ-Bild. Rechts: Bildbeispiel einer benignen Raumforderung (Fibroadenom) ohne perifokale Zone in B-Bild oder ASQ-Bild.

3.3 Bestimmung der Größe von Tumor und perifokaler Zone

Im ASQ-Bild kommt eine blaue, perifokale Zone um maligne Läsionen zur Darstellung, die in ihrer Ausdehnung visuell an den hyperechogenen Randsaum im B-Bild erinnert und die um benigne Läsionen nicht zur Darstellung kommt (siehe Abbildung 2). Zur Bestimmung der jeweiligen Flächenausdehnung wurde das Java-basierte, gemeinfreie und als Freeware-erhältliche Bildbearbeitungs- und Bildverarbeitungsprogramm ImageJ in seiner Version 1.48 verwendet (64). Das Programm wurde vom ehemaligen Mitarbeiter des Amerikanischen National Institutes of Health (NIH) Wayne Rasband 1997 in Bethesda, Maryland, USA, entwickelt, seitdem stetig überarbeitet und findet breite Anwendung bei der wissenschaftlichen und besonders medizinischen Bildanalyse. Vor allem wurde es bisher in der Vermessung von Strukturen in Mikroskopaufnahmen verwendet. In unserer Studie kam es zur genauen Bemessung der Halo- und Tumorflächen in den sonographischen Abbildungen des ASQ- und B-Bildes zur Anwendung.

Im B-Bild wurde mit dem ROI-Freihandwerkzeug zunächst perifokale Zone und dann Tumor umrandet und mit der Befehlskette „*analyze – measures*“ die Fläche bestimmt. Die Flächenausdehnung der hyperechogenen Zone erhielten wir durch Subtraktion der Tumorfläche von der Gesamtfläche, die wir durch die Umrandung der perifokalen Zone erhielten (vergleiche Abbildung 3).

Für das ASQ-Bild wurde lediglich eine ROI außen um den Halo gelegt. Die ROI mit der Gesamtfläche aus Halo und Tumor wurde als neues Image geöffnet. Danach wurde der Bildkanal gesplittet und für den Blauanteil die Thresholds auf 50 und 249 gestellt, sodass dieser Farbbereich und damit der Haloanteil schwarz und alle übrigen Bereiche, durch die ROI-Auswahl hauptsächlich der Tumorgröße entsprechend, weiß dargestellt wurden (vergleiche Abbildung 4). Auf dieses Schwarz-Weiß-Bild des blauen Kanals wurde der Befehl „*analyze – particles*“ angewandt. Geliefert wurde als Ergebnis unter anderem das Flächenausmaß des Randsaums und sein prozentualer Anteil an der ROI. Mit dem Prozentwert und der Halofläche ließ sich die Gesamtfläche errechnen, von der wiederum die Halofläche zum Erhalt der Tumorfläche subtrahiert wurde.

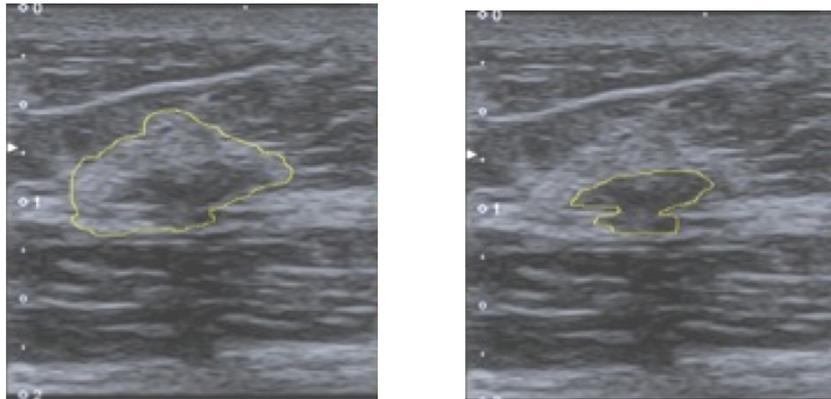


Abbildung 3: Vermessung im B-Bild in ImageJ.

Maligne Raumforderung. Links: Auswahl mittels ROI-Freihandwerkzeug um die hyperechogene perifokale Zone, um mit der Befehlskette „analyze – measures“ die Gesamtfläche in Pixel zu erhalten. Rechts: Auswahl mittels ROI-Freihandwerkzeug um die Tumorflechte ebenfalls für die anschließende Pixelzählung. Im nächsten Schritt wird die Tumorflechte von der Gesamtfläche subtrahiert, um die Halofläche zu erhalten. Abschließend wird die Halofläche zur Tumorflechte ins Verhältnis gesetzt, um die Halo-Tumor-Ratio zu erhalten und so methodischen Bias zu reduzieren.

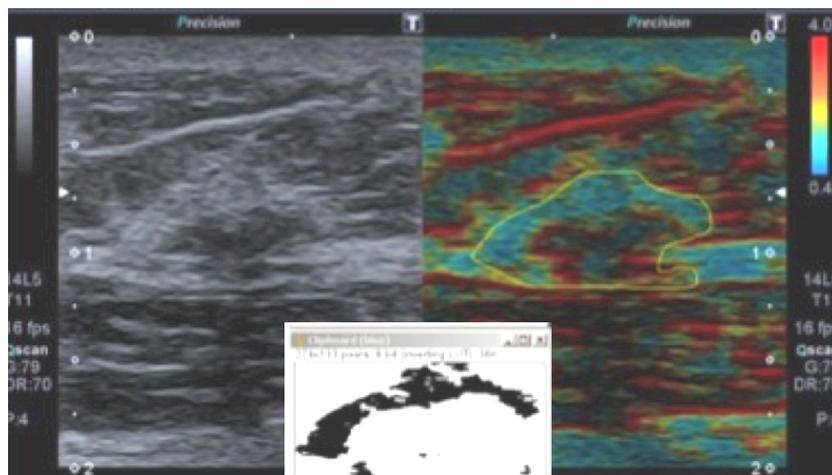


Abbildung 4: Vermessung im ASQ-Bild in ImageJ.

Maligne Raumforderung. Rechts: Auswahl mittels ROI-Freihandwerkzeug um die hyperechogene perifokale Zone. Unten: Schwarz-Weiß-Bild resultierend aus dem blauen Kanal, wenn die Blautöne mit Threshold 50 bis 249 in schwarze Pixel umgewandelt wurden. Durch den Befehl „analyze – particles“ erhält man den absoluten Anteil der blauen Fläche und damit des homogenen Randsaums an der ROI, welche der Gesamtfläche aus Tumor und Halo entspricht. Mit der ebenfalls erhaltenen relativen Größe des Blauanteils in Bezug zur ROI lässt sich die Gesamtfläche errechnen. Durch Subtraktion der Halofläche von der Gesamtfläche erhalten wir die Tumorflechte, um abschließend die Halofläche zur Tumorflechte ins Verhältnis zu setzen und so die Halo-Tumor-Ratio zu erhalten und den methodischen Bias zu reduzieren.

3.4 Histopathologischer Befund

Die histopathologische Aufbereitung und Beurteilung der Stanz- und Mammotomie-Biospien erfolgte S3-leitliniengerecht (24). Nach makroskopischer Beurteilung und Aufarbeitung erfolgte eine HE-Färbung des Präparats. Es wurde eine B-Klassifikation entsprechend der National Coordinating Group for Breast Screening Pathology (NHSBSP) ausgesprochen und sowohl Typisierung als auch *Grading* nach WHO vorgenommen. Bei duktalem Carcinoma in situ und invasiven Tumoren folgte eine immunhistologische, semiquantitative Bestimmung des Rezeptorstatus (Östrogenrezeptor, Testosteronrezeptor und HER2-neu) und des Proliferationsmarkers Ki-67 mittels MIB-1-Antikörpers. Diese histopathologischen Parameter wurden im Patientendatenmanagementsystem bzw. im klinischen Informationssystem gespeichert, dort von uns ermittelt und in unsere Datentabelle aufgenommen.

3.5 Studentenbefragung zum Methodenvergleich

Um zu erfassen, ob die Darstellung des im B-Bild hyperechogenen Randsaums als blau gefärbter Halo im ASQ-Bild eindeutiger sei und konsekutiv eine Diagnose auch ungeschulten Untersuchern leichter falle, befragten wir Medizinstudenten nach ihrem Zweiten Staatsexamen. Zur Vorbereitung wurde eine kurze Powerpointpräsentation gezeigt, welche die Studenten in die Klassifikation mittels BI-RADS einführte, Malignitätskriterien wiederholte und das ASQ-Verfahren vorstellte. Beispielhaft folgten ein maligner und ein benigner Befund, jeweils im B-Bild und im ASQ-Modus dargestellt. Darauf wurden den Studenten geblindet und ohne weitere, klinische Angaben siebzehn Bilder, jeweils neun maligne und acht benigne Befunde, gezeigt. Die Studenten sollten dem Bild jeweils eine BI-RADS-Kategorie von II bis V zuordnen, die Halosichtbarkeit auf einer Skala von null bis drei einschätzen, wobei null „nicht sichtbar“ und drei „sehr gut sichtbar“ entsprach, und abschließend ihre Sicherheit bei der Diagnose auf einer Skala von null bis zehn angeben, bei der null „unsicher“ und zehn „ohne Zweifel“ bedeutete. Da die Teilnehmer anonym blieben und keinerlei persönliche Daten erfasst wurden, war ein Datenschutzvotum nicht notwendig. Die Studenten erklärten sich einverstanden, dass ihre Fragebögen einer statistischen Auswertung unterzogen und die resultierenden Ergebnisse publiziert würden.

3.6 Datenanalyse

Für die statistische Analyse wurden die Flächenmaße der perifokalen Zone und des Tumors jeweils für ASQ- und B-Bild zueinander in Verhältnis gesetzt, um einen systematischen Bias durch Verwendung unterschiedlicher Algorithmen zur Flächenbestimmung gering zu halten. Für die folgende, statistische Auswertung wurde ein Statistiker hinzugezogen.

Im Zuge der Bewertung des neu angewandten ASQ-Verfahrens stellten wir die Ratios aus B- und ASQ-Bild in einem Bland-Altman-Diagramm dar. Es wurde der Zusammenhang zwischen dem ASQ-Verfahren und dem B-Bild mittels Pearsons linearer Regression analysiert. Dabei setzten wir die Halo-Tumor-Ratios aus dem B-Bild als unabhängige Variable, da es sich um das etablierte Verfahren handelte, und die Ratios aus dem ASQ-Bild als zu beurteilendes neues Verfahren als abhängige Variable. Gemäß Cohen nahmen wir an, dass $r = .1$ einen kleinen Effekt, $r = .3$ einen mittleren Effekt und $r = .5$ einen starken Effekt indiziert. Das hieß für R^2 entsprechend, dass $R^2 = .01$ einen kleinen Effekt, $R^2 = .09$ einen mittleren und $R^2 = .25$ einen starken Effekt bedeute. (65)

Wir führten eine ANOVA-Analyse durch, um eventuelle Zusammenhänge zwischen den Halo-Tumor-Ratios aus B- und ASQ- Bild und den Prognosefaktoren T-Stadium, Tumorgröße, N-Stadium, Lymphangiainvasion, HER2/neu-Expression, ER- und PR-Besatz, dem Proliferationsmarker MIB-1, der Tumorart oder dem Alter zu identifizieren. Für Lymphangiainvasion und zusätzlich für jegliche signifikante Werte sollte außerdem eine Chi-Quadrat-Testung und eine Hypothesentestung mittels Mann-Whitney-U erfolgen, um eine Gleichverteilung der Halo-Tumor-Ratio-Größen in den Untergruppen genauer zu prüfen, sowie eine Berechnung der *Area Under the Curve* (AUC) der *Receiver Operating Curve* (ROC) durchgeführt werden, um die Vorhersagbarkeit des Prognosemarkers durch die Ratiogröße zu validieren. Um eine Chi-Quadrat-Testung zu ermöglichen, legten wir jeweils Cut-Off-Werte fest. Für optimale Cut-Off-Werte ermittelten wir im Überlappungsbereich denjenigen Wert, dessen Mittelwert (M) für die Summe aus Sensitivität und Spezifität maximal war.

Ein weiterer Methodenvergleich erfolgte durch die Auswertung der Fragebögen. Dabei nutzten wir für die Statistik ein vereinfachtes Modell, in dem wir nicht zwischen den Studenten differenzierten, sondern lediglich die Gesamtheit der beurteilten Bilder betrachteten und auf dieser Grundlage die Spezifität und Sensitivität der

Dignitätsbeurteilungen in B- und ASQ-Bild, sowie positive und negative prädiktive Werte ermittelten. Außerdem verglichen wir die Verteilung der Antworten bezüglich Halosichtbarkeit und Diagnosesicherheit in einem Wilcoxon-Test. Die Halosichtbarkeit unterzogen wir darüber hinaus einer ANOVA-Analyse, um zu zeigen, dass es sich hierbei um ein Malignitätskriterium handle. Mittels Wilcoxon-Mann-Whitney-Test untersuchten wir, ob die Halosichtbarkeit nur bei malignen Raumforderungen für ein Verfahren besser und bei benignen Raumforderungen für beide Verfahren gleich und annähernd null sei, da hier kein Halo sichtbar sein sollte. Auch eine Validitätsprüfung mittels *AUC* der *ROC*-Kurven erfolgte für Halosichtbarkeit und Diagnosesicherheit für beide Verfahren.

Wir verwendeten IBM SPSS Statistics für Microsoft Windows, Version 19.0.0.1, beziehungsweise IBM SPSS Statistics für Macintosh, Version 23.0, und ergänzend Microsoft® Excel® 2008 für Macintosh, Version 12.3.6, für die deskriptive und statistische Auswertung. Als signifikant wurden alle Ergebnisse mit einem *p*-Wert $< .05$ gewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Charakterisierung der Studienpopulation

In einem Untersuchungszeitraum vom 24.03.2011 bis zum 06.05.2014 fanden sich 61 Patientinnen mit einer guten Darstellung von Tumor und Halo im ASQ-Bild. Aufgrund fehlender histologischer Befunde oder korrelierender B-Bilder, mussten 21 Patientinnen ausgeschlossen werden. Drei weitere Patientinnen wurden für die Korrelation mit den histologischen Parametern ausgeschlossen, weil die histopathologische Untersuchung erst nach neoadjuvanter Therapie erfolgt war, sodass die Studienpopulation letztendlich 37 Patientinnen umfasste (63).

Die jüngste eingeschlossene Patientin war 34 Jahre alt, die älteste 87 Jahre. Das Durchschnittsalter der Studienpopulation betrug 59.49 ± 14.45 Jahre. Insgesamt gab es 29 NST-Karzinome und sieben ILC, sowie einen Befund, der zum Einschlusszeitpunkt lediglich als maligne klassifiziert war. Bei dreizehn Patientinnen waren uns weder histologische TNM-Klassifikation noch histologisches *Grading* bekannt, da lediglich ein Stanzbefund vorlag. Von den Patientinnen, die eine pTNM-Klassifikation erhielten, wurden vierzehn als T1, neun als T2 und einer als T3 klassifiziert. Von diesen Tumoren hatten vier ein N1-Stadium, drei ein N2-Stadium, eine ein N3-Stadium und zwölf keinen Lymphknotenbefall. Zu vier Patientinnen lag uns lediglich ein T-Stadium vor. Im histologischen Grading der Tumore wurden zwei als G1, fünfzehn als G2, und sieben als G3 eingestuft. Eine Lymphangioinvasion konnte bei fünf Patientinnen nachgewiesen werden.

Eine immunhistochemische Bestimmung lag unabhängig vom Untersuchungsmaterial zu allen 37 Patientinnen vor. 22 Patientinnen wiesen eine geringe, vier eine mittelgradige und vier eine hochgradige HER2/neu-Expression auf. Bei zwei Läsionen war keine HER2/neu-Expression nachweisbar, bei fünf Patientinnen fehlte eine HER2/neu-Bestimmung. Die Verteilung der Proliferationsindices sind in Abbildung 5 dargestellt.

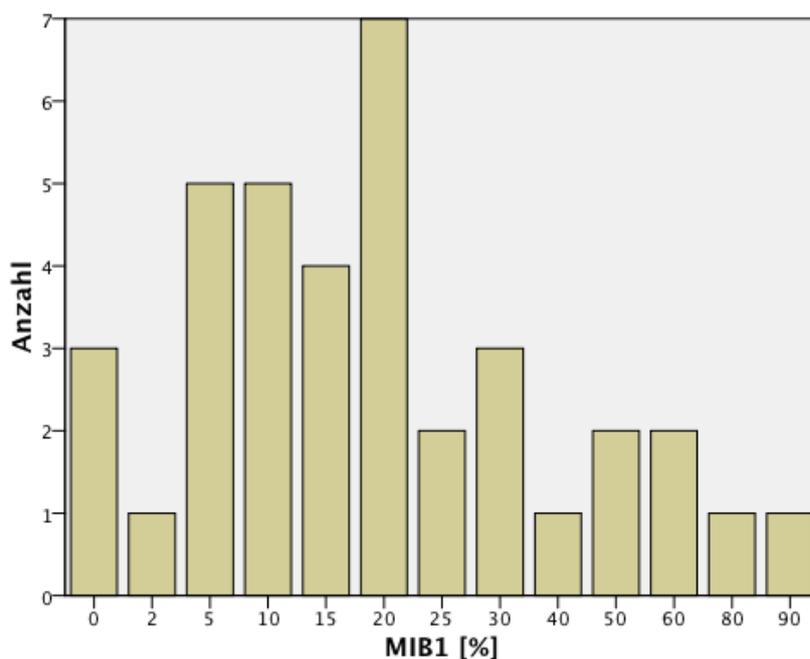


Abbildung 5: Verteilung der Proliferationsindices in der Studienkohorte

Bei Zwanzig Patientinnen hatten 100% der Zellen ER-Besatz, fünf Patientinnen 90% und zwei Patientinnen 80% ER-Besatz. Bei zehn Patientinnen konnte in der Histologie kein ER nachgewiesen werden. Bei sieben Patientinnen exprimierten die Tumorzellen zu 100% PR, bei vier zu 80%, bei drei zu 60% und bei vierzehn Patientinnen wurden keine PR gefunden. Die übrigen Patientinnen wiesen einen PR-Besatz von unter 50% auf.

Ein histologischer Summenscore war bei 35 Patientinnen bekannt. Zwei Mal fand sich ein Summenscore von vier, sechzehn Mal ein Score von sechs, drei Mal von sieben, zehn Mal von acht und vier Mal wurde ein Summenscore von neun vergeben. Bei 24 Patientinnen lag uns der maximale Durchmesser des Tumors aus dem OP-Präparat vor. Der kleinste Tumor hatte 9mm Durchmesser, der größte 68mm. Der Mittelwert (M) der Durchmesser lag bei 23.08mm (Standardabweichung (SD) = 14.04mm).

In den Abbildungen 6, 7, 8 und 9 sind die jeweiligen Größen der Tumoren und die Fläche ihrer Halos, sowohl im B-Bild als auch in ASQ, sowie ihr Verhältnis zueinander dargestellt. Bei direkter Gegenüberstellung der Werte fiel auf, dass die Messungen der Tumorfläche in ASQ immer größer ausfielen als im B-Bild, während die

Halofläche in ASQ immer kleiner als die Tumorfläche im ASQ-Verfahren, aber auch kleiner als die Halofläche im B-Bild war. Im B-Bild war die Halofläche meist größer als die ausgemessene Tumorfläche. So ergaben sich, bis auf zwei Ausnahmen, für das B-Bild Halo-Tumor-Ratios größer eins, während die Ratios aus dem ASQ-Verfahren immer kleiner eins waren. Es lag ein systematischer Fehler vor.

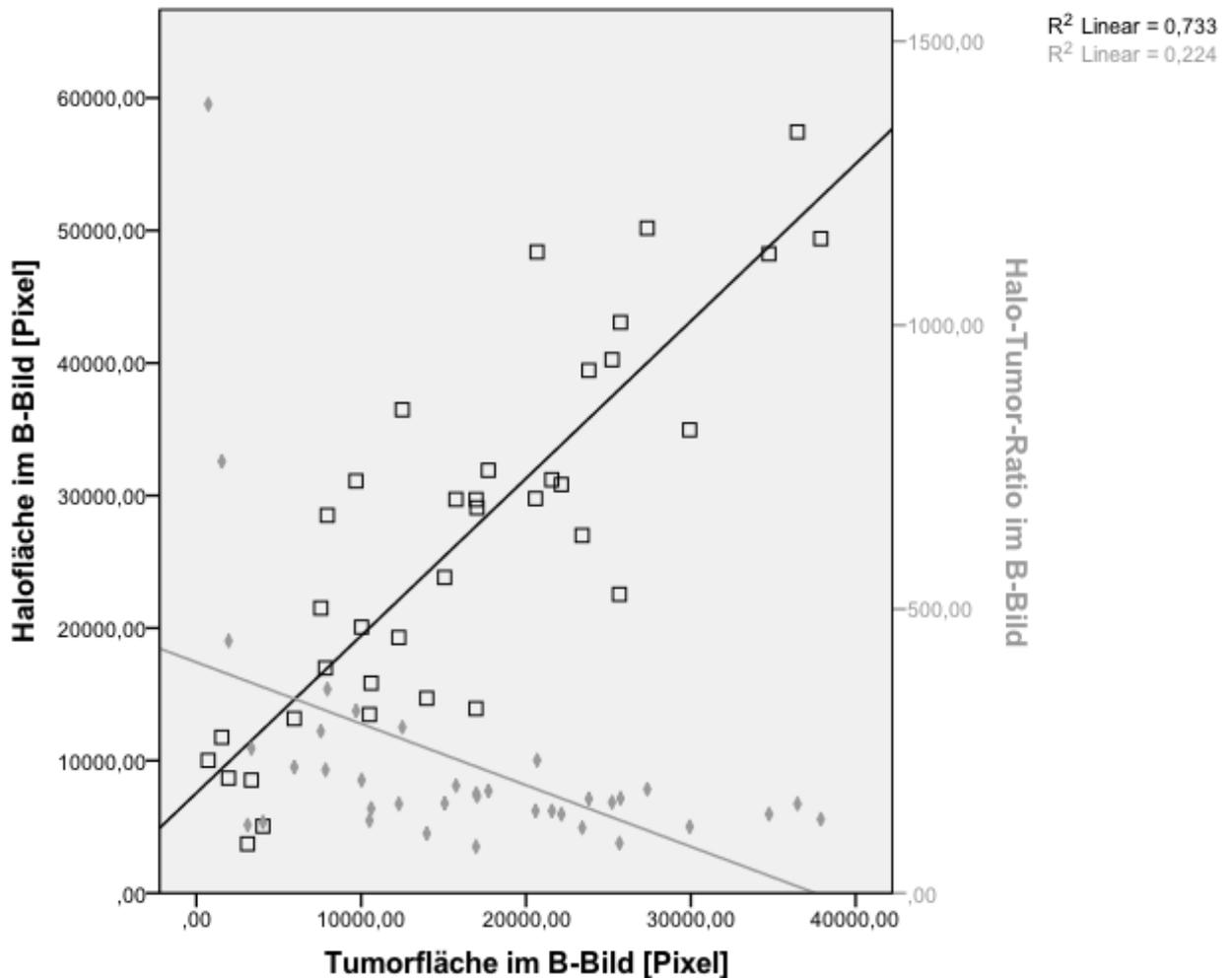


Abbildung 6: Verhältnis der Haloflächen und Halo zu Tumor-Ratios aus dem B-Bild zur Tumorflächen im B-Bild und ihre jeweiligen linearen Anpassungsgeraden.

Es zeigten sich ein sehr starker positiver linearer Zusammenhang zwischen Halofläche und Tumorfläche und ein mittelstarker negativer linearer Zusammenhang zwischen Halo-Tumor-Ratio und Tumorfläche.

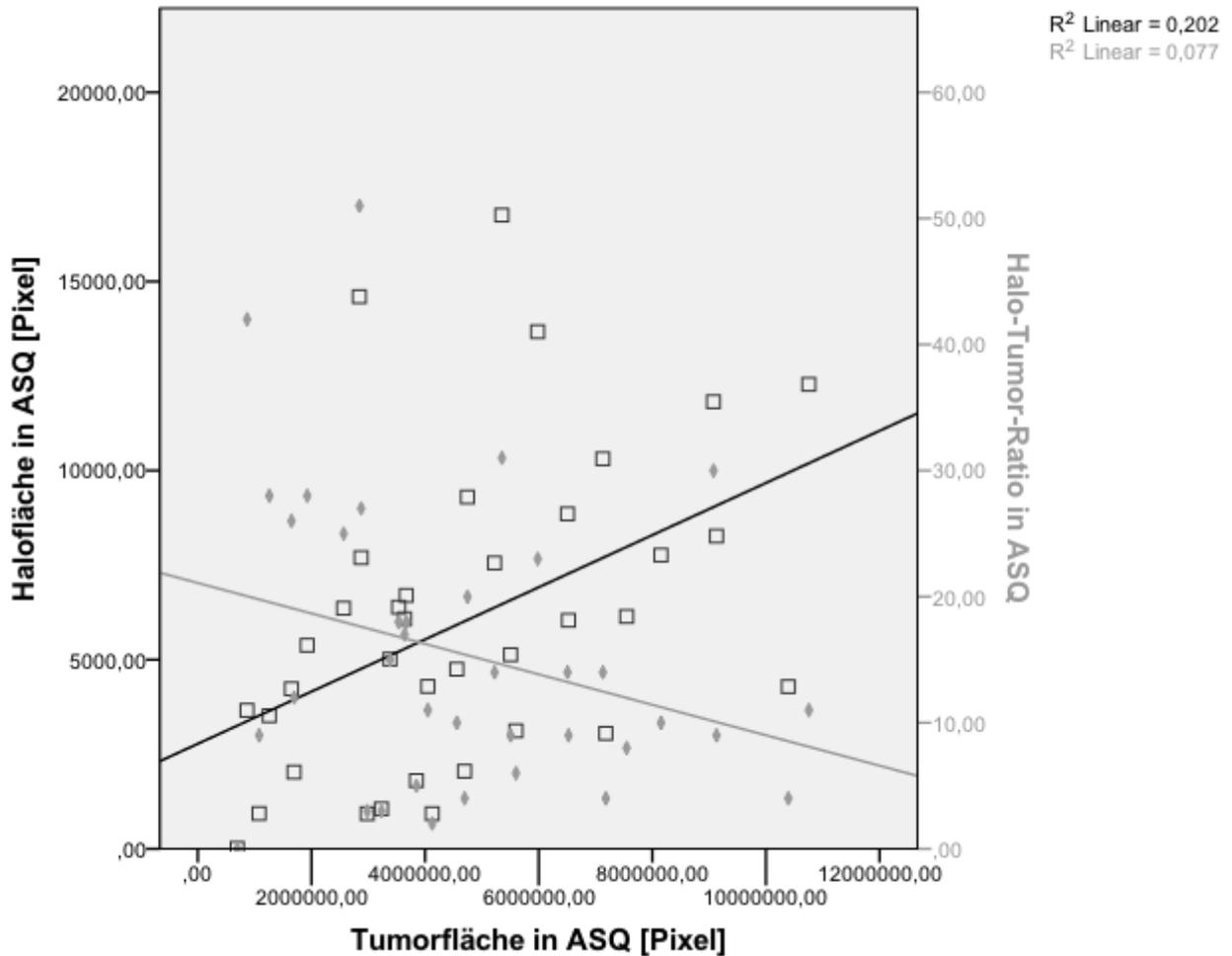


Abbildung 7: Verhältnis der Haloflächen und Halo zu Tumor-Ratios aus ASQ zur Tumorflächen in ASQ und ihre jeweiligen linearen Anpassungsgeraden.

Es zeigten sich ein sehr starker positiver linearer Zusammenhang zwischen Halofläche und Tumorfläche und lediglich ein geringer negativer linearer Zusammenhang zwischen Halo-Tumor-Ratio und Tumorfläche. Die Halofläche in ASQ zeigt sich damit weniger abhängig von der Tumorgröße als die Halofläche im B-Bild (vergleiche Abbildung 6).

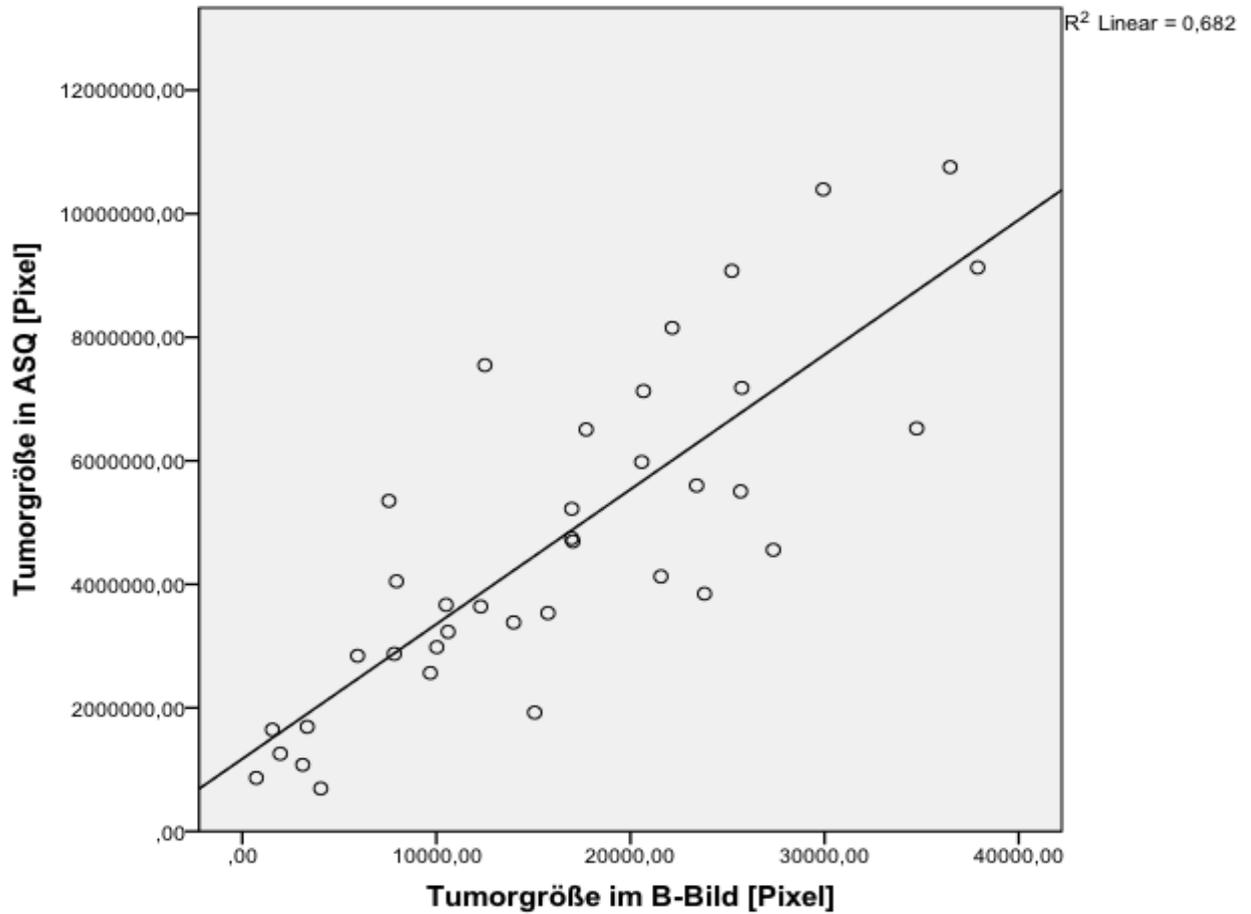


Abbildung 8: Tumorgröße in ASQ im Verhältnis zur Tumorgröße im B-Bild und ihre lineare Anpassungsgerade.

Obwohl der Tumor im ASQ-Verfahren immer größer gemessen wurde als im B-Bild, bestand doch ein sehr starker positiver linearer Zusammenhang zwischen beiden Größen.

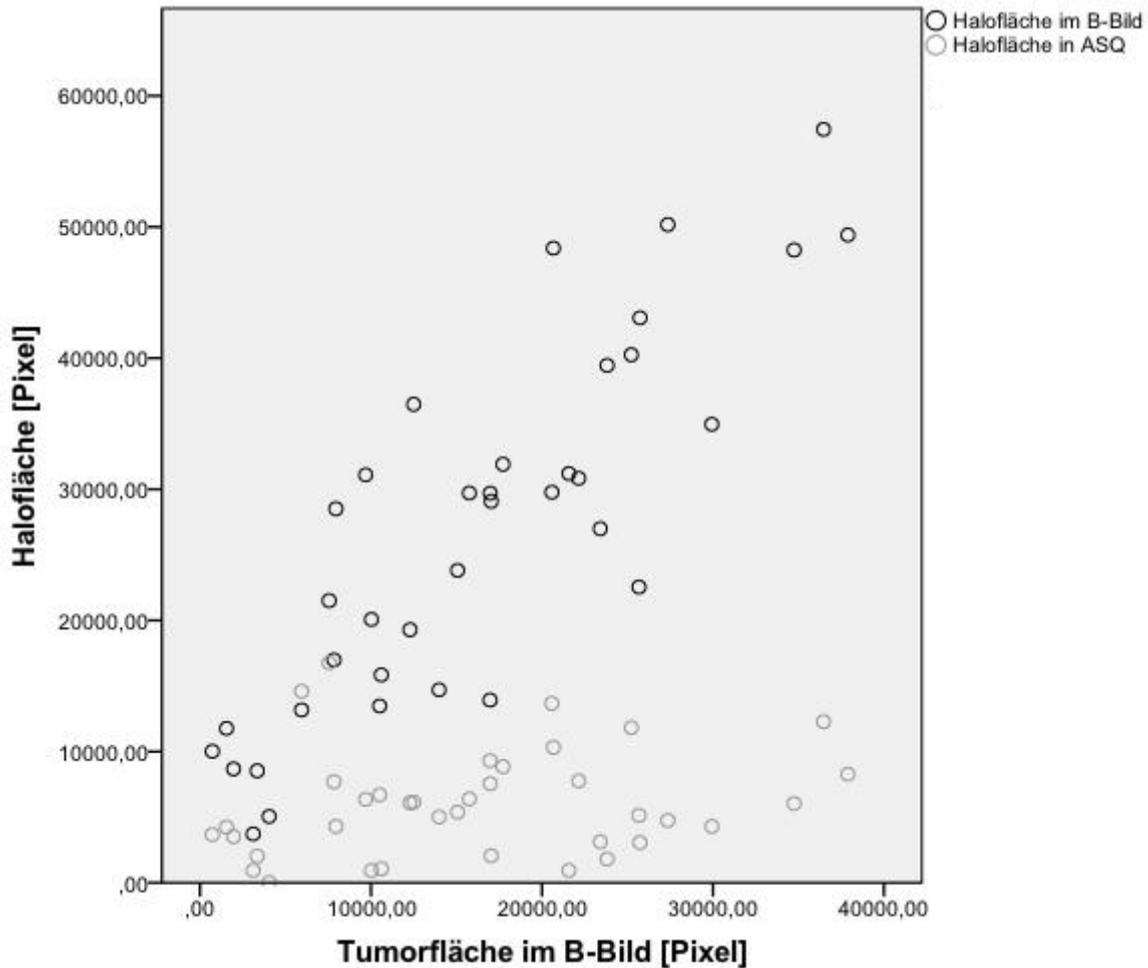


Abbildung 9: Vergleichende Darstellung der Verhältnisse der Haloflächen aus B-Bild und ASQ zu der Tumorfläche im B-Bild. (aus dem Englischen nach Bach/Hameister voraussichtlich 2019 (63))

Als abhängige Variable wurde hier die Tumorgröße im B-Bild auf der x-Achse gewählt, da es sich bei dem B-Bild um das etablierte Verfahren handelt und zudem in vorangegangenen Publikationen eine Abhängigkeit des Halos im B-Bild von der Tumorgröße beschrieben wurde. Auch hier zeigt sich ein linearer Zusammenhang für den Halo im B-Bild, nicht jedoch für den Halo im ASQ-Bild.

4.2 Methodenvergleich des hyperechogenen Randsaums im B-Bild und des homogenen Randsaums in ASQ

4.2.1 Bland-Altman-Diagramm für die Halo-Tumor-Quotienten aus B-Bild und ASQ

Es zeigte sich, dass die beiden Verfahren umso mehr differierten, je größer die Ratio von Halo zu Tumor war (vergleiche Abbildung 10). Auch dieses Ergebnis wies auf einen systematischen Fehler bei der neuen Methode hin.

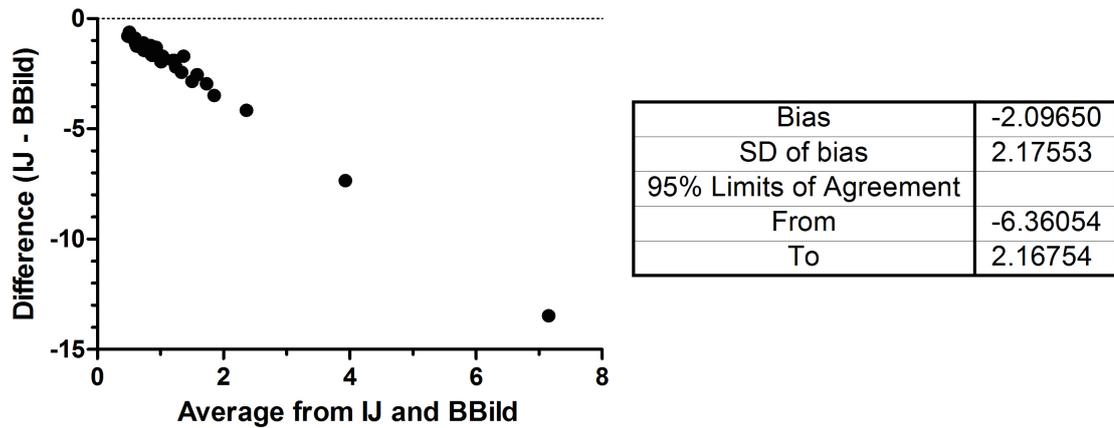


Abbildung 10: Bland-Altman-Plot: Vergleich des neuen Verfahrens der Haloausmessung mittels der Farbpixelzählung des blauen/homogenen Randsaums im ASQ-Bild bei ImageJ mit der Pixelzählung nach der Umrandung des hyperechogenen Randsaums im B-Bild. Es zeigte sich ein systematischer Fehler.

4.2.2 Regressionsanalyse der Halo-Tumor-Quotienten in B- und ASQ-Bild

4.2.2.1. Lineare Regression der Halo-Tumor-Quotienten in B- und ASQ-Bild

Die lineare Regression des Halo-Tumor-Quotienten in ASQ auf den Halo-Tumor-Quotienten im B-Bild (siehe Abbildung 11) zeigt einen signifikanten, positiven linearen Zusammenhang zwischen beiden Quotienten mit großer Effektstärke ($B = .026$, $SE = .007$, $\beta = .528$, $p = .001$, $R^2 = .279$, $p = .001$). Daraus ließ sich schließen, dass die Größenverhältnisse von hyperechogenem Randsaum zu Tumor im B-Bild zwar nicht gleichzusetzen waren mit dem Größenverhältnis des blauen, homogenen Randsaums zum Tumor im ASQ-Bild, aber dennoch ein signifikanter Zusammenhang zwischen beiden Größen bestand.

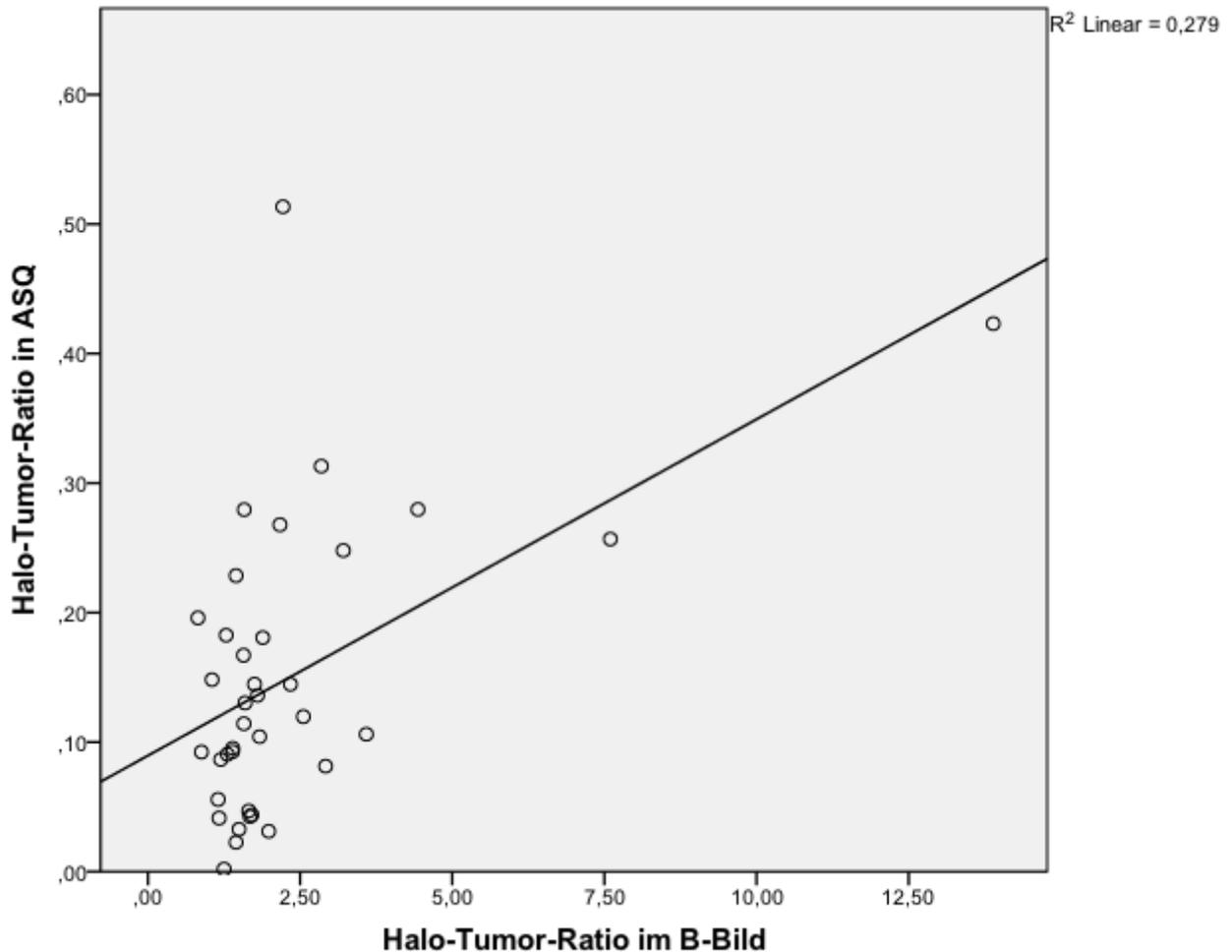


Abbildung 11 : Lineare Regression des Verhältnisses des Halos zur Tumorfläche für das ASQ-Bild auf die selbige Ratio für die Messungen im B-Bild.

Es zeigt sich ein signifikanter, positiver linearer Zusammenhang großer Effektsärke.

4.2.2.2. Quadratische Regression der Halo-Tumor-Quotienten in B- und ASQ-Bild

Wir prüften, ob ein anderes Regressionsmodell den positiven Effekt der Halo-Tumor-Ratio im B-Bild auf die Ratio des ASQ-Bildes noch besser abbilden würde. Der beschriebene Zusammenhang ließ sich noch effektstärker durch eine quadratische ($B = -.002$, $SE = .002$, $\beta = -.447$, $p = .397$, $R^2 = .294$, $p = .003$) oder kubische ($B = .001$, $SE = .001$, $\beta = 2.296$, $p = .391$, $R^2 = .31$, $p = .006$) Regression beschreiben (vergleiche Abbildung 12). Jedoch waren die Regressionskoeffizienten des quadratischen und kubischen Modells nicht signifikant, was letztlich bedeutete, dass der durch sie beschriebene Einfluss der Ratio des B-Bildes auf das ASQ-Bild auch nicht signifikant

und somit nicht relevant war. Daher musste man von einem linearen Zusammenhang zwischen der Halo-Tumor-Ratio im B-Bild und der im ASQ-Bild ausgehen.

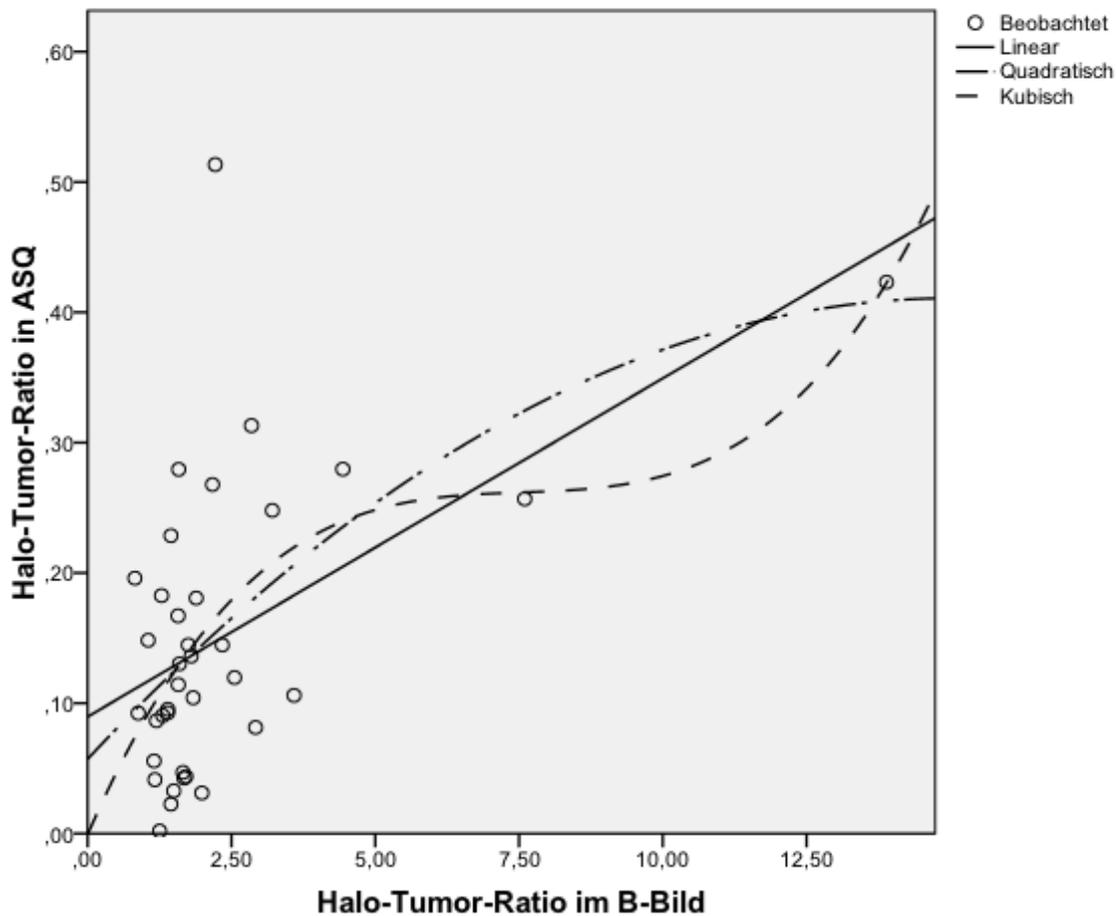


Abbildung 12 : Unterschiedliche Regressionsmodelle (linear, quadratisch, kubisch) für das Verhältnis des Halos zur Tumorfläche im ASQ-Bild auf die selbige Ratio im B-Bild.

Es zeigt sich in allen drei Modellen ein positiver Effekt der Halo-Tumor-Ratio im B-Bild auf die Ratio im ASQ-Bild. Quadratische und Kubische Regression zeigen dabei die höheren Effektstärken, sind jedoch im Gegensatz zu der etwas effektschwächeren linearen Regression nicht signifikant.

4.3 Korrelation des hyperechogenen Randsaums im B-Bild und des homogenen Randsaums in ASQ mit den histologischen Befunden

4.3.1 Graphische Darstellung der Verteilung der Halo-Tumor-Ratios aus B- und ASQ-Bild in den unterschiedlichen Kategorien diverser prognostischer Marker

Zur leichteren visuellen Erfassung möglicher Trends beziehungsweise Zusammenhänge stellten wir die Verteilung der Halo-Tumor-Ratios aus B-Bild- und ASQ-Verfahren bei den jeweiligen Kategorien der prognostisch relevanten Merkmale graphisch dar. Annähernd signifikante Unterschiede in der Verteilung zeigten sich lediglich bei der Lymphangi Invasion für das ASQ-Verfahren. Bei den übrigen Parametern lag größtenteils eine Gleichverteilung vor. Interessante, jedoch nicht signifikante Trends gab es auch bei den N-Stadien, dem histologischen Grading und der Tumorart (siehe unten).

4.3.1.1 Boxplot-Diagramme für Lymphangi Invasion

Die Verteilung der Halo-Tumor-Ratios im ASQ-Verfahren bei nachgewiesener Lymphangi Invasion und bei nicht nachgewiesener Lymphangi Invasion suggerierte einen positiven Zusammenhang zwischen Größenzunahme der Ratios und nachgewiesener Lymphangi Invasion. Einen ähnlichen Zusammenhang zeigte sich für die Halo-Tumor-Ratios im B-Bild nicht (vergleiche Abbildung 13).

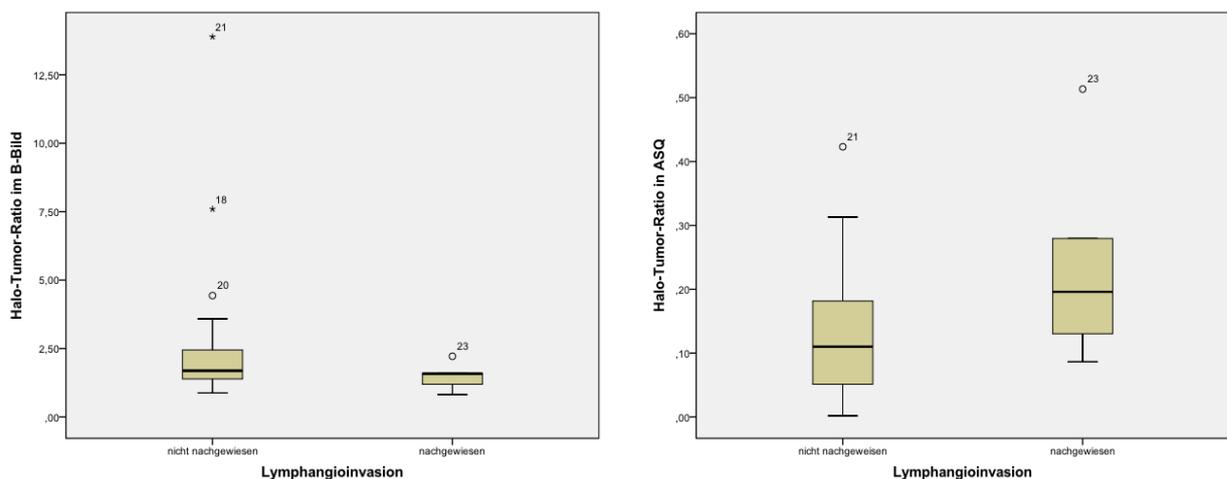


Abbildung 13: Boxplots: Verteilung der Halo-Tumor-Ratios bei Tumoren mit und ohne nachgewiesener Lymphangi Invasion für B-Bild (links) und ASQ (rechts). (aus dem Englischen nach Bach/Hameister voraussichtlich 2019 (63))

Die Verteilung für ASQ suggeriert einen positiven Zusammenhang zwischen Größenzunahme der Ratios und nachgewiesener Lymphangi Invasion.

4.3.1.2 Boxplot-Diagramme für N-Stadien

Trotz abnehmender Mittelwerte für höhere N-Stadien (für N0 $M = 2.78$, $SD = .87$, für N1 $M = 2.05$, $SD = .81$, für N2 $M = 1.43$, $SD = .32$) wiesen die Halo-Tumor-Ratios im B-Bild für alle N-Stadien insgesamt eine ähnliche Verteilung auf. Dahingegen ließ die Verteilung der Ratios im ASQ-Bild einen Aufwärtstrend für zunehmende Anzahl befallener Lymphknoten vermuten. Dabei war die Verteilung für N0 und N1 ähnlich, während der Unterschied zwischen N1- und N2-Stadium trotz fehlendem Signifikanzniveau markant schien (für N0 $M = .15$, $SD = .03$, für N1 $M = .15$, $SD = .04$, für N2 $M = .22$, $SD = .03$, vergleiche Abbildung 14). Hier lässt sich im ASQ-Modus ein Trend für im Verhältnis zur Tumorfläche größere Haloflächen bei vermehrtem Lymphknotenbefall erkennen.

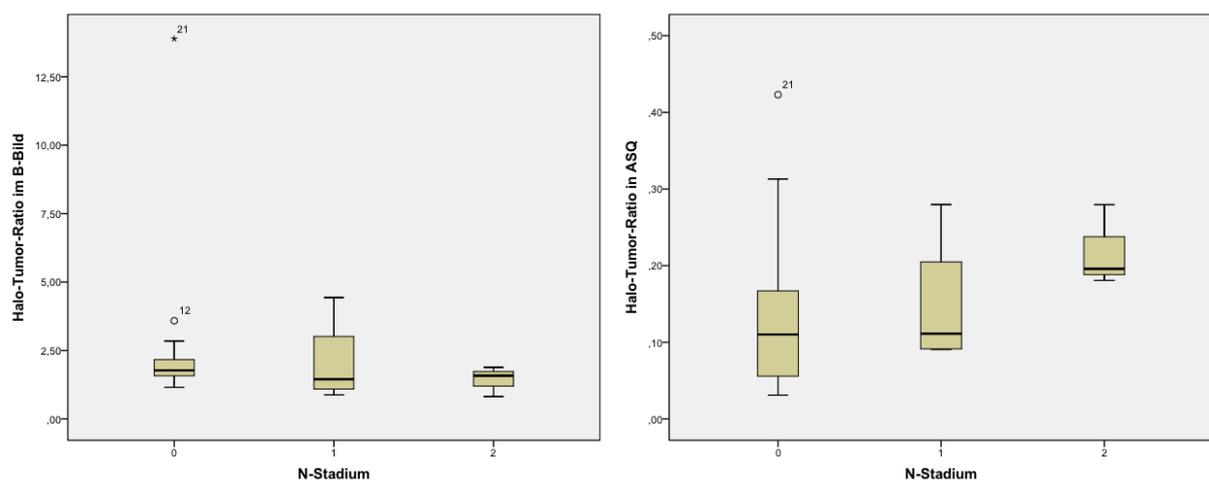


Abbildung 14: Boxplots: Verteilung der Halo-Tumor-Ratios bei N-Stadien 0 bis 2 für B-Bild (links) und ASQ (rechts). (aus dem Englischen nach Bach/Hameister voraussichtlich 2019 (63))

Visuell lässt sich für den ASQ-Modus ein Trend für im Verhältnis zur Tumorfläche größere Haloflächen bei vermehrtem Lymphknotenbefall erkennen.

4.3.1.3 Boxplot-Diagramme für das histologische Grading

Die Verteilung der Halo-Tumor-Ratios aus dem B- Bild bei den unterschiedlichen Gradingstufen war annähernd gleich. Auch im ASQ-Bild war die Verteilung für alle histologischen Gradings sehr ähnlich, jedoch gab es einen Sprung zwischen den Mittelwerten von low-grade (G1)-Tumoren und schlechter differenzierten Tumoren (G1:

$M = .08$, $SD = .04$, G2: $M = .18$, $SD = .04$, G3: $M = .16$, $SD = .04$, vergleiche Abbildung 15).

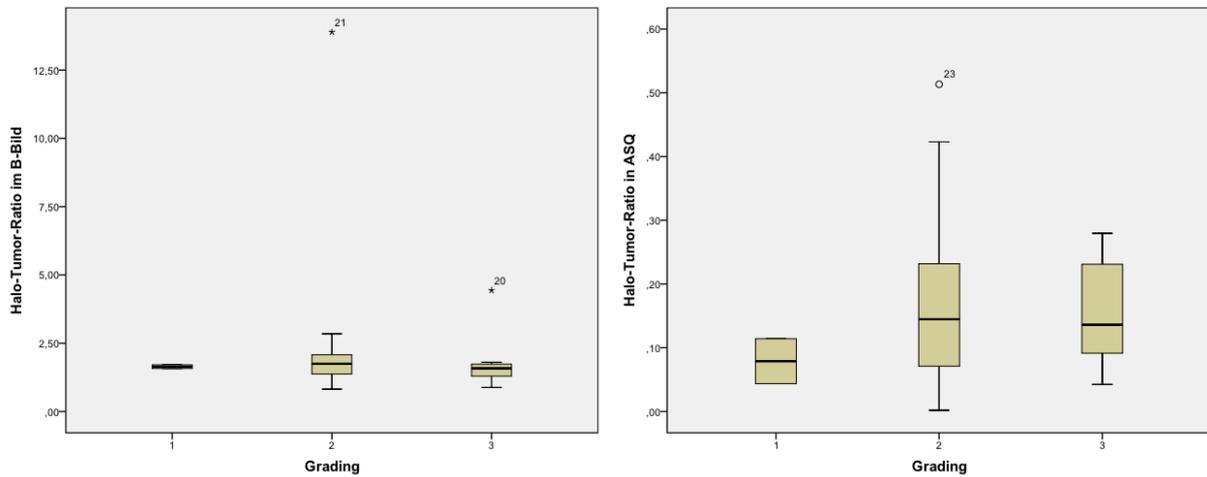


Abbildung 15: Boxplots: Verteilung der Halo-Tumor-Ratios bei histologischem Grading G1 bis G3 für B-Bild (links) und ASQ (rechts).

Es gab für ASQ einen Sprung zwischen den Mittelwerten von low-grade (G1)-Tumoren und schlechter differenzierten Tumoren.

4.3.1.4 Boxplot-Diagramme für Tumorart

Sowohl für NST- als auch für invasiv lobuläre Tumore war die Verteilung der Halo-Tumor-Ratios aus B- und ASQ-Bild annähernd gleich (vergleiche Abbildung 16), obwohl die Mittelwerte jeweils beim invasiv lobulären Karzinom höher lagen (für B-Bild: NST: $M = 2.01$, $SD = .25$, invasiv lobulär: $M = 3.74$, $SD = 1.71$; für ASQ-Bild $M = .14$, $SD = .02$, invasiv lobulär: $M = .19$, $SD = .05$).

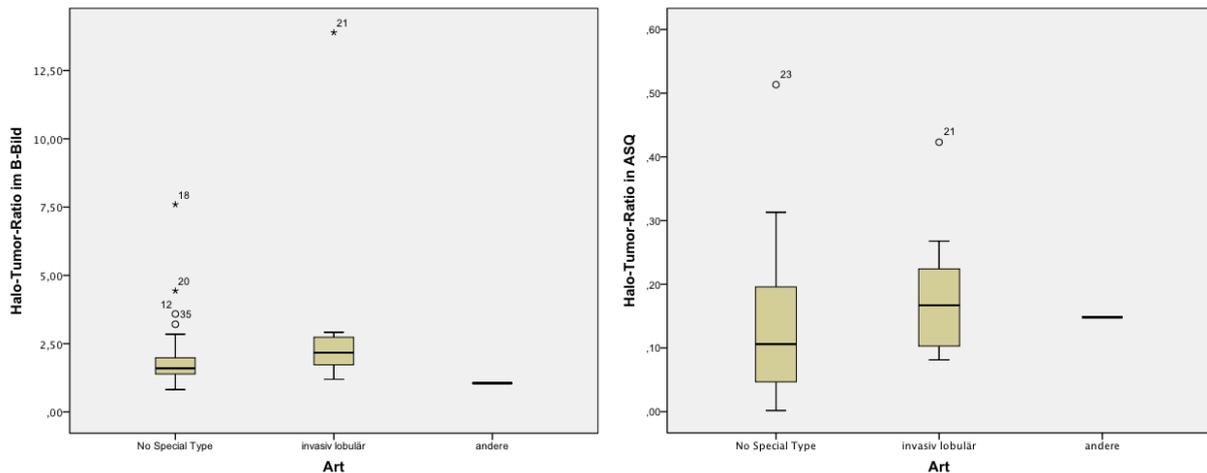


Abbildung 16: Boxplots: Verteilung der Halo-Tumor-Ratios bei NST-, invasiv lobulären und anderen Tumoren (auf der x-Achse von links nach rechts) für B-Bild (linkes Diagramm) und ASQ (rechtes Diagramm).

Die Mittelwerte des invasiv lobulären Karzinoms lagen über dem der NST-Tumore.

4.3.2 Interkorrelationstabelle für die Halo-Tumor-Ratios aus B- und ASQ-Bild und die prognostischen Marker

Unter der Annahme, dass die histologischen Parameter normal verteilt gewesen seien und ein linearer Zusammenhang zu den Halo-Tumor-Ratios bestünde, berechneten wir die Pearson-Korrelationskoeffizienten für die histologischen Merkmale und die jeweiligen Halo-Tumor-Ratios im B-Bild- und ASQ-Verfahren, um mögliche signifikante Einflüsse der Prognosefaktoren auf die Halo-Tumor-Ratios zu finden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

Die oben beschriebene hochsignifikante lineare Korrelation zwischen dem Halo-Tumor-Quotienten in ASQ und selbigem Quotienten im B-Bild bildete sich auch in der Interkorrelationstabelle ab. Zudem konnten einige Zusammenhänge reproduziert werden, die uns über die Interaktion der histologischen Marker schon bekannt waren, beziehungsweise Voraussetzung für ihre Definition sind. So war etwa eine hochsignifikante positive Korrelation zwischen dem N-Stadium und dem T-Stadium zu finden, aber auch zwischen der Tumorgöße und dem T-Stadium. Auch die Prognoseparameter MIB1, der Östrogen- und der Progesteronrezeptorstatus haben einen positiven Einfluss auf das T-Stadium. MIB1, Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus korrelieren hochsignifikant untereinander. Zudem wirkt sich der Östrogenrezeptorbesatz signifikant auf das N-Stadium, und MIB1 hochsignifikant

auf das *Grading* aus. Das Alter wiederum korrelierte positiv mit MIB1-Expression und Östrogenrezeptorbesatz. Ein annähernd signifikanter positiver Zusammenhang konnte zwischen der Lymphangiainvasion und dem Halo-Tumor-Quotienten im ASQ-Bild gezeigt werden ($r = .323$, $p = .051$).

Ergebnisse

Tabelle 3: Interkorrelationstabelle von Halo-Tumor-Ratios und histologischen Befunden (Teile in Bach/Hameister voraussichtlich 2019 (63))

Parameter	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)
(1) Halo-Tumor-Ratio aus ASQ												
(2) Halo-Tumor-Ratio aus B-Bild	.528											
		**										
(3) T-Stadium	-.189	.001										
(4) N-Stadium	-.017	-.092	.546									
			**									
(5) HER2/Neu	-.174	-.089	.100	-.110								
(6) MIB1	-.020	-.002	-.377	.034	-.036							
			*									
(7) Lymph-angio-invasion	.323	-.145	-.294	.021	.124	-.071						

(8) Art	.110	.123	.154	.117	-.179	-.255	-.046					
(9) Grading	.076	-.044	.089	.141	.037	.580	-.007	-.186				
						**						
(10) ER	-.012	-.193	-.633	-.398	-.014	-.727	.260	.192	-.399			
			**	*		**						
(11) PR	.016	-.261	-.463	-.317	-.108	-.492	.110	-.011	-.078	.629		
			**			**				**		
(12) Alter	.100	.124	-.271	.057	-.014	-.439	.036	.197	-.108	.357	.064	
						**				*		
(13) Größe	-.060	-.098	.932	-.174	.329	.300	-.055	.198	.193	-.120	-.144	-.065
			**									

Angabe des Pearson-Korrelationskoeffizienten

* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0.05 (zweiseitig) signifikant.

** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0.01 (zweiseitig) signifikant.

*** Die Korrelation hat eine zweiseitige Signifikanz von $p = .051$.

4.3.3 Korrelation der Halo-Tumor-Ratios aus B- und ASQ-Bild mit dem Vorhandensein einer Lymphangiainvasion

Wir fertigten daraufhin auch ROC-Kurven an, welche die Vorhersagbarkeit einer Lymphangiainvasion durch die Größe der Halo-Tumor-Ratios in B- und ASQ-Bild beurteilten (Darstellung in Abbildung 17). Obwohl ihnen für das B-Bild eine AUC von .656 zu entnehmen war, musste ein eher zufälliger Zusammenhang angenommen werden, da der Kurvenverlauf nahe der Diagonalen verlief und diese sogar in einem Punkt schnitt. Dahingegen verlief die ROC-Kurve für das ASQ-Verfahren stets über der Diagonalen und wies eine Fläche von .713 auf. Die Trennschärfe war damit im ASQ-Verfahren besser als im B-Bild. Auch hier schien sich wieder ein Zusammenhang zwischen dem homogenen Randsaum in ASQ im Verhältnis zum Tumor und der Lymphangiainvasion zu zeigen. Dennoch muss angemerkt werden, dass keine der beiden Trennschärfen signifikant war ($p = .131$ für ASQ und $p = .267$ für B-Bild).

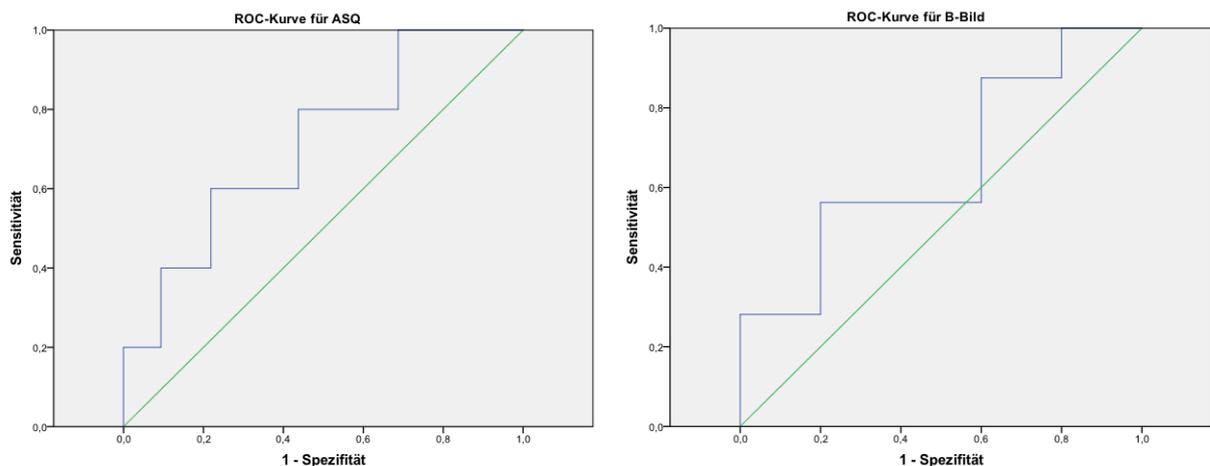


Abbildung 17: ROC-Kurven von Halo-Tumor-Ratios in ASQ- und B-Bild zur Diagnostik einer Lymphangiainvasion bei malignen Raumforderungen der Mamma. (aus dem Englischen nach Bach/Hameister voraussichtlich 2019 (63))

Die Trennschärfe war im ASQ-Verfahren besser als im B-Bild. Visuell sieht man wieder einen Trend bezüglich höheren Halo-Tumor-Ratios in ASQ im Falle einer Lymphangiainvasion. Eine zuverlässige Vorhersagbarkeit kann jedoch für beide Verfahren nicht angenommen werden.

Für die Chi-Quadrat-Testung legten wir den Cut-Off-Wert für die Halo-Tumor-Ratio in ASQ auf .2123 und für das B-Bild auf 1.6263. Bei der Auswertung der Chi-Quadrat-Testung unter Anwendung der Yates-Korrektur zeigte sich, dass sich weder die Tumor-Halo-Ratios im ASQ-Bild, noch selbige Ratios im B-Bild bezüglich einer

nachgewiesenen Lymphangiainvasion unterschieden (ASQ: $\chi^2 (1, N = 37) = .101, p = .750$; B-Bild: $\chi^2 (1, N = 37) = 1.055, p = .304$).

Auch eine Hypothesentestung mittels Mann-Whitney-U-Tests für unabhängige Stichproben konnte die Annahme, dass die Verteilung der Halo-Tumor-Ratios bei Tumoren mit und ohne Lymphangiainvasion gleich sei, nicht verwerfen (für ASQ $p = .140$, für B-Bild $p = .286$).

Im Endeffekt ließ sich sagen, dass es zwar einen Trend bezüglich der Halogröße im ASQ-Bild und einer histologisch nachgewiesenen Lymphangiainvasion gab, sich jedoch keine signifikante Korrelation finden ließ. Ein Nachweis, dass mithilfe eines Cut-Off-Wertes der Halo-Tumor-Ratio in ASQ- oder B-Bild auf eine Lymphangiainvasion geschlossen werden könne, ließ sich letztlich nicht erbringen.

4.4 Methodenvergleich zwischen konventionellem B-Bild und ASQ bezüglich der diagnostischen Genauigkeit bei unerfahrenen Anwendern

Insgesamt wurden sieben Studenten die B-Bilder und ASQ-Bilder zur vergleichenden Beurteilung vorgelegt. Sechs korrekt ausgefüllte Antwortbögen konnten für unsere statistische Auswertung genutzt werden.

4.4.1 Übereinstimmung der Dignitätsbeurteilung in B-Bild und ASQ

Die Analyse mittels Cohens Kappa zeigte eine signifikante, moderate Übereinstimmung zwischen der Dignitätsbeurteilung mittels B-Bild und ASQ ($\kappa = .449, p < .001$).

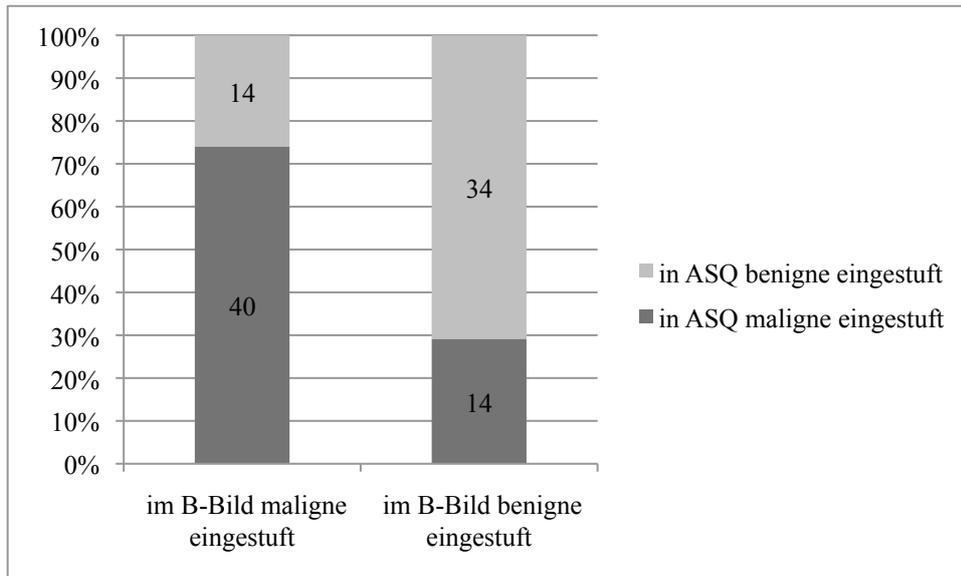


Abbildung 18: Eingeschätzte Dignität in B-Bild und ASQ (Angabe der Teilmengen in den Balken in absoluten Zahlen)

4.4.2 Diagnostische Genauigkeit der Dignitätsbestimmung in B-Bild und ASQ

Die Dignitätseinstufungen durch die Studenten in der B-Bild- und ASQ-Analyse sind in den Tabellen 4 und 5 dargestellt.

Tabelle 4: Vierfeldertafel für die Dignitätsbeurteilung durch die Studenten im B-Bild

Durch die Studenten eingestufte Dignität im B-Bild	Dignität aus der histologischen Untersuchung		n
	maligne	benigne	
maligne	40	14	54
benigne	14	34	48
n	54	48	102

(Angaben in absoluten Häufigkeiten)

Aus der Vierfeldertafel für die Einschätzung in maligne bzw. benigne ließ sich für das B-Bild eine Sensitivität von 74% und eine Spezifität von 71% bei einem positiv prädiktiven Wert von 74% und einem negativ prädiktiven Wert von 71% errechnen.

Tabelle 5: Vierfeldertafel für die Dignitätsbeurteilung durch die Studenten in ASQ

Durch die Studenten eingestufte Dignität in ASQ	Dignität aus der histologischen Untersuchung		n
	maligne	benigne	
maligne	42	12	54
benigne	12	36	48
n	54	48	102

(Angaben in absoluten Häufigkeiten)

Bei der Dignitätsbestimmung im ASQ-Modus wurde eine Sensitivität von 78% und eine Spezifität von 75%, sowie ein positiv prädiktiver Wert von 78% und ein negativ prädiktiver Wert von 75% erreicht. Der ASQ-Modus war deskriptiv sowohl sensitiver als auch spezifischer als das B-Bild. Zudem zeigte ASQ deskriptiv höhere prädiktive Werte.

4.4.3 Halosichtbarkeit bei Interpretation von B-Bild und ASQ

In 36 Fällen wurde die Halosichtbarkeit in B-Bild und ASQ gleich eingestuft. In 20 Fällen war der Halo im B-Bild und in 46 Fällen in ASQ besser sichtbar. Der Wilcoxon-Test zeigte, dass dieser Unterschied in der Halosichtbarkeit in beiden Methoden signifikant war ($z = -3.023$, $p = .003$).

Der Mittelwert für die Halosichtbarkeit im B-Bild lag für benigne Tumoren bei .90 ($SD = .905$) und für maligne Befunde bei 1.63 ($SD = .784$). Der Mittelwert für alle Dignitäten im B-Bild lag bei 1.28 ($SD = .916$). In ASQ war für alle Dignitäten zusammengenommen die Halosichtbarkeit im Mittel bei 1.60 ($SD = 1.101$). Dabei gab es einen deutlichen Unterschied zwischen benignen Raumforderungen, deren Mittelwert bei .92 ($SD = .964$) lag, und malignen, deren Mittelwert für die Halosichtbarkeit im ASQ-Bild 2.20 ($SD = .833$) betrug. Es konnte schon aus der deskriptiven Analyse geschlossen werden, dass sowohl die Halosichtbarkeit in beiden Verfahren bei benignen Tumoren geringer und bei malignen Tumoren höher eingestuft wurde, als auch dass im ASQ-Bild der Halo um maligne Tumore besser gesehen wurde als im B-Bild.

Eine einfaktorielle ANOVA-Analyse zeigte jeweils für B-Bild und ASQ-Bild, dass bezüglich der Halosichtbarkeit signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen maligner und benigner Raumforderungen bestanden, während der Unterschied

innerhalb der Gruppen nicht groß war. Die Ausprägung eines Halos war unabhängig von der Darstellung in ASQ- oder B-Bild ein signifikantes Malignitätskriterium (vergleiche Tabelle 6).

Tabelle 6: Einfaktorielle ANOVA-Analyse der Halosichtbarkeit in B- und ASQ-Bild für benigne und maligne Befunde.

		SS	df	MS	F	p
Halosichtbarkeit im B-Bild	Zwischen den Gruppen	13.683	1	13.683	19.253	<.001
	Innerhalb der Gruppen	71.072	100	.711		
	Gesamt	84.755	101			
Halosichtbarkeit im ASQ-Bild	Zwischen den Gruppen	42.094	1	42.094	52.338	<.001
	Innerhalb der Gruppen	80.426	100	.804		
	Gesamt	122.520	101			

Bessere Halosichtbarkeit im ASQ-Verfahren und bei malignen Befunden.

Die oben schon erwähnte signifikant bessere Halosichtbarkeit im ASQ-Bild spezifizierten wir mittels eines Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests für gut- und bösartige Raumforderungen. Während dieser Test für benigne Tumore keinen signifikanten Unterschied zwischen der Halosichtbarkeit in B- und ASQ-Bild ergab ($U(48, 48) = 1150, p = .988$), produzierte er einen signifikanten Unterschied für die Halosichtbarkeit um maligne Raumforderungen ($U(54, 54) = 900, p < .001$). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir bestätigen konnten, dass es sich bei dem Halo um ein signifikantes Malignitätskriterium handelt und dass dieser Halo in ASQ signifikant besser gesehen wird.

4.4.4 Diagnosesicherheit bei Interpretation von B-Bild und ASQ

Insgesamt zeigten sich die Studenten bei der Interpretation der ASQ-Bilder sicherer. Die Diagnosesicherheit wurde in 60 Fällen in ASQ und lediglich in zwölf Fällen im B-Bild

besser eingestuft. In 30 Fällen war die Diagnosesicherheit bei beiden Methoden gleich. Der Wilcoxon-Test zeigte, dass die Diagnosesicherheit zwischen beiden Methoden signifikant unterschiedlich war ($z = -5.587$, $p < .001$).

4.4.5 ROC-Kurve für Halosichtbarkeit und Diagnosesicherheit

Abbildung 19 stellt die ROC-Kurven für Halosichtbarkeit und Diagnosesicherheit sowohl für B-Bild als auch ASQ unter der Annahme dar, dass bei malignen Raumforderungen zumindest die Halosichtbarkeit größere Werte annehmen muss.

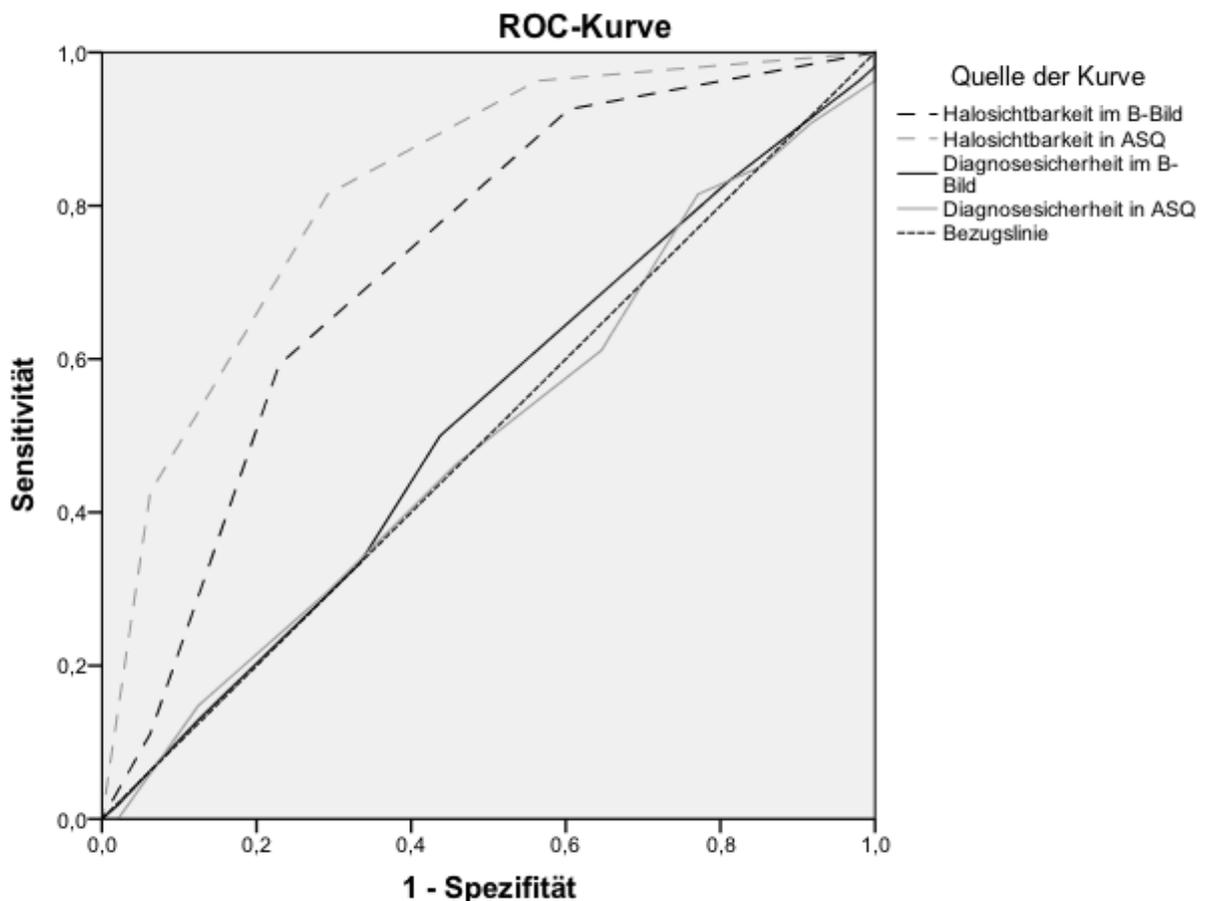


Abbildung 19: ROC-Kurven für Halosichtbarkeit in B- und ASQ-Bild, sowie Diagnosesicherheit in B- und ASQ-Bild.

Den besten Verlauf zeigte die Kurve für Halosichtbarkeit im ASQ-Bild. Bei der Diagnosesicherheit musste für beide Verfahren von einem eher zufälligem Zusammenhang zu der letztlich gestellten Diagnose ausgegangen werden.

Während die ROC-Kurven der Diagnosesicherheit in beiden Verfahren dafür sprechen, dass etwaige Zusammenhänge zwischen subjektiver Sicherheit und der

Diagnose einer malignen Raumforderung eher zufälliger Natur sind (für B-Bild $AUC = .519$, $SD = .058$, $p = .735$, *n.s.*, für ASQ $AUC = .5$, $SD = .058$, $p = .997$, *n.s.*), ist bei der Halosichtbarkeit sowohl in B-Bild als auch im ASQ-Bild für geeignete Wahl des Parameters das Ergebnis gut (für B-Bild $AUC = .728$, $SD = .051$, $p = .000$, für ASQ $AUC = .826$, $SD = .041$, $p = .000$). Das heißt, dass je besser die Halosichtbarkeit ist auch die Diagnose mit größer werdender Sicherheit richtig gestellt werden kann und damit die Verwendung dieser Kategorien der Halosichtbarkeit zur Erlangung einer richtigen Diagnose zielführend wäre. Dabei besaß die Halosichtbarkeit im ASQ-Bild die höhere diagnostische Wertigkeit der beiden Verfahren.

5 Diskussion

Es sind mehrere sonographische Dignitätskriterien bei Mammatumoren in der Literatur beschrieben, die in den letzten Jahren in Studien mehrfach evaluiert wurden. Eines dieser sonomorphologischen Kriterien ist der hyperechogene Randsaum um den meist hypoechogenen Tumor. Dieses Kriterium wurde 1976 von Kossoff et al. erstmals zur Dignitätsbeurteilung vorgeschlagen (66). Marquet et al. zeigten 2002, dass es sich bei dem Halophänomen um das wichtigste Malignitätskriterium handelt (53). Dennoch ist die perifokale Zone als eigenständiges Kriterium aus dem BI-RADS V –Katalog genommen worden. Möglicherweise, da verschiedene Phänomene für die Halosichtbarkeit verantwortlich sind und nicht selten eine Interpretation dieses Phänomens mit dem B-Bild allein nur schwer zu standardisieren ist.

So klar die Assoziation der unterschiedlichen perifokalen Befunde zur Dignität der Läsion ist, so unklar ist ihre Vorhersagekraft bezüglich Schwere der Erkrankung, Therapiemöglichkeiten, Krankheitsverlauf oder Überleben. Die Studienlage zu Assoziationen mit diversen Prognosemarkern ist ambivalent.

Die stets fortschreitende Entwicklung von Programmen zur Bildverbesserung, aber auch die Neuentwicklung von Programmen zur Darstellung bestimmter Gewebeeigenschaften, als bekanntes und mittlerweile etabliertes Verfahren ist hier die Elastografie zu nennen, erfordert eine ständige Evaluation und Reevaluation von Methoden und Kriterien. Aus unserer Sicht erfordert der Fortschritt bei den Bildoptimierungsprogrammen eine erneute Befassung mit dem Kriterium der hyperechogenen Zone. Auffällig war, dass in dem für die Leberzirrhosedagnostik entwickelten Programm ASQ die perifokale, hyperechogene Zone besonders homogen erschien. Die Darstellung der perifokalen Zone in ASQ erleichtert unserer Meinung nach die Visualisierung und Standardisierung dieses sonomorphologischen Diagnosekriteriums und könnte zusätzliche Hinweise auf ihr morphologisches Korrelat liefern. Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte die Untersuchung des mittels neuester Ultraschalltechnologie nun besser visualisierbaren, hyperechogenen Randsaums im B-Bild und des homogenen Randsaums im ASQ-Bild, welches auf den nicht geglätteten oder gefilterten Rohdaten beruht.

Obwohl die im ASQ-Bild ermittelten Flächen von Halo und Tumor nicht denen im B-Bild entsprachen und sich auch die Verhältnisse der Halo- zu den Tumorflächen

unterschieden, konnten wir doch zeigen, dass die im ASQ-Bild ermittelten Messwerte mit denen im B-Bild korrelierten. Eine signifikante Korrelation mit histologischen Tumormarkern oder Prognosefaktoren konnte nicht nachgewiesen werden. Für eine histologisch nachgewiesene Lymphangiainvasion ließ sich zwar zunächst ein Trend für das Größenverhältnis im ASQ-Bild erkennen, weitere Tests ergaben aber, dass für größere Fallzahlen eine Gleichverteilung der Ausprägung angenommen werden muss. Eine Testung der ASQ-Methode durch Studierende ergab eine deskriptiv bessere Sensitivität und Spezifität für das ASQ-Bild. Zudem war die perifokale Zone um maligne Tumore im ASQ-Bild besser visualisiert. Der perifokale Bereich um benigne Tumore hingegen war in beiden Methoden vergleichbar beziehungsweise nicht verändert sichtbar. Diese optimierte Halosichtbarkeit im ASQ-Bild trug auch zu den akurateren Diagnoseergebnissen für das ASQ-Bild bei. Insgesamt fühlten sich die Studierenden bei der Dignitätsbeurteilung von Läsionen aufgrund des ASQ-Bildes sicherer.

Die Fläche für die perifokale Zone war im ASQ-Verfahren stets deutlich kleiner als im B-Bild. Umgekehrt zeigte sich, dass der Tumor im ASQ-Bild rechnerisch immer größer zur Darstellung kam als die Tumorphäche im B-Bild. Eine Schwachstelle der ASQ-Methode war hier, dass die Tumorphäche lediglich indirekt bestimmt wurde. Wir nahmen dafür an, dass die Tumorphäche der Restfläche entspräche, die nicht homogen bzw. blau dargestellt wurde. Die Gesamtpixelzahl der ROIs im B- und ASQ-Bild waren zwar nie gleich groß, wiesen jedoch immer ähnliche Größenordnungen auf. Zudem fiel auf, dass die Flächen für Randsaum und Tumor ähnliche Größen annahmen, wenn man sie für ASQ mit dem gleichen Algorithmus wie für das B-Bild in ImageJ bestimmte.

Der Methodenvergleich von ASQ-Modus mit B-Bild mittels eines Bland-Altman-Diagramms zeigte einen systematischen Fehler. Die Abweichung der neuen Methode war umso größer, je größer der Durchschnitt des Verhältnisses von perifokaler Fläche zu Tumorphäche aus beiden Verfahren war. Betrachtete man die Größe der Tumorphächen im B-Bild und in ASQ, differierten zwar die Pixelsummen, aber es bestand ein eindeutiger, linearer Zusammenhang zwischen beiden. Das heißt, je größer ein Tumor im B-Bild war, desto größer war er auch im ASQ-Bild. Die Relation der Größe, von der wir wussten, dass sie in beiden Verfahren gleich zur Darstellung kommen muss, blieb also weitestgehend erhalten. Um die Größendifferenz als

systematischen Fehler bei Verwendung unterschiedlicher Algorithmen zur Größenbestimmung auszugleichen, arbeiteten wir mit dem Verhältnis der Halofläche zu der Tumorfläche. Dennoch zeigte sich im Methodenvergleich ein systematischer Fehler, der nicht mehr auf die Verfahrenswahl in ImageJ zurückgeführt werden konnte. Folglich muss der systematische Fehler bei der Halofläche selbst liegen.

Betrachtete man nun auch die Halogrößen in den unterschiedlichen Verfahren, war die Fläche der homogenen Zone in ASQ stets kleiner als der hyperechogene Randsaum im B-Bild. Zudem war ein positiver Zusammenhang zwischen Fläche des hyperechogenen, perifokalen Areals im B-Bild und der Tumorgröße zu beobachten, der sich in dieser Stärke für den homogenen Randsaum in ASQ nicht finden ließ. Die homogene, perifokale Zone schien mit zunehmender Tumorgröße selbst kaum an Größe zuzunehmen. Es schien, dass der homogene Halo in ASQ ein anderes morphologisches Korrelat darstellte als der hyperechogene Halo im B-Bild.

Rein visuell waren die Flächen für Tumor und Halo subjektiv in B- und ASQ- Bild gleich groß. Nur durch die Objektivierung durch Flächenbestimmung mittels Farbpixelzählung im ASQ-Bild war eine Darstellung der unterschiedlichen Größenverhältnisse möglich. Durch die Verwendung unterschiedlicher Algorithmen in ImageJ konnte gezeigt werden, dass für den homogenen Randsaum in ASQ und für den hyperechogenen Randsaum im B-Bild unterschiedliche Substrate als ursächlich angesehen werden müssen, wobei das homogen Areal vermutlich eine Teilkomponente des hyperechogenen Areals darstellt.

Der Hersteller weist explizit darauf hin, dass das Erkennen von unterschiedlichen Homogenitätsstufen in einem in B-Bild für das menschliche Auge homogen erscheinenden Areal eine Stärke des ASQ-Programms ist (67). Unserer Ansicht nach konnten wir ein ähnliches Phänomen beobachten. Wir nehmen an, dass der homogene Randsaum in ASQ eine Komponente des hyperechogenen Randsaums im B-Bild ist oder alternativ von letzterem im B-Bild überlagert wird. Eine mögliche Interpretation wäre, dass der homogene Randsaum in ASQ einem perifokalen Ödem entspräche. Die Überlagerung im B-Bild könnte dann möglicherweise den übrigen Komponenten der Mikroumgebung des Tumors zugeordnet werden. Dieser Erklärungsansatz passt auch zu unserer Beobachtung, dass der homogene Randsaum in ASQ mit zunehmender Tumorgröße kaum zunimmt, während das hyperechogene, perifokale Areal im B-Bild linear zur Tumorgröße auch an Fläche zunimmt. Die Invasivität des Tumors, wie sie

durch die Umgebungsreaktion in Form des hyperechogenen Halos abgebildet wird, steht in eindeutigen Zusammenhang zu der Größe des Tumors. Das umgebende Ödem hingegen ist zwar letztlich vermutlich Resultat eines Kapillarlecks, ausgelöst durch vermehrte vascular endothelial growth factor (VEGF)-Ausschüttung der mesenchymalen Stromazellen der Mikroumgebung und einer durch Mastzellen gesteigerte Permeabilität (68, 69), hat aber keine lineare Beziehung zu der Tumorgöße, sondern muss sich wahrscheinlich vielmehr wie ein schmaler Randsaum gleicher Breite um die Läsion vorgestellt werden (vergleiche hierzu Abbildung 20).

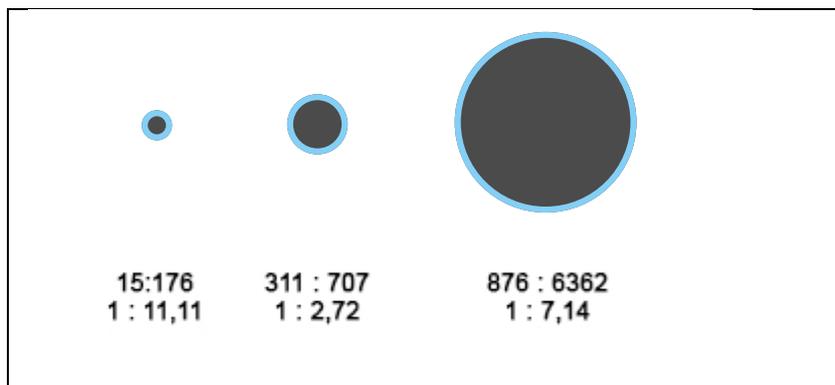


Abbildung 20: Schema maligner Läsionen mit schmalen Ödemsäumen gleichbleibender Breite und Angabe der jeweiligen Flächengrößen und -verhältnisse (Angabe der Halofläche immer zuerst, Bach/Hameister voraussichtlich 2019 (63)): Bei gleich bleibender Saumbreite wird die Fläche des Saums im Verhältnis zur Kreisfläche immer kleiner, je größer der Kreisdurchmesser wird. Dieses Modell könnte erklären, warum sich die Halo-Tumor-Ratio in ASQ umgekehrt proportional zur Tumorfläche verhielt.

Dass das Ödem sich letztlich nicht nach sonomorphologischen Kriterien als solches darstellt liegt vermutlich daran, dass es die Strukturen der Mikroumgebung umfließt und dadurch rein visuell eine ähnliche Ausdehnung erreicht. Festzuhalten ist aber, dass das Ödem abhängig von der Mikroumgebung des Tumors ist. Wir konnten diese Kausalitätenkette zwischen Mikroumgebung und Ödem wie sie von Korkaya et al. (68) oder Cammarota et al. (68, 69) beschrieben wird durch den in unserer Studie gefundenen linearen Zusammenhang zwischen beiden Halo-Tumor-Ratios stützen.

Darüber hinaus ist die Theorie, dass der homogene Randsaum in ASQ sonomorphologisches Korrelat eines perifokalen Ödems sei, kongruent zu dem Nachweis von Baltzer et al.. Die Autoren zeigten für das MRT, dass das perifokale Ödem signifikant mit malignen Befunden korreliert und selbst ein einseitiges Ödem mit malignen Prozessen assoziiert sei (70).

Die Tatsache, dass bei der Farbpixelauswertung des ASQ-Bildes größere Tumorfleichen berechnet wurden als im B-Bild könnte sogar ein Vorteil des ASQ-Verfahrens sein, da Gruber et al 2013 nachwiesen, dass die B-Bild-Sonographie die Größe invasiver Brusttumoren signifikant unterschätzt (71). Es ist möglich, dass das ASQ-Verfahren durch eine genauere Differenzierung zwischen perifokaler Zone und Tumor genauere Rückschlüsse auf die Tumorgröße erlaubt. Außerdem konnten wir zeigen, dass der homogene Randsaum in ASQ ein von der Tumorgröße unabhängiges Malignitätskriterium darstellt. Dadurch ist es vorstellbar, dass der homogenen Randsaum in ASQ gerade bei der Diagnose kleiner Tumore in Zukunft eine Rolle spielen könnte.

In der aktuellen Literatur wird stark die diagnostische und prognostische Aussagekraft der einzelnen sonomorphologischen Kriterien diskutiert. Costantini et al. haben mehrfach die Reliabilität der sonographischen Kriterien des BI-RADS IV-Katalogs bestätigt und dabei auch stets den hyperechogenen Randsaum als signifikantes Malignitätskriterium erwähnt (72, 73). Zu möglichen Korrelationen der hyperechogenen perifokalen Zone mit Prognosemarkern gibt es noch nicht viele Publikationen und vorliegende Arbeiten sind teils widersprüchlich. Für eine Validierung der perifokalen Zone als diagnostisches Kriterium für Malignität ist jedoch auch die Korrelation mit histopathologischen Markern wichtig. Beispielsweise für die therapeutische Entscheidungsfindung ist die Bestimmung des Hormonrezeptorstatus und der HER2/neu-Expression, aber auch des Proliferationsmarkes Ki-67 notwendig. Aufgrund dieser Eigenschaften werden die Tumoren in die auch prognostisch relevanten Subgruppen, unter anderem in Luminal A, Luminal B und triple-negativ, unterteilt (74, 75). Wünschenswert wäre ein bildmorphologisches Korrelat dieser Untergruppen, um Diagnostik und Kontrolluntersuchungen zu erleichtern. Da unserer Meinung nach der Halo ein bildmorphologisches Korrelat für das invasive Tumorstwachstum darstellt, genauer gesagt, der von uns detektierte homogene Randsaum in ASQ einem perifokalen Ödem und der hyperechogene Halo im B-Bild beispielsweise der spezifischen Mikroumgebung entsprechen könnten, wäre auch ein Zusammenhang zu den prognostisch relevanten Subgruppen denkbar. In unserer Studie erfolgte jedoch keine direkte Korrelation mit den Subgruppen, sondern lediglich eine Korrelation mit den einzelnen Hormonrezeptoren, dem HER2/neu-Status und Ki-67 unter Einsatz des MIB1-Antikörpers. Rückschlüsse auf die Subgruppen lassen sich

daher allenfalls indirekt ziehen. In unserer Studie konnten wir weder einen Zusammenhang zwischen Hormonrezeptorstatus, noch zwischen HER2/neu-Expression oder Proliferationsrate und einem hyperechogenen oder homogenen Randsaum nachweisen. Für unsere Studie lässt sich sagen, dass sowohl der homogene als auch der hyperechogene Randsaum ein von den histochemischen Subgruppen unabhängiges Malignitätskriterium ist. Unsere Ergebnisse reihen sich damit in die Forschungsergebnisse von Kim et al., die für Hormonrezeptorbesatz und HER2/neu-Expression auch keine signifikante Korrelation mit dem sonomorphologischen Kriterium des Halos zeigen konnten (76). Im Gegensatz dazu gibt es aber auch Forschungsarbeiten, die bei Hormonrezeptorbesatz signifikant häufiger hyperechogene Randsäume nachweisen beziehungsweise triple-negative Tumore mit fehlenden Halos assoziieren konnten (77-79).

Es zeigen sich jedoch auch hier Einschränkungen. So waren bei Zhang et al. Luminal A-Tumore (Hormonrezeptor-positive und HER2/neu-negative Tumore mit niedriger Ki-67-Rate) mit dem Halo-Kriterium assoziiert, während Luminal B-Tumore (Hormonrezeptor-positive und HER2/neu-negative Tumore mit hoher Ki-67-Rate), die sich von Luminal A-Tumoren nicht etwa durch den Hormonrezeptorstatus, sondern lediglich durch die Wachstumsfraktion unterscheiden, nicht signifikant häufiger hyperechogene Randzonen aufwiesen. (78) Allerdings gibt es auch dazu widersprüchliche Arbeiten, die beispielsweise Triple-negative Tumore mit einem perifokalen Randsaum in Verbindung bringen (80, 81).

Die Anzahl an Arbeiten, die jenseits der Subgruppenanalyse einen Zusammenhang zwischen dem Proliferationsindex Ki-67 und sonomorphologischen Kriterien suchen, ist rar. Aktuell beschrieben Costantini et al. für ihre Studienpopulation auf nicht signifikantem Level für höhere Proliferationsindizes seltenere Assoziation zu perifokalen hyperechogenen Zonen (79). Der Vergleich zwischen bildmorphologischen Kriterien und dem Proliferationsindex ist für die Magnetresonanztomographie geläufiger. Hier zeigt sich analog zu den Ergebnissen unserer Studie kein Einfluss der Proliferationsrate auf das Kontrastmittelverhalten des Tumors oder der Tumorumgebung (82, 83). Da wir davon ausgehen, dass der homogene Randsaum in ASQ einem Ödem entspricht und die hyperechogene Zone im B-Bild womöglich der Mikroumgebung des Tumors, scheint dieser Vergleich mit Studien zum perifokalen Ödem in der MR-Mammographie durchaus gerechtfertigt.

Auch bezüglich einer Assoziation der hyperechogenen perifokalen Zone zum Grading eines Tumors ist die Studienlage nicht eindeutig. Kim et al. gelang beispielsweise der Nachweis eines signifikanten Unterschieds zwischen Grad 1- beziehungsweise 2- und Grad 3- Tumoren. In ihrer Studie wiesen die am schlechtesten differenzierten Tumoren (Grad 3) seltener einen hyperechogenen Randsaum auf (76). Diese Beobachtung konnten auch Costantini et al. kürzlich reproduzieren (79). Es liegen aber auch aktuelle Forschungsergebnisse vor, die keinen Zusammenhang zwischen Grading und dem sonomorphologischen Kriterium des hyperechogenen Halos nachweisen konnten und damit konform zu unserer Arbeit sind (77, 84).

Watermann et al. beschäftigten sich zudem mit dem Einfluss von Alter, T-Stadium beziehungsweise Tumorgöße und axillärem Lymphknoten- beziehungsweise N-Status auf die BI-RADS-IV-Kriterien. Die Ausprägung eines Halos zeigte sich in ihrer Studie von diesen Prognosefaktoren gänzlich unbeeinflusst (84). Auch Marquet et al. konnten zeigen, dass der echodichte Randsaum unabhängig der Tumorgöße signifikant häufiger bei malignen Befunden beobachtet werden kann (53). Die Ergebnisse dieser beiden Studien harmonieren mit unseren Daten, die auch keinen Zusammenhang zwischen T-Stadium, Tumorgöße, Lymphknotenstatus oder Patientenalter und der hyperechogenen beziehungsweise homogenen perifokalen Zone aufwiesen. Auch Wojcinski et al. fanden keinen Zusammenhang zwischen T- oder N-Stadium und hyperechogenem Halo, gleichwohl beobachteten sie aber, dass ein hyperechogener Randsaum häufiger bei älteren Patienten (älter 50 Jahre beziehungsweise älter 60 Jahre) auftrat (79). Der Mittelwert des Patientenalters unserer Studienpopulation war 59.49 Jahre. Es könnte also ein Selektionsbias vorliegen. Diese Beobachtung wäre eine Erklärung, warum wir keine Korrelation zum Alter der Patienten reproduzieren konnten. Gleichwohl muss man sagen, dass dieser Zusammenhang nicht gesichert ist und auch gegenteilige Beobachtungen vorliegen (84). Fraglich ist auch, ob es sich bei dem Einflussfaktor wirklich um das Alter selbst oder vielmehr um den Punkt der im jüngeren Alter vorherrschenden familiären Mammakarzinome, denen Genmutationen zugrunde liegen, handelt. Auch scheint sich der Bias für die übrigen Punkte unserer Studie zu relativieren, da unsere Beobachtungen mit bereits publizierte Ergebnisse korrelieren. Dennoch scheint es empfehlenswert in einer nächsten Studie auch einen größeren Anteil jüngerer Patientinnen unter 50 Jahren aufzunehmen.

Del Frate et al. zeigten, dass für Tumore kleiner als 7mm die Beurteilbarkeit als benigne oder maligne durch gängige Ultraschallkriterien eingeschränkt sei (85). Unsere Arbeit ist jedoch nicht direkt vergleichbar, da sich die Studiengruppe um Del Frate in ihrer Studie nicht auf den hyperechogenen Randsaum, sondern auf eine sonographisch nachgewiesene oder fehlende Pseudokapsel konzentrierte (85). In unserer Arbeit konnte kein signifikanter Zusammenhang zur Tumorgöße reproduziert werden. Im Gegenteil schien der Halo im ASQ-Bild sogar noch geeigneter als Kriterium bei kleinen Tumoren.

In unserer Studie konnte kein Nachweis über eine Korrelation der Tumorart, also von invasiv lobulären oder NST-Tumoren, mit einer hyperechogenen bzw. homogenen perifokalen Zone erbracht werden. Unser Ergebnis schließt sich in diesem Punkt den Beobachtungen von Wojcinski et al. an.(77)

Ein großer Unterschied zwischen unserer Studie und allen zitierten Studien besteht in zwei Punkten:

1. Wir hatten nicht nur in „Halo vorhanden“ und „Halo nicht vorhanden“, beziehungsweise „unsicher vorhanden“ kategorisiert, sondern die Fläche der perifokalen Zone um malignen Raumforderungen für beide Darstellungsmethoden exakt berechnet und dann
2. Wir hatten die Fläche der perifokalen Zone zu der Fläche des Tumors in seiner größten Ausdehnung in Verhältnis gesetzt und jede weitere statistische Analyse mit dieser Ratio durchgeführt.

Die dadurch erzielte Genauigkeit und Biasreduktion sehen wir als große Stärke unseres Studiendesigns. Dennoch sollte in einer Folgestudie vergleichend auch die direkte Korrelation der Halofläche und eventuell auch Halobreite mit den Prognosemarkern erfolgen.

Allgemein wird eine Lymphangiainvasion als ein früher, essentieller Schritt auf dem Weg vom invasiven Karzinom zum metastasierenden Karzinom erachtet. Gujam et al. verfassten ein systematisches Review aus Daten von Publikationen datierend von 1964, dem Erscheinungsjahr des ersten Nachweises der prognostischen Aussagekraft einer Lymphangiainvasion, bis 2012. Sie legten dar, dass Lymphangiainvasion unabhängig vom T-Stadium oder vom Lymphknotenbefall mit einer schlechten

Prognose einhergeht. Auch eine Lymphangiainvasion ohne Lymphknotenbefall ist mit einer negativen Prognose assoziiert. (86) In unserer Studie zeigten nur wenige Tumore (14%) eine Lymphangiainvasion. Für diese kleine Fallzahl ließ sich ein fast signifikanter ($p = .051$) positiver Zusammenhang zwischen der Lymphangiainvasion und dem homogenen Randsaum im ASQ-Bild herstellen. Für maligne Läsionen mit Lymphangiainvasion war das Verhältnis von perifokaler, in ASQ homogener Fläche zu Tumorfläche größer ausgefallen als für Befunde ohne Lymphangiainvasion. Auch bei der Darstellung der Aussagekraft erhöhter Halo-Werte bei der Vorhersage einer Lymphangiainvasion in einer ROC-Kurve zeigte sich eine höhere Güte der Vorhersage im ASQ-Bild als im B-Bild. Beide Trennschärfen waren jedoch nicht signifikant. Sowohl eine Hypothesentestung mit dem Mann-Whitney-U-Test als auch eine Chi-Quadrat-Testung nach Cut-Off-Wert-Setzung bestätigten, dass letztlich in unserer Studienpopulation sowohl für B-Bild als auch für das ASQ-Bild die Größe der Halo-zu-Tumor-Ratios für Lymphangiainvasion und fehlende Lymphangiainvasion gleich verteilt waren. Letztlich relativierte diese weitere statistische Untersuchung zwar den zuvor angenommenen Trend, aber es besteht die Möglichkeit, dass eine größere Fallzahl für beide Methoden mögliche Zusammenhänge besser beleuchten könnte. Außerdem befindet sich dieser nicht signifikante Trend dennoch in Einklang mit anderen aktuellen Studien. Es gelang etwa zu zeigen, dass in der Kernspintomographie dargestellte Tumore mit präpektorialem Ödem in T2W-Sequenzen mit höherer Wahrscheinlichkeit eine Lymphangiainvasion aufweisen (87). Durmus et al. konnten in einer vergleichenden Studie des perifokalen Ödems im MRT mit dem hyperechogenen Randsaum in der Mammasonographie zwar keine Übereinstimmung der beiden perifokalen Flächen nachweisen, dafür jedoch für beide Randzonen bei größeren Werten eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für Lymphangiainvasion aufzeigen (88). Für die hyperechogene perifokale Zone im B-Bild ließ sich in unserer Studie zwar kein derartiger Trend ausmachen, jedoch für die homogene Randzone in ASQ, bei der wir von einem Korrelat für ein perifokales Ödem ausgehen. Außerdem ist es möglich, dass unsere Ergebnisse durch einen Selektionsbias aufgrund des hohen Durchschnittsalters der Studienpopulation überlagert wurden und sich deswegen die Ergebnisse von Durmus et al. nicht reproduzieren ließen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass sowohl die von uns beschriebene homogene perifokale Zone in ASQ als auch die hyperechogene perifokale Zone im B-Bild von histopathologischen und prognostischen Markern größtenteils unabhängige Malignitätskriterien darstellen. Ein möglicher Trend ließ sich in unseren Daten für einen positiven Zusammenhang zwischen Lymphangiainvasion und einer in ASQ homogen zur Darstellung kommenden perifokalen Zone ablesen. Größere Fallzahlen sind hier zur Bestätigung von Nöten. Auf Grundlage unserer Daten ist von einer eingeschränkten prognostischen Bedeutung des homogenen und des hyperechogenen Halos auszugehen. Dementsprechend scheint auch die Validität des Halokriteriums beeinträchtigt. Darüber hinaus erschwert die größtenteils fehlende Korrelation zu den Markern weitere Rückschlüsse auf das für das Halophänomen verantwortliche organische Korrelat. Die diagnostische Bedeutung soll im Folgenden diskutiert werden.

Die Geburtsstunde des hyperechogenen Randsaums war bedingt durch die neue Möglichkeit, Echogenität in Graustufen und nicht mehr nur schwarz-weiß darzustellen. 1976 schlugen Kossoff et al. erstmals vor, zur Dignitätsbestimmung von Brustläsionen im Zweifelsfall auch das Schallverhalten der Randzone hinzuzuziehen, welche sie bei benignen Raumforderungen als komprimiert und bei malignen als reaktiv bezeichneten (66).

Kasumi et al. sprachen 1982 erstmalig bei durch die Invasivität des Tumors verursachten, spikulierten Randzonenechos von einem malignen Halo. Richtigerweise beschrieben sie aber auch, dass, obgleich sie den Begriff „Halo“ gewählt hatten, es sich eher um hyperechogene Flächen vor allem anterior und lateral der Läsion handle. (48)

1985 validierten Teubner et al. in einer prospektiven Studie mit 452 Patientinnen die diagnostische Wertigkeit der Mammasonographie in Real-Time-Technik. Dabei nutzten sie auch die Umgebungsreaktion als Schallkriterium zur Beurteilung von soliden Raumforderungen. In dieser Kategorie wurde zwischen dem „Kapselcho“, einer schmalen, hyperreflexiven Sichel, bevorzugt anterior und posterior der Läsion als Zeichen der Benignität zu finden, und dem „echodichten Randsaum“, der unscharfen hyperreflexiven Tumorperipherie als Malignitätskriterium unterschieden. Die Arbeit konnte bei 79% der unscharf begrenzten Karzinome mit geringem oder mittlerem Bindegewebsgehalt, hauptsächlich bei invasiv duktalem Tumoren, einen hyperechogenen Randsaum nachweisen, der maßgeblich zu Diagnose und

Diagnosesicherheit beitrug. Auch 71% der strahlig begrenzten Tumore mit hohem Bindegewebsgehalt, zu dem beispielsweise szirrhöse Karzinome zählten, wiesen einen hyperechogenen Randsaum auf. Insgesamt trat der echodichte Randsaum bei 71% der malignen Läsionen und lediglich 8% der benignen Raumforderungen auf und erwies sich damit in dieser Studie als das zuverlässigste Malignitätskriterium. (49) Auch Marquet et al. kamen 2002 zu dem Schluss, dass der hyperechogene Randsaum das wichtigste Kriterium der Malignität sei (53). Anfang der 1990'er Jahre hatte sich die Studiengruppe um Marquet schon intensiv mit dem Randzonenverhalten bei benignen und malignen Raumforderungen beschäftigt. Sie stützten die Idee aus der Erstbeschreibung, indem sie zeigten, dass die als benigne geltende Verdrängungszone signifikant öfter bei benignen Befunden und der hyperechogene Randsaum als Korrelat der Umgebungsreaktion auf invasive Tumore auch signifikant öfter bei malignen Läsionen vorkam (56, 89).

Die beschriebenen Beobachtungen konnten wir auch in unserer Studie nachvollziehen, obgleich im Gegensatz zu den oben genannten Studien bei uns lediglich die histologisch nachgewiesenen malignen Raumforderungen mit Halo im Fokus standen. Sowohl im B-Bild als auch im ASQ-Bild zeigte sich ein maligner Halo, der jedoch weniger ringförmig als vielmehr als ungleichmäßig verteiltes, sich diskontinuierlich im Randbereich, dabei bevorzugt anterior und lateral der Läsion erstreckendes, flächiges Areal zur Darstellung kam. Dabei zeigte der Halo im B-Bild hyperechogene, im ASQ-Bild homogene Eigenschaften. Wir denken, dass die Homogenität im ASQ-Bild Ausdruck des umgebenden Ödems ist. Durch die farbkodierte Darstellung von Homogenität im ASQ-Bild ist der Halo hier als blaues, perifokales Areal auch für Ungeübte noch leichter zu erkennen, was wiederum die Reproduzierbarkeit der Methode erhöht.

Im Gegensatz dazu konnten wir in ASQ einen schmalen, roten, eher ringförmigen Randsaum um benigne Tumore beobachten und sehen hierin ein Korrelat zu dem in der Literatur beschriebene Kapselecho als Zeichen der Verdrängung bei benignen Tumoren (49, 66, 89). Die rote Farbe in ASQ zeigt starke Inhomogenität an, welche ihr morphologisches Korrelat in den verdrängten, zusammengestauten, unterschiedlichen Komponenten des umgebenden Gewebes haben mag.

Da im ASQ-Modus das unterschiedliche Randzonenverhalten von benignen und malignen Raumforderungen noch eindeutiger zur Darstellung kommt, ließen wir

Studierende nach dem zweiten Staatsexamen, aber ohne besondere Vorkenntnisse in der Mammadiagnostik, Brustläsionen im B-Bild und im ASQ-Bild in bös- und gutartig unterteilen und befragten sie zu Halosichtbarkeit und zu ihrer subjektiven Sicherheit bei der Diagnosestellung. Dabei zeigte sich, dass sowohl Sensitivität als auch Spezifität, sowie positiver und negativer Vorhersagewert für das ASQ-Bild deskriptiv besser waren. Zudem waren Halosichtbarkeit und Diagnosesicherheit bei beiden Methoden signifikant unterschiedlich bewertet worden. Wie vermutet fiel es den Studierenden leichter, im ASQ-Bild das Halozeichen zu erkennen als im B-Bild. Da bei benignen Tumoren in der Regel kein Halozeichen auffällig war, war hier auch die Halosichtbarkeit für beide Methoden ähnlich. Außerdem fühlten sich die Studierenden bei der Beurteilung der ASQ-Bilder in ihrer Entscheidung deutlich sicherer. Da die interindividuelle Selbsteinschätzung jedoch recht breit gestreut war, zeigte sich lediglich ein zufälliger Zusammenhang zwischen Sicherheit bei der Diagnose und Malignitätsbeurteilung. Die Halosichtbarkeit hingegen zeigte einen deutlich positiven Einfluss auf die Vorhersagegenauigkeit von malignen Befunden und die bessere Sichtbarkeit des Halos im ASQ-Bild verbesserte auch die diagnostische Aussagekraft.

Wir sehen mit unseren Ergebnissen die Aussage der Arbeitsgruppen von Teubner (49) und Marquet (53, 56, 89, 90) bekräftigt, dass der hyperechogene Randsaum ein wichtiges Malignitätskriterium sei und sein Vorhandensein eindeutig für Malignität spräche. Das neue Verfahren der Homogenitätsdarstellung im ASQ-Modus scheint eine Verfeinerung darzustellen, die die Aussagekraft des Halophänomens zusätzlich erhöht. Die Darstellung der Homogenität der Randzonen von benignen und malignen Befunden im ASQ-Bild konnte zudem die These stützen, dass es bei malignen Tumoren zu einer Umgebungsreaktion unter anderem mit einem perifokalen Ödem kommt, während sich um benigne Tumore eine verdichtete Verdrängungszone darstellt.

Der ASQ-Modus ist ursprünglich für die Leberdiagnostik entwickelt worden und basiert auf einer statistischen Prozessierung der Rohdaten ausgehend von der Annahme, dass das Normalgewebe eine Rayleigh-Verteilung aufweise (61). Auch die Streustrahlung aus Brustgewebe nähert sich einer Rayleigh-Verteilung an (91, 92), besser wird sie jedoch vor allem bei verändertem Gewebe, wie es bei Tumoren der Fall ist, durch nicht-Rayleigh-Verteilungen, wie etwa die K-Verteilung (92, 93) oder die Nakagami-Verteilung (94), abgebildet. Shankar et al. schlugen 1993 erstmals die

Nutzung von nicht-Rayleigh-statistischen Verfahren gepaart mit sonographischen Methoden zur Diagnostik von Mammaläsionen vor (93). Auch Ito et al. konnten 2005 den Nutzen einer statistisch gekoppelten Bildgebung belegen (95). Ebenso konnten wir in unserer Studie einen zusätzlichen Nutzen durch die farbkodierte Darstellung der statistischen Analyse der Rohdaten im ASQ-Programm vorführen. Wir hielten aufgrund der Datenlage die Verwendung eines auf einer Rayleigh-Verteilung-basierenden Programms wie ASQ für gerechtfertigt. Ein großer Vorteil und Novum des ASQ-Modus ist die Möglichkeit der Darstellung in Form eines parametrischen Bildes. Eine Limitation unserer Arbeit lag jedoch im retrospektiven Design. Eine brustspezifische Anpassung der in ASQ verwendeten Algorithmen beispielsweise durch das Zugrundelegen einer K-Verteilung könnte die sonographische Diagnostik der Mamma weiter verfeinern und so neue Möglichkeiten eröffnen und sollte Inhalt weiterer, prospektiver Studien werden.

Eine große Stärke der Studie lag in der genauen Ausmessung der Flächen. Einen systematischen Fehler durch Verwendung unterschiedlicher Algorithmen in ImageJ versuchten wir durch das Arbeiten mit Verhältnissen zu minimieren. Gleichwohl zeigte sich ein systematischer Fehler in der Analyse des ASQ-Bildes im Vergleich zum B-Bild. Wir folgerten, dass die dargestellten Halos unterschiedliche morphologische Korrelate besäßen. Dabei gingen wir davon aus, dass der homogene Halo im ASQ-Bild einem perifokalen Ödem entspräche. Bei der Korrelation mit therapeutisch und prognostisch relevanten Parametern ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge, was zumindest teilweise die derzeitige Studienlage widerspiegelt. Ein positiver Trend wäre für Lymphangiainvasion denkbar. Weitere Studien zur Verifizierung müssten hier folgen. Für eine erneute Korrelation mit Prognosefaktoren wäre es ratsam, auch annähernd gleich viele jüngere Patientinnen unter 50 Jahren in eine Folgestudie mit einzubeziehen und die einzelnen Untergruppen der Parameter gleichmäßiger vertreten zu haben. In einer Folgestudie sollte man auch zusätzlich zu den Ratios aus Halo- zu Tumorfläche die Haloflächen selbst mit den Markern korrelieren. Außerdem wäre es interessant, den perifokalen, homogenen, durch ASQ quantifizierbaren Randsaum mit dem perifokalen Ödem im MRT zu korrelieren, um unsere erarbeitete These zu stützen. Wir glauben, dass der homogene Halo im ASQ-Bild von großer diagnostischer Bedeutung ist und gerade unerfahrenen Untersuchern die Diagnose erleichtern könnte, und so die diagnostische Sicherheit, insbesondere

auch bei der Diagnose kleiner Läsionen verbessert. Außerdem bietet der ASQ-Modus die Möglichkeit einer genauen Quantifizierung des Halos und birgt großes Potenzial für die Standardisierung der mammasonographischen Untersuchung, aber auch für die Anwendung in CAD-Systemen (computer-aided diagnosis). Im Gegensatz zum MRT wäre die Untersuchung schneller zugänglich und könnte durch den ASQ-Modus auch weniger untersucherabhängig bzw. in CAD-Systemen genutzt werden. Eine brustspezifische Anpassung der statistischen Grundlagen des ASQ-Programms könnte den Diagnose- und Prognosewert zusätzlich steigern. Weitere Forschung in diese Richtung wie etwa eine Folgestudie mit Korrelation zum MRT halten wir deswegen für sinnvoll.

Literaturverzeichnis

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed 25/08/2014 (letzter Zugriff am 25.08.2014, 12:19 Uhr).
2. McCormack VA, Boffetta P. Today's lifestyles, tomorrow's cancers: trends in lifestyle risk factors for cancer in low- and middle-income countries. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2011;22(11):2349-57.
3. Robert Koch-Institut (Hrsg) (2011) Sterblichkeit, Todesursachen und regionale Unterschiede. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Heft 52. RKI, Berlin.
4. Krebs in Deutschland 2009/2010. 9. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Berlin, 2013.
5. RKI zu Brustkrebssterblichkeit im EU-Vergleich Berlin: Robert Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister Deutschland e.V.; 2012 [Available from: <http://www.rki.de/Krebs/DE/Content/ZfKD/Aktuelles/Brustkrebsmortalitaet.html> (letzter Zugriff: 17.06.2014, 11:11 Uhr).
6. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of Breast Diseases. Breast cancer - epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ*. 2000;321:624-8.
7. Fasching PA, Ekici AB, Wachter DL, Hein A, Bayer CM, Haberle L, Loehberg CR, Schneider M, Jud SM, Heusinger K, Rubner M, Rauh C, Bani MR, Lux MP, Schulz-Wendtland R, Hartmann A, Beckmann MW. Breast Cancer Risk - From Genetics to Molecular Understanding of Pathogenesis. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 2013;73(12):1228-35.
8. Albert U.S., und die Mitglieder der Planungskommission und Arbeitsgruppenleiter der Konzertierte(n) Aktion Brustkrebs-Frü herkennung in Deutschland. Stufe-3-Leitlinie Brustkrebs-Frü herkennung in Deutschland, 1. Aktualisierung 2008. München: Zuckschwerdt Verlag, 2008.

9. Ford D, Easton DF, Stratton M, Narod S, Goldgar D, Devilee P, Bishop DT, Weber B, Lenoir G, Chang-Claude J, Sobol H, Teare MD, Struewing J, Arason A, Scherneck S, Peto J, Rebbeck TR, Tonin P, Neuhausen S, Barkardottir R, Eyfjord J, Lynch H, Ponder BA, Gayther SA, Zelada-Hedman M, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *American journal of human genetics*. 1998;62(3):676-89.
10. Ligtenberg MJ, Hogervorst FB, Willems HW, Arts PJ, Brink G, Hageman S, Bosgoed EA, Van der Looij E, Rookus MA, Devilee P, Vos EM, Wigbout G, Struycken PM, Menko FH, Rutgers EJ, Hoefsloot EH, Mariman EC, Brunner HG, Van 't Veer LJ. Characteristics of small breast and/or ovarian cancer families with germline mutations in BRCA1 and BRCA2. *British journal of cancer*. 1999;79(9-10):1475-8.
11. Ford D, Easton DF. The genetics of breast and ovarian cancer. *British journal of cancer*. 1995;72(4):805-12.
12. Zuckerman NS, Yu H, Simons DL, Bhattacharya N, Carcamo-Cavazos V, Yan N, Dirbas FM, Johnson DL, Schwartz EJ, Lee PP. Altered local and systemic immune profiles underlie lymph node metastasis in breast cancer patients. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2013;132(11):2537-47.
13. Jeong JH, Jo A, Park P, Lee H, Lee HO. Brca2 Deficiency Leads to T Cell Loss and Immune Dysfunction. *Molecules and cells*. 2015.
14. Ma X-J, Dahiya S, Richardson E, Erlander M, Sgroi DC. Gene expression profiling of the tumor microenvironment during breast cancer progression. *Breast Cancer Research : BCR*. 2009;11(1):R7-R.
15. Hu M, Yao J, Carroll DK, Weremowicz S, Chen H, Carrasco D, Richardson A, Violette S, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Bauerlein EL, Hahn WC, Gelman RS, Allred C, Bissell MJ, Schnitt S, Polyak K. Regulation of In Situ to Invasive Breast Carcinoma Transition. *Cancer cell*. 2008;13(5):394-406.
16. Arnold KM, Opdenaker LM, Flynn D, Sims-Mourtada J. Wound Healing and Cancer Stem Cells: Inflammation as a Driver of Treatment Resistance in Breast Cancer. *Cancer Growth and Metastasis*. 2015;8:1-13.

17. Dvorak HF. Tumors: Wounds That Do Not Heal. *New England Journal of Medicine*. 1986;315(26):1650-9.
18. Singletary SE, Allred C, Ashley P, Bassett LW, Berry D, Bland KI, Borgen PI, Clark G, Edge SB, Hayes DF, Hughes LL, Hutter RVP, Morrow M, Page DL, Recht A, Theriault RL, Thor A, Weaver DL, Wieand HS, Greene FL. Revision of the American Joint Committee on Cancer Staging System for Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2002;20(17):3628-36.
19. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19(5):403-10.
20. Bloom HJG, Richardson WW. Histological Grading and Prognosis in Breast Cancer: A Study of 1409 Cases of which 359 have been Followed for 15 Years. *British journal of cancer*. 1957;11(3):359-77.
21. Lakhani S EI, Schnitt S, et al. WHO Classification of Tumours of the Breast. 4 ed. Lyon: IARC Press; 2012.
22. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, Miller D, Altekruse SF, Kosary CL, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2011, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2011/, based on November 2013 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2014. (letzter Zugriff 10.März 2015, 14:53 Uhr). In: Cases) BCDBHIS, editor.
23. Harbeck N, Thomssen C, Gnant M. St. Gallen 2013: Brief Preliminary Summary of the Consensus Discussion. *Breast Care*. 2013;8(2):102-9.
24. Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms. Langversion 30, Aktualisierung 2012 [Internet]. 2012 06.03.2015. Available from: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/032-045OL_I_S3__Brustkrebs_Mammakarzinom_Diagnostik_Therapie_Nachsorge_2012-07.pdf (letzter Zugriff: 6.März 2015, 9:20 Uhr).
25. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, Senn HJ, André F, Baselga J, Bergh J, Bonnefoi H, Burstein H, Cardoso F, Castiglione-Gertsch M, Coates AS, Colleoni M, Curigliano G, Davidson NE, Di Leo A, Ejlertsen B, Forbes JF, Galimberti V, Gelber RD, Gnant M, Goldhirsch A, Goodwin P, Harbeck N, Hayes DF, Huober J, Hudis CA, Ingle

- JN, Jassem J, Jiang Z, Karlsson P, Morrow M, Orecchia R, Kent Osborne C, Partridge AH, de la Peña L, Piccart-Gebhart MJ, Pritchard KI, Rutgers EJT, Sedlmayer F, Semiglazov V, Shao Z-M, Smith I, Thürlimann B, Toi M, Tutt A, Viale G, von Minckwitz G, Watanabe T, Whelan T, Winer EP, Xu B. Tailoring therapies—improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Annals of Oncology*. 2015;26(8):1533-46.
26. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987;235(4785):177-82.
27. Andrulis IL, Bull SB, Blackstein ME, Sutherland D, Mak C, Sidlofsky S, Pritzker KP, Hartwick RW, Hanna W, Lickley L, Wilkinson R, Qizilbash A, Ambus U, Lipa M, Weizel H, Katz A, Baida M, Mariz S, Stoik G, Dacamara P, Strongitharm D, Geddie W, McCready D. neu/erbB-2 amplification identifies a poor-prognosis group of women with node-negative breast cancer. Toronto Breast Cancer Study Group. *Journal of Clinical Oncology*. 1998;16(4):1340-9.
28. Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, Sklarin NT, Seidman AD, Hudis CA, Moore J, Rosen PP, Twaddell T, Henderson IC, Norton L. Phase II study of weekly intravenous trastuzumab (Herceptin) in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *Seminars in oncology*. 1999;26(4 Suppl 12):78-83.
29. Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, Sklarin NT, Seidman AD, Hudis CA, Moore J, Rosen PP, Twaddell T, Henderson IC, Norton L. Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1996;14(3):737-44.
30. Inwald EC, Ortmann O, Zeman F, Koller M, Hofstadter F, Gerstenhauer M, Klinkhammer-Schalke M. Guideline concordant therapy prolongs survival in HER2-positive breast cancer patients: results from a large population-based cohort of a cancer registry. *BioMed research international*. 2014;2014:137304.

31. AGO Breast Committee. Diagnosis and Treatment of Patients with Primary and Metastatic Breast Cancer. Recommendations 2015. www.ago-online.de (letzter Zugriff: 1. Juli 2016, 17:52 Uhr).
32. Bundred NJ. Prognostic and predictive factors in breast cancer. *Cancer Treatment Reviews*. 2001;27(3):137-42.
33. Fisher ER, Redmond C, Fisher B, Bass G. Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast and bowel projects (NSABP) prognostic discriminants for 8-year survival for node-negative invasive breast cancer patients. *Cancer*. 1990;65(S9):2121-8.
34. Kolb TM, Lichy J, Newhouse JH. Comparison of the Performance of Screening Mammography, Physical Examination, and Breast US and Evaluation of Factors that Influence Them: An Analysis of 27,825 Patient Evaluations. *Radiology*. 2002;225(1):165-75.
35. Lehman CD, Blume JD, Weatherall P, Thickman D, Hylton N, Warner E, Pisano E, Schnitt SJ, Gatsonis C, Schnall M, for the International Breast MRICWG. Screening women at high risk for breast cancer with mammography and magnetic resonance imaging. *Cancer*. 2005;103(9):1898-905.
36. Baltzer PA, Benndorf M, Dietzel M, Gajda M, Runnebaum IB, Kaiser WA. False-positive findings at contrast-enhanced breast MRI: a BI-RADS descriptor study. *AJR American journal of roentgenology*. 2010;194(6):1658-63.
37. Benndorf M, Baltzer PA, Vag T, Gajda M, Runnebaum IB, Kaiser WA. Breast MRI as an adjunct to mammography: Does it really suffer from low specificity? A retrospective analysis stratified by mammographic BI-RADS classes. *Acta radiologica*. 2010;51(7):715-21.
38. Marinovich ML, Macaskill P, Irwig L, Sardanelli F, Mamounas E, von Minckwitz G, Guarneri V, Partridge SC, Wright FC, Choi JH, Bhattacharyya M, Martincich L, Yeh E, Londero V, Houssami N. Agreement between MRI and pathologic breast tumor size after neoadjuvant chemotherapy, and comparison with alternative tests: individual patient data meta-analysis. *BMC Cancer*. 2015;15:662.
39. Sedgwick E, Ebuoma L, Hamame A, Phalak K, Ruiz-Flores L, Ortiz-Perez T, Sepulveda K. BI-RADS update for breast cancer caregivers. *Breast Cancer Res Treat*. 2015;150(2):243-54.

40. Mendelson EB BJ, Wendie AB, Merritt CRB, Rubin E. Breast Imaging and Reporting System – Ultraschall. In: Fischer U HT, editor. ACR BI-RADS® Illustrierte Anleitung zur einheitlichen Befunderstellung von Mammographie, Mammasonographie, MR Mammographie Deutsche Ausgabe des Breast Imaging and Reporting Data System (BI-RADS®) des American College of Radiology (ACR). 2 ed. Berlin: Deutsche Röntgengesellschaft (DRG), Österreichische Röntgengesellschaft (ÖRG); 2006.
41. Madjar H, Ohlinger R, Mundinger A, Watermann D, Frenz JP, Bader W, Schulz-Wendtland R, Degenhardt F. [BI-RADS-analogue DEGUM criteria for findings in breast ultrasound--consensus of the DEGUM Committee on Breast Ultrasound]. *Ultraschall Med.* 2006;27(4):374-9.
42. Madjar H, Ohlinger R, Mundinger A, Watermann D, Frenz JP, Bader W, Schulz-Wendtland R, Degenhardt F. BI-RADS-analogue DEGUM criteria for findings in breast ultrasound--consensus of the DEGUM Committee on Breast Ultrasound. *Ultraschall Med.* 2006;27.
43. Wild JJ, Neal D. USE OF HIGH-FREQUENCY ULTRASONIC WAVES FOR DETECTING CHANGES OF TEXTURE IN LIVING TISSUES. *The Lancet.* 1951;257(6656):655-7.
44. Wild JJ, Reid JM. Further Pilot Echographic Studies on the Histologic Structure of Tumors of the Living Intact Human Breast. *The American Journal of Pathology.* 1952;28(5):839-61.
45. Wild JJ, Reid JM. Echographic Visualization of Lesions of the Living Intact Human Breast. *Cancer research.* 1954;14(4):277.
46. Kossoff G. Ultrasonic visualization of the uterus, breast and eye by grey scale echography. *Proceedings of the Royal Society of Medicine.* 1974;67(2):135-40.
47. Jellins J, Kossoff G, Reeve TS, Barraclough BH. Ultrasonic grey scale visualization of breast disease. *Ultrasound in medicine & biology.* 1975;1(4):393-404.
48. Kasumi F, Fukami A, Kuno K, Kajitani T. Characteristic echographic features of circumscribed cancer. *Ultrasound in medicine & biology.* 1982;8(4):369-75.
49. Teubner J, van Kaick G, Junkermann H, Pickenhan L, Wesch H, Eggert-Kruse W, Muller A, Tschahargane C, von Fournier D, Kubli F. [5MHz realtime

- sonography of the breast. 2. Examination technic and diagnostic value]. *Radiologe*. 1985;25(10):457-67.
50. Garra BS, Cespedes EI, Ophir J, Spratt SR, Zuurbier RA, Magnant CM, Pennanen MF. Elastography of breast lesions: initial clinical results. *Radiology*. 1997;202(1):79-86.
 51. Berg WA, Cosgrove DO, Doré CJ, Schäfer FKW, Svensson WE, Hooley RJ, Ohlinger R, Mendelson EB, Balu-Maestro C, Locatelli M, Tourasse C, Cavanaugh BC, Juhan V, Stavros AT, Tardivon A, Gay J, Henry J-P, Cohen-Bacrie C, Investigators FtB. Shear-wave Elastography Improves the Specificity of Breast US: The BE1 Multinational Study of 939 Masses. *Radiology*. 2012;262(2):435-49.
 52. ACR BI-RADS® Atlas 5 Edition Changes [pdf]. American College of Radiology (ACR); [updated BI-RADS V5 Changes_4-9-14. Available from: <https://www.acr.org/~media/ACR/Documents/PDF/QualitySafety/Resources/BIRADS/BIRADS-V5-Changes.pdf> (letzter Zugriff: 13.01.2017, 09:48 Uhr).
 53. Marquet KL, Wolter M, Handt S, Rath W, Stressig R, Kozlowski P, Funk A. Mammasonographische Dignitätskriterien unter besonderer Berücksichtigung der Tumorgroße. *Ultraschall in Med*. 2002;23(06):383-7.
 54. Kim SM, Han H, Park JM, Choi YJ, Yoon HS, Sohn JH, Baek MH, Kim YN, Chae YM, June JJ, Lee J, Jeon YH. A Comparison of Logistic Regression Analysis and an Artificial Neural Network Using the BI-RADS Lexicon for Ultrasonography in Conjunction with Introbserver Variability. *Journal of Digital Imaging*. 2012;25(5):599-606.
 55. Lee H-J, Kim E-K, Kim MJ, Youk JH, Lee JY, Kang DR, Oh KK. Observer variability of Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS) for breast ultrasound. *European Journal of Radiology*. 2008;65(2):293-8.
 56. Marquet KL, Funk A, Fendel H, Handt S. Der echodichte Randsaum und hyperreflexive Ausläufer: Sensible Kriterien maligner Prozesse in der Mammasonographie. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 1993;53(01):20-3.
 57. Stoblen F, Landt S, Ishaq R, Stelkens-Gebhardt R, Rezai M, Skaane P, Blohmer JU, Sehouli J, Kummel S. High-frequency breast ultrasound for the detection of microcalcifications and associated masses in BI-RADS 4a patients. *Anticancer research*. 2011;31(8):2575-81.

58. Chiou S-Y, Forsberg F, Fox TB, Needleman L. Comparing Differential Tissue Harmonic Imaging With Tissue Harmonic and Fundamental Gray Scale Imaging of the Liver. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2007;26(11):1557-63.
59. Yamada H, Ebara M, Yamaguchi T, Okabe S, Fukuda H, Yoshikawa M, Kishimoto T, Matsubara H, Hachiya H, Ishikura H, Saisho H. A pilot approach for quantitative assessment of liver fibrosis using ultrasound: preliminary results in 79 cases. *Journal of Hepatology*. 2006;44(1):68-75.
60. Tuthill TA, Sperry RH, Parker KJ. Deviations from Rayleigh statistics in ultrasonic speckle. *Ultrason Imaging*. 1988;10(2):81-9.
61. Toyoda H, Kumada T, Kamiyama N, Shiraki K, Takase K, Yamaguchi T, Hachiya H. B-mode ultrasound with algorithm based on statistical analysis of signals: evaluation of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *AJR American journal of roentgenology*. 2009;193(4):1037-43.
62. Acoustic Structure Quantification (ASQ)- RAW-Daten basierende Quantifizierung zum Fibrose-Staging: Toshiba Medical Systems Corporation; [Available from: <http://www.toshiba-medical.de/service-support/download/asq-fibrose-staging.pdf> (letzter Zugriff: 04.03.2015, 17:49 Uhr).
63. Bach A, Hameister C, Slowinski T, Jung EM, Thomas A, Fischer T. Can acoustic structural quantification be used to characterize the ultrasound echotexture of the peripheral zone of breast lesions? *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. Voraussichtlich 2019.
64. WS R. *ImageJ*. Bethesda, Maryland, USA: National Institutes of Health; 1997-2014.
65. J C. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 2 ed. Hillsdale, NJ: Erlbaum; 1988.
66. Kossoff G, Garrett WJ, Carpenter DA, Jellins J, Dadd MJ. Principles and classification of soft tissues by grey scale echography. *Ultrasound in medicine & biology*. 1976;2(2):89-105.
67. J B. Acoustic Structure Quantification (ASQ)- A new diagnostic tool in ultrasonography of the liver. In: Corporation TMS, editor. 2010.
68. Korkaya H, Liu S, Wicha MS. Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment. *The Journal of Clinical Investigation*. 2011;121(10):3804-9.

69. Cammarota F, Laukkanen MO. Mesenchymal Stem/Stromal Cells in Stromal Evolution and Cancer Progression. *Stem Cells International*. 2016;2016:11.
70. Baltzer PA, Yang F, Dietzel M, Herzog A, Simon A, Vag T, Gajda M, Camara O, Kaiser WA. Sensitivity and specificity of unilateral edema on T2w-TSE sequences in MR-Mammography considering 974 histologically verified lesions. *The breast journal*. 2010;16(3):233-9.
71. Gruber IV, Rueckert M, Kagan KO, Staebler A, Siegmann KC, Hartkopf A, Wallwiener D, Hahn M. Measurement of tumour size with mammography, sonography and magnetic resonance imaging as compared to histological tumour size in primary breast cancer. *BMC Cancer*. 2013;13:328.
72. Costantini M, Belli P, Lombardi R, Franceschini G, Mule A, Bonomo L. Characterization of solid breast masses: use of the sonographic breast imaging reporting and data system lexicon. *J Ultrasound Med*. 2006;25(5):649-59; quiz 61.
73. Costantini M, Belli P, Ierardi C, Franceschini G, La Torre G, Bonomo L. Solid breast mass characterisation: use of the sonographic BI-RADS classification. *Radiol Med*. 2007;112(6):877-94.
74. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn H-J, members P. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Annals of Oncology*. 2011;22(8):1736-47.
75. Ahn HJ, Jung SJ, Kim TH, Oh MK, Yoon H-K. Differences in Clinical Outcomes between Luminal A and B Type Breast Cancers according to the St. Gallen Consensus 2013. *J Breast Cancer*. 2015;18(2):149-59.
76. Kim SH, Seo BK, Lee J, Kim SJ, Cho KR, Lee KY, Je BK, Kim HY, Kim YS, Lee JH. Correlation of ultrasound findings with histology, tumor grade, and biological markers in breast cancer. *Acta Oncol*. 2008;47(8):1531-8.
77. Wojcinski S, Stefanidou N, Hillemanns P, Degenhardt F. The biology of malignant breast tumors has an impact on the presentation in ultrasound: an analysis of 315 cases. *BMC Women's Health*. 2013;13(1):1-11.
78. Zhang L, Li J, Xiao Y, Cui H, Du G, Wang Y, Li Z, Wu T, Li X, Tian J. Identifying ultrasound and clinical features of breast cancer molecular subtypes by ensemble decision. *Sci Rep*. 2015;5:11085.

79. Costantini M, Belli P, Bufi E, Asunis AM, Ferra E, Bitti GT. Association between sonographic appearances of breast cancers and their histopathologic features and biomarkers. *Journal of Clinical Ultrasound*. 2016;44(1):26-33.
80. Ko ES, Lee BH, Kim H-A, Noh W-C, Kim MS, Lee S-A. Triple-negative breast cancer: correlation between imaging and pathological findings. *European radiology*. 2010;20(5):1111-7.
81. Au-Yong ITH, Evans AJ, Taneja S, Rakha EA, Green AR, Paish C, Ellis IO. Sonographic correlations with the new molecular classification of invasive breast cancer. *European radiology*. 2009;19(10):2342-8.
82. Müller-Schimpfle M, Noack F, Oetling G, Haug G, Kienzler D, Geppert M, Dietz K, Claussen CD. Einfluss histopathologischer Faktoren auf die dynamische MR-Tomographie der Mamma. *Fortschr Röntgenstr*. 2000;172(11):894-900.
83. Lee SH, Cho N, Kim SJ, Cha JH, Cho KS, Ko ES, Moon WK. Correlation between High Resolution Dynamic MR Features and Prognostic Factors in Breast Cancer. *Korean Journal of Radiology*. 2008;9(1):10-8.
84. Watermann DO, Tempfer CB, Hefler LA, Parat C, Stickeler E. Ultrasound criteria for ductal invasive breast cancer are modified by age, tumor size, and axillary lymph node status. *Breast Cancer Res Treat*. 2005;89(2):127-33.
85. Del Frate C, Bestagno A, Cerniato R, Soldano F, Isola M, Puglisi F, Bazzocchi M. Sonographic criteria for differentiation of benign and malignant solid breast lesions: size is of value. *Radiol Med*. 2006;111(6):783-96.
86. Gujam FJA, Going JJ, Edwards J, Mohammed ZMA, McMillan DC. The role of lymphatic and blood vessel invasion in predicting survival and methods of detection in patients with primary operable breast cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2014;89(2):231-41.
87. Uematsu T, Kasami M, Watanabe J. Is evaluation of the presence of prepectoral edema on T2-weighted with fat-suppression 3 T breast MRI a simple and readily available noninvasive technique for estimation of prognosis in patients with breast cancer? *Breast Cancer*. 2014;21(6):684-92.
88. Durmus T, Stockel J, Slowinski T, Thomas A, Fischer T. The hyperechoic zone around breast lesions - an indirect parameter of malignancy. *Ultraschall Med*. 2014;35(6):547-53.

89. Marquet KL, Funk A, Handt S, Fendel H, Heindricks U, Rath W. [Displacement margins and edge contour: informative criteria of tumor dignity in ultrasound mammography]. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 1995;55(10):548-52.
90. Marquet KL, Wolter M, Handt S, Rath W, Stressig R, Kozlowski P, Funk A. [Criteria of dignity in ultrasound mammography using a 10-MHz-transducer, also with regard to tumor size]. *Ultraschall Med*. 2002;23(6):383-7.
91. Zhu Q, Steinberg BD. Wavefront amplitude distribution in the female breast. *J Acoust Soc Am*. 1994;96(1):1-9.
92. Molthen RC, Shankar PM, Reid JM, Forsberg F, Halpern EJ, Piccoli CW, Goldberg BB. Comparisons of the Rayleigh and K-distribution models using in vivo breast and liver tissue. *Ultrasound in medicine & biology*. 1998;24(1):93-100.
93. Shankar PM, Reid JM, Ortega H, Piccoli CW, Goldberg BB. Use of non-Rayleigh statistics for the identification of tumors in ultrasonic B-scans of the breast. *IEEE Transactions on Medical Imaging*. 1993;12(4):687-92.
94. Shankar PM, Dumane VA, Reid JM, Genis V, Forsberg F, Piccoli CW, Goldberg BB. Classification of ultrasonic B-mode images of breast masses using Nakagami distribution. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*. 2001;48(2):569-80.
95. Ito M, Chono T, Sekiguchi M, Shiina T, Mori H, Tohno E. Quantitative evaluation of diagnostic information around the contours in ultrasound images. *Journal of Medical Ultrasonics*. 2005;32(4):135-44.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Clarissa E.R. Hameister, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Korrelation der Pathophysiologie des Mammakarzinomrandes mit modernen sonographischen Techniken“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Berlin,

C. Hameister

Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Clarissa E.R. Hameister hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Bach A, Hameister C, Slowinski T, Jung EM, Thomas A, Fischer T, „Can Acoustic Structural Quantification be Used to Characterize the Ultrasound Echotexture of the Peripheral Zone of Breast Lesions?“, *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, akzeptiert, Veröffentlichung voraussichtlich 2019.

Beitrag im Einzelnen: Frau Clarissa E.R. Hameister ist neben Dr. A. Bach Erstautorin der oben genannten Publikation. Die Publikation basiert auf der vorliegenden Monographie.

Frau Hameister war beteiligt an der Entwicklung der primären Forschungshypothese. Sie führte die ausführliche Literaturrecherche selbstständig durch. Insbesondere eignete sie sich selbstständig das Hintergrundwissen zum ASQ-Programm an und ließ dieses Wissen in die entsprechenden Textpassagen des Papers einfließen (Methodik Kapitel 2.3 und Diskussion Kapitel 4 Zeile 272-282). Ausschließlich Frau Hameister nahm alle Analysen, Messungen und Berechnungen an bereits vorliegenden sonographischen Bildern vor. Sie recherchierte allein die histopathologischen Befunde der Patientinnen und fasste alle Daten in einer Rohdatentabelle zusammen, welche sie für die weitere statistische Analyse aufbereitete. Die statistische Datenanalyse der sonographischen Bilder wurde von Frau Hameister zusammen mit der Hilfe eines Statistikers durchgeführt.

Sie war beteiligt an der Entwicklung von Fragestellung und Methodik des studentenbezogenen Teils der Forschungsfrage. Sie designte eigenständig die Studentenumfrage mit Gestaltung der Fragebögen und der Einführungspräsentation. Die Studenten wurden ausschließlich von Frau Hameister rekrutiert. Sie führte die Umfrage durch und bereitete die Ergebnisse für die statistische Analyse auf. Dieser Teil der statistischen Auswertung wurde ebenfalls gemeinsam mit der Hilfe eines Statistikers durchgeführt.

Frau Hameister war an der Gestaltung und an der Revision von allen Teilen des Manuskripts in erheblichem Maße beteiligt. Insbesondere gestaltete sie die Graphiken

Anteilserklärung an
etwaigen erfolgten
Publikationen

2, 3, 4, 5 und 6 sowie die Tabelle 2 des Ergebnisteils. Ihre Gedanken in der Diskussion und dem Ausblick, insbesondere bezüglich des physikalischen Hintergrunds des ASQ-Programms und eines möglichen Überlagerungseffektes von ASQ- und B-Bild-Halo, trugen maßgeblich zur erfolgreichen Publikation der Arbeit bei.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin:

Unterschrift der Doktorandin:

C. Hameister

Lebenslauf

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

Komplette Publikationsliste

Bach A, Hameister C, Slowinski T, Jung EM, Thomas A, Fischer T, „Can Acoustic Structural Quantification be Used to Characterize the Ultrasound Echotexture of the Peripheral Zone of Breast Lesions?“, Clinical Hemorheology and Microcirculation, akzeptiert, Veröffentlichung voraussichtlich 2019.

Danksagung

Eine Lebensphase geht mit dieser Arbeit zu Ende und damit ist es an der Zeit, Danke zu sagen.

Zuerst möchte ich Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Fischer für die freundliche Überlassung dieses interessanten Themas danken. Er fungierte nicht nur als Schirmherr dieser Arbeit, sondern stand mir als mein Betreuer und direkter Ansprechpartner in jeder Phase dieser Arbeit mit seinem akademischen Rat und mit Geduld zur Seite. Ich durfte nicht nur aus dem Schatz seiner Erfahrung und Sachkenntnis schöpfen, sondern auch von seinem Netzwerk profitieren.

Herrn Dr. med. Torsten Slowinski danke ich sehr für seine statistischen Hilfestellungen, das Gegenlesen des gesamten Statistikeils der Arbeit und allgemein für seine große Geduld, mir statistische Möglichkeiten und Grenzen nahe zu bringen.

Dank gilt auch Prof. Dr. med. Anke Thomas, meiner Zweitbetreuerin, für das kritische Gegenlesen. Dr. med. Annika Bach danke ich für die unkomplizierte und zielorientierte Zusammenarbeit beim Paper. Herzlich möchte ich mich bei den Studenten bedanken, die an der Einschätzung der ASQ-Beurteilbarkeit teilgenommen haben.

Meinen Eltern bin ich zu Dank verpflichtet, da sie mir das Medizinstudium überhaupt ermöglicht haben. Sie unterstützen mich nach all ihren Möglichkeiten und glauben immer an mich.

Außerdem möchte ich mich ganz besonders bei Herrn Daniel Preuß bedanken, ohne dessen unermüdliche Unterstützung ich mir diese Lebensphase gar nicht hätte vorstellen können. Als Partner gab er mir Aufmunterung und emotionale Hilfestellung, wenn ich Sie am meisten brauchte. Als Kollege war er mein schärfster Kritiker. Er hatte bei jedem Gegenlesen ein wachsames Auge sowohl auf Inhalt als auch Form und ohne sein Abnicken ist kein Text je zu einer „offiziellen Korrektur“ geschickt worden. Zudem hat er meine Zitate und Statistiken gerettet als es durch unseren Server zu einer Unleserlichkeit sämtlicher Dateien kam. Hab vielen Dank, mi Schatzus!