
**Die Rolle der Dual-Energy Computertomographie in der
Subtypisierung und Graduierung des Nierenzellkarzinoms
– Korrelation mit der mikrovaskulären Dichte in
histopathologischen Präparaten**

Julian Marcon



München 2017

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Christian Stief

**Die Rolle der Dual-Energy Computertomographie in der
Subtypisierung und Graduierung des Nierenzellkarzinoms
– Korrelation mit der mikrovaskulären Dichte in
histopathologischen Präparaten**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Julian Marcon aus Ulm

2017

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Michael Staehler

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Thomas Knösel

PD Dr. med. Florian Schwarz

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 14.12.2017

Gewidmet meinen Eltern Paolo und Maria Marcon,
in Liebe und Dankbarkeit.

Inhaltsverzeichnis

I. EINFÜHRUNG	7
II. EINLEITUNG - DAS NIERENZELLKARZINOM	9
II.1. EPIDEMIOLOGIE UND RISIKOFAKTOREN	9
II.2. TUMORBIOLOGIE UND NEOANGIOGENESE	11
II.3. AUFTRETEN UND DIAGNOSESTELLUNG	13
II.4. DIE ROLLE BILDGEBENDER VERFAHREN	15
II.5. DIE DUAL-ENERGY-COMPUTERTOMOGRAPHIE	18
II.6. ENDOTHELIALE MARKER IN DER PATHOLOGISCHEN ANALYSE	22
II.7. SUBTYPEN DES RCC – HISTOMORPHOLOGIE UND BILDGEBUNG	24
II.8. THERAPIE DES RCC	33
II.8.A. THERAPIE DES LOKAL BEGRENZTEN RCC	33
II.8.B. ABLATIVE THERAPIEVERFAHREN	36
II.8.C. THERAPIE DES METASTASIIERTEN RCC	37
III. FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG DER ARBEIT	40
IV. MATERIAL UND METHODEN	41
IV.1. STUDIENPOPULATION	41
IV.2. BILDGEBUNG PER DUAL ENERGY-CT	42
IV.3. ANALYSE DES DECT-BILDMATERIALS	44
IV.3. AUFBEREITUNG UND FÄRBUNG DER GEWEBEPRÄPARATE	46
IV.4. AUSWERTUNG DER HISTOPATHOLOGIE BZGL. MIKROVASKULÄRE DICHTE	47
IV.4. STATISTISCHE ANALYSE	50
V. ERGEBNISSE	51
V.1. TUMORSPEZIFIKATIONEN	51
V.2. KORRELATION VON KM-AUFNAHME MIT RCC-SUBTYP	52
V.3. KORRELATION VON JODAUFAHME MIT RCC-SUBTYP	56
V.4. KORRELATION VON JODAUFAHME UND FUHRMAN-GRAD	60
V.5. KORRELATION VON MVD UND FUHRMAN-GRAD	63
V.6. KORRELATION VON MVD UND HISTOLOGISCHEM SUBTYP	68
V.7. KORRELATION VON JODAUFAHME UND MVD	70
VI. DISKUSSION	72
VI.1. KORRELATION VON ENHANCEMENT UND RCC-SUBTYP	73
VI.2. KORRELATION VON JODAUFAHME UND RCC-SUBTYP BZW. GRADING	77
VI.3. KORRELATION VON MVD UND SUBTYP BZW. GRADING	83
VI.4. KORRELATION VON JODAUFAHME UND MVD	89
VI.5. LIMITATIONEN DER STUDIE	90
VII. ZUSAMMENFASSUNG	92
VIII. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	95
IX. LITERATURVERZEICHNIS	97

X. TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS	103
X.1. TABELLEN	103
X.2. ABBILDUNGEN	103
XI. LEBENSLAUF	105
XII. DANKSAGUNG	106
XIII. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	107

I. Einführung

Die Dual-Energy Computertomographie (DECT) hat in den letzten Jahren vermehrte Bedeutung in der Schnittbildgebung suspekter Läsionen unterschiedlicher Organsysteme erlangt. Durch die Verwendung zweier Röntgenspektren mit unterschiedlichen Energieeinstellungen und die erhöhte Kontrastierungsfähigkeit des Verfahrens können schon geringfügige KM-Aufnahmen im Gewebe farbkodiert sichtbar gemacht werden.

Die DECT ist bereits in der abdominalen Schnittbildgebung bei der Beurteilung von Raumforderungen von Pankreas und Leber im Einsatz, sowie bei der Diagnostik der Leberfibrose. Darüber hinaus ist eine Verwendung des Verfahrens bei der Beurteilung der Zusammensetzung von Konkrementen bei Urolithiasis möglich. Bei der Bildgebung von Nierentumoren ist die lokale Tumorkonfiguration und –position ein entscheidendes Kriterium für die weitere operative Therapie. Eine wünschenswerte Eigenschaft der Schnittbildgebung, insbesondere im Hinblick auf Ansatzpunkte für eine medikamentöse Therapie bei metastasierter Erkrankung, wäre eine weitere Einschätzung bzgl. des histologischen Subtyps eines Nierenzellkarzinoms über die Beurteilung der Gewebepfusion. Die Subtypen des Nierenzellkarzinoms unterscheiden sich in mikroskopischen Präparaten hinsichtlich der Histomorphologie und der immunhistochemischen Expression von Endothelmarkern.

In Zusammenarbeit mit unserem hausinternen Institut für Klinische Radiologie und dem Pathologischen Institut wurde vorliegende Arbeit koordiniert, wobei die histopathologischen Präparate von 74 Patienten untersucht wurden, die zwischen 2007 und 2011 in unserem Zentrum partiell oder radikal nephrektomiert worden waren. Jeder eingeschlossene Patient hatte präoperativ eine Dual-Energy-CT Bildgebung erhalten.

Die Anwendung immunhistochemischer Färbemethoden und die Auswertung hinsichtlich der mikrovaskulären Dichte, anhand des Auszählens gefärbter Endothelzellen pro Gesichtsfeld, zielten hierbei auf die Beurteilung der intratumoralen Vaskularisation ab. Es erfolgte zudem eine Korrelation mit der in der Dual-Energy-CT gemessenen Jodaufnahme im Gewebe, um die Aussagekraft der Bildgebung auf die Perfusion vitaler Tumorareale und bzgl. eines Subtypisierungspotenzials zu beleuchten. Ferner wurden die Parameter aus Bildgebung und histopathologischer Auswertung auf die Möglichkeit einer Eingruppierung nach Differenzierungsgrad der Tumoren untersucht.

II. Einleitung - Das Nierenzellkarzinom

II.1. Epidemiologie und Risikofaktoren

Das Nierenzellkarzinom ("renal cell carcinoma, RCC") ist für ungefähr 2-3% aller Tumorerkrankungen des Menschen und für 90 % aller malignen Raumforderungen an der Niere verantwortlich. Es ist nach dem Prostatakarzinom und dem Urothelkarzinom der Harnblase die dritthäufigste maligne Erkrankung des Urogenitaltrakts, mit aktuell sinkender Inzidenz für Deutschland (1). In Deutschland betrug die Inzidenz im Jahr 2008 bei Männern 21.7 von 100000 und bei Frauen 10.2 von 100000, wobei das mittlere Erkrankungsalter zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr lag. Die Mortalität in Deutschland ist im Begriff zu sinken und belief sich 2008 auf 7.1 von 100000 bei Männern bzw. bei 3.6 von 100000 bei Frauen.

Das Risiko für die Entwicklung eines Nierenzellkarzinoms nimmt mit steigendem Alter zu, wobei in Europa und Nordamerika ein Maximum zwischen 70 und 75 Jahren erreicht wird. Die sinkende Inzidenz in den höheren Altersgruppen hängt allerdings möglicherweise mit einer geringeren Inanspruchnahme von Gesundheitsleistungen zusammen.

Das vermehrte Auftreten der Erkrankung bei Männern hängt fraglich mit dem größeren Anteil an männlichen Rauchern sowie exponierten männlichen Arbeitern in Risikoberufen zusammen (2), (3).

Hinsichtlich der Ätiologie sind ein arterieller Hypertonus, ein Nikotinabusus sowie Adipositas als Risikofaktoren identifiziert worden, wobei im Falle des Zigarettenrauchens und der Hypertonie eine dosisrelevante Inzidenz beobachtet werden konnte. Ebenso ist ein Nierenzellkarzinom bei einem Verwandten ersten Grades ein Risikofaktor für ein Auftreten der Erkrankung (4), (5), (6), (7). Ein genetisches Syndrom, welches mit dem Nierenzellkarzinom in Verbindung steht, ist das Von-Hippel-Lindau (VHL) Syndrom, welches ein Auftreten von klarzelligen – meist bilateralen – Nierenzellkarzinomen begünstigt. Das Birt-Hogg-Dubé Syndrom steht ebenfalls in Zusammenhang mit dem Auftreten von Nierenzellkarzinomen, insbesondere mit dem chromophoben Nierenzellkarzinom, wobei hier auch klarzellige und papilläre Tumoren ebenso wie Onkozytome vorkommen können. Das hereditäre papilläre Nierenzellkarzinom als weitere genetische Erkrankung ist mit papillären Tumoren vom Typ-1 assoziiert. Andere genetische Erkrankungen mit entsprechenden Assoziationen zu Nierentumoren sind die hereditäre Leiomyomatose sowie die tuberöse Sklerose (8).

II.2. Tumorbilogie und Neoangiogenese

Bei der Entstehung und Proliferation solider Tumoren spielen Angiogenese und Lymphangiogenese eine wesentliche Rolle hinsichtlich der Versorgung neu gebildeten Gewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen, dem Abtransport von Schadstoffen sowie dem Potenzial einer Filialisierung in andere Organe (9).

Die hohe Vaskularisation von Nierenzellkarzinomen spricht für eine starke Rolle der Angiogenese. Dabei spielen proangiogenetische Faktoren wie der "vascular endothelial growth factor (VEGF)" eine wichtige Rolle. In diesem Zusammenhang wurde der Einfluss eines in sauerstoffreichem Gewebe untergehenden Teils des Transkriptionsfaktors, "hypoxia-inducible factor (Hypoxie-induzierter Faktor, HIF)", welcher in einer Gewebhypoxie aktiv wird, identifiziert. Beim Nierenzellkarzinom wurde eine Assoziation zu Mutationen des Von-Hippel Lindau-Tumorsuppressorproteins beschrieben, welche in etwa 50-60 % bei Patienten mit sporadischem klarzelligem Nierenzellkarzinom vorliegen. Ferner konnte insbesondere für das klarzellige Nierenzellkarzinom ein Zusammenhang zwischen der vermehrten Expression des HIF- α Proteins und einer Hochregulierung von VEGF sowie einer erhöhten mikrovaskulären Dichte in histologischen Präparaten demonstriert werden. Auch der Signalweg des mammalian target of rapamycin (mTOR) steht direkt mit der Regulation von HIF in Verbindung (10), (11).

Wie an unterer Stelle näher beschrieben trug das zunehmende Verständnis für die molekularen Mechanismen der Angiogenese zur Entwicklung systemisch-medikamentöse Therapieschemata an, um die Freisetzung proneoangiogenetischer Faktoren zu unterbinden (12), (13).

II.3. Auftreten und Diagnosestellung

Die meisten Nierenzellkarzinome werden als symptomlose Zufallsbefunde im Rahmen radiologischer Bildgebung diagnostiziert. Die klassische Symptomentrias – in Form von Flankenschmerz, Makrohämaturie sowie einem palpablen, abdominellen Tumor – ist heute eher selten geworden und ist in solchen Fällen mit aggressiveren Tumorvarianten oder einer fortgeschrittenen Erkrankung assoziiert (14). Entsprechend kommt der klinischen Untersuchung bei der Diagnostik eine untergeordnete Rolle zu. Zu achten wäre in diesem Rahmen auf einen tastbaren, abdominellen Tumor, eine zervikale Lymphadenopathie, eine Varikozelenbildung oder eine ödematöse Schwellung der unteren Extremitäten.

Bei etwa 30 % aller symptomatischen Patienten treten paraneoplastische Syndrome, etwa in Form einer hypertensiven Erkrankung, Anämie, Amyloidose, Hyperkalzämie oder Fieber, auf. Knochenschmerzen oder ein persistierender Reizhusten können Hinweise auf eine metastasierte Erkrankung sein, welche in ca. einem Drittel aller diagnostizierten Nierenzellkarzinome bereits vorliegt. Dabei wurden Symptome wie Kachexie, Gewichtsverlust und auch Anämie als unabhängige Faktoren für eine schlechtere Prognose identifiziert (15), (16).

Zudem treten bei einem Drittel der Patienten mit initial lokalisierter Erkrankung zu einem späteren Zeitpunkt Metastasen auf.

Unbehandelt beträgt bei metastasierter Erkrankung die mittlere Überlebenszeit acht Monate, die Fünfjahres-Überlebensrate ca. zwei Prozent (17). Eine Bestimmung bestimmter laborchemischer Parameter kann hier entsprechende Hinweise geben. Zumeist werden der Hämoglobin-Wert, das C-reaktive Protein (CRP) als Akute-Phase-Parameter, das korrigierte Serumkalzium und die alkalische Phosphatase (AP) als Abbild des Kalziumstoffwechsels, der Kreatininwert und die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) als Nierenfunktionsparameter bestimmt. Der Ermittlung der Nierenfunktion kommt insbesondere im Falle bilateraler Tumoren Bedeutung zu, sowie bei bekannter Einzelniere, einer Niereninsuffizienz und bei vorhandenen Komorbiditäten, welche sich im Verlauf ungünstig auf die Nierenfunktion auswirken könnten. Ein niereneigener Tumor fällt meist im Rahmen der bildgebenden Routinediagnostik oder aus anderer medizinischer Indikation heraus durchgeführter Schnittbildgebung auf, wobei gemäß einer Studie aus den 1990er Jahren das Tumorstadium sich in einer Mehrheit der symptomatischen Fälle nicht von jenem der asymptomatischen Zufallsbefunde unterschied (18). Zu erwähnen ist darüber hinaus die zunehmende Verbreitung der sonographischen Diagnostik, welche auch hier zu einer wachsenden Anzahl inzidentell gefundener Raumforderungen an der Niere geführt hat (19).

Die weitere Abklärung sonographisch suspekter Befunde erfolgt nach entsprechendem Verdacht mithilfe der Multidetektor-Computertomographie (MDCT) oder der Magnetresonanztomographie (MRT) (20).

II.4. Die Rolle bildgebender Verfahren

Im Falle solider Raumforderungen ist bei MDCT und MRT die Kontrastmittel(KM)-Anreicherung – im Englischen sowie im Folgenden “enhancement” genannt – der Hinweis auf eine vermehrte Vaskularisierung bei malignem Prozess. Diese Anreicherung wird mittels der in der Radiologie verwendeten Hounsfield-Einheiten (HU) als Parameter der Gewebedichte beschrieben, wobei ein Unterschied von 15 HU nach Kontrastmittel-Applikation verglichen mit dem Nativbild als Enhancement definiert ist (21). Im Rahmen einer meist multiphasisch durchgeführten MDCT-Untersuchung unterscheidet man die verschiedenen Phasen – der Weg des Kontrastmittels durch das Gefäßnetz – wie folgt: Zunächst die native Phase vor KM-Anreicherung, die arterielle Phase ca. 20-25 Sekunden nach KM-Gabe, die kortikomedulläre Phase nach ca. 40-50 Sekunden, die nephrographische Phase nach ca. 80-100 Sekunden sowie die exkretorische Phase, auch Ablaufphase genannt, nach ca. 160-200 Sekunden (22).

MDCT und MRT liefern Informationen über die Ausbreitung des Primärtumors, einen möglichen Befall von Gefäßen, eine lokoregionäre Lymphadenopathie, sowie Hinweise auf Funktion und Erscheinungsbild der Gegenniere und einen etwaigen Befall weiterer abdomineller Organe (20).

Die MRT bietet im Vergleich zur MDCT eine bessere Weichteilkontrastdarstellung bei fehlender Verwendung von Röntgenstrahlung und einer entsprechenden Vermeidung der Strahlenbelastung. Zu nennen sind eine längere Untersuchungsdauer sowie ein höherer finanzieller Aufwand (22). Kontraindikationen für das Verfahren beinhalten eine Versorgung mit einem Herzschrittmacher älterer Generation sowie das Vorhandensein von Metallimplantaten im Körper (23). Obgleich sich beide Verfahren in der Beurteilung von Nierenläsionen als ebenbürtig praktikabel gezeigt haben (24), ist eine sichere Abgrenzung gegenüber benignen Raumforderungen der Niere wie beispielsweise dem Onkozytom, aufgrund seiner bildmorphologischen Variabilität, nicht möglich (25), (26). Das Angiomyolipom als benigne Entität kann hingegen mithilfe fettsuppressiver Phasen in der MRT nahezu sicher identifiziert werden (27). Die MRT ist zudem das Verfahren der Wahl zur bildgebenden Evaluation eines Tumorthrombus in der Nierenvene bzw. der Vena cava. Zystische Raumforderungen der Niere werden gemäß ihrer Morphologie und Konfiguration in der CT nach der Bosniak-Klassifikation (s. *Tab. 4*) beschrieben und eingeteilt (28), (29). Zystische Läsionen sind allgemein mit der MRT etwas genauer beurteilbar, verglichen mit der MDCT (22).

Mit einer in der MDCT gefahrenen Ablaufphase kann ein Tumorbefall des Nierenbeckenkelchsystems bzw. ein primäres Urothelkarzinom des Nierenbeckens näher beurteilt werden.

Kann letztere Tumorentität nicht mit Sicherheit anhand bildgebender Kriterien ausgeschlossen werden, sollte vor operativer Freilegung eines unklaren Nierentumors eine endoskopische Abklärung, mittels Ureterorenoskopie und ergänzender Urethrozystoskopie, zum Ausschluss eines Urothelkarzinoms erfolgen (30). Zudem ist eine CT-Untersuchung des Thorax Teil des standardmäßigen präoperativen Stagings. Die Durchführung einer Skelettszintigraphie bzw. einer Schädel-CT im Rahmen des Stagings ist nur bei entsprechend symptomatischen Patienten indiziert (3), (22).

Zur genauen CT-Morphologie der Subtypen wird an unterer Stelle näher eingegangen. Allgemein wird das klassische, klarzellige Nierenzellkarzinom CT-morphologisch mit einer typischen girlandenförmigen, peripheren KM-Anreicherung und mit Aussparung der zentralen Nekrosezone beschrieben.

Das papilläre wie auch das chromophobe RCC zeichnen sich allgemein im Vergleich zum ccRCC durch ein homogeneres Enhancement sowie durch eine weniger ausgeprägte Kontrastmittelaufnahme aus (22), (31).

II.5. Die Dual-Energy-Computertomographie

Die Dual-Energy Computertomographie (DECT) wurde bereits in den 1970er Jahren entwickelt und wurde zunächst u.a. bei der Analyse von Knochenmineralien eingesetzt. Das Verfahren setzte sich seinerzeit aufgrund der eingeschränkten technischen Möglichkeiten einer praktikablen Umsetzung nicht für den klinischen Gebrauch durch. Das Prinzip des Verfahrens besteht im simultanen Betrieb zweier Röntgenröhren („dual source“) mit jeweils gleicher oder unterschiedlicher Röhrenspannung (s. *Abb. 1*) (32). Dies ermöglicht die gleichzeitige Anfertigung zweier Datensätze mit unterschiedlichen Photonenspektren. Die Röntgenröhren sind in einem Gantry um 90 Grad versetzt angeordnet, mit jeweils gegenüberliegenden Detektorsystemen. Die Röhren können mit gleicher Spannung („Unisono“) betrieben werden, was einen höheren Photonenfluss bei korpulenten Patienten ermöglicht. Ein großer Vorteil in der abdominalen Bildgebung stellt jedoch der Betrieb der beiden Röntgenröhren mit unterschiedlichen Spannungen dar. Die gleichzeitige Darstellung einer untersuchten Körperregion mit einer Röhrenspannung von 140 bzw. 80 / 100 kV führen zu maximalen Dichteunterschieden zwischen verschiedenen Materialien und zu einer optimalen Unterscheidung der Stoffe im Untersuchungsfeld. Aufgrund der spannungsspezifischen Unterschiede im Absorptionsverhalten erlaubt es eine bessere Unterscheidung verschiedener Gewebetypen (32). In der kardiovaskulären Bildgebung wird die Technik zur Diagnostik bei Verdacht auf Lungenarterienembolie angewendet.

In der Bildgebung bei Urolithiasis ermöglicht es eine Unterscheidung zwischen kalk- und harnsäurehaltigen Steinen. Die Technik ermöglicht im Besonderen die Messung von Schwächungsunterschieden von Materialien von Elementen mit hoher Atomzahl, wie beispielsweise Jod. In der abdominalen Bildgebung sind insbesondere Weichgewebe, Fett und Jod die gemessenen Stoffe, wobei der Dual-Energy-Index von Jod sich signifikant von dem des Weichteilgewebes bzw. Fetts unterscheidet. Das charakteristische Signalverhalten des im Kontrastmittel enthaltenen Jods kann hier zur farbkodierten Darstellung – in farblich aufbereiteten Karten der Jodverteilung im Gewebe, sog. „iodine maps“ mit roter Farbe als Surrogatmarker für eine hohe Jodkonzentration (s. *Abb. 2*) – geringer KM-Aufnahmen in Nierentumoren beitragen. DECT ermöglicht dadurch z.B. eine bessere Unterscheidung zwischen benignen Zysten und soliden Tumoren (32), (33). Die Messung der Jodaufnahme korrelierte dabei in einer Studie von Chandarana et al. mit der Kontrastmittelaufnahme in Nierenläsionen (34). Zuletzt hat sich die DECT über die Detektion subtiler Jodaufnahmen im Gewebe als effektives Messinstrument eines Therapieansprechens beim metastasierten Nierenzellkarzinom unter Systemtherapie bewiesen (35). Zusätzlich ist die Rekonstruktion virtueller Nativbilder mit entsprechender Bildbearbeitungssoftware möglich, da komplette Datensätze der 140 bzw. 80 kV Scans vorliegen, wobei das Kontrastmittel mithilfe dieser Software aus dem Bild digital subtrahiert werden kann.

Damit entfällt die Erstellung eines "echten" Nativbildes, was sich in einer Reduktion der Strahlendosis niederschlägt. Zusätzlich werden aufgrund der nahezu zeitgleichen Bildakquisition beim DECT Probleme wie Artefaktbildung sowie ein Pseudoenhancement durch Bewegung oder Atmen des Patienten und ein konsekutives Verschieben der Messregion zwischen nativer und KM-Phase reduziert (22), (36), (37), (38).

Abb. 1: Schematischer Aufbau eines Dual Source Computertomographen (aus Graser et al., 2009) (39)

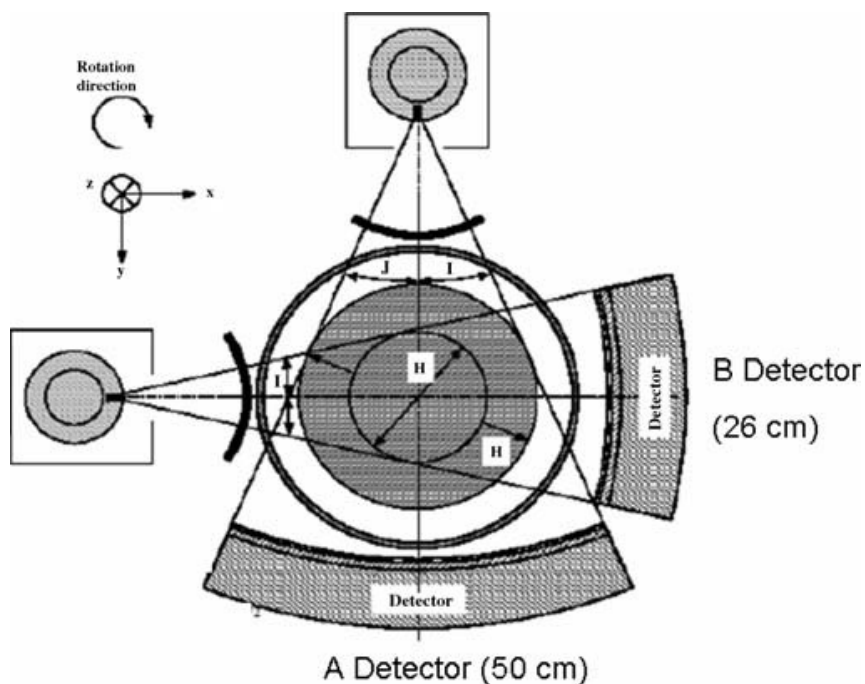
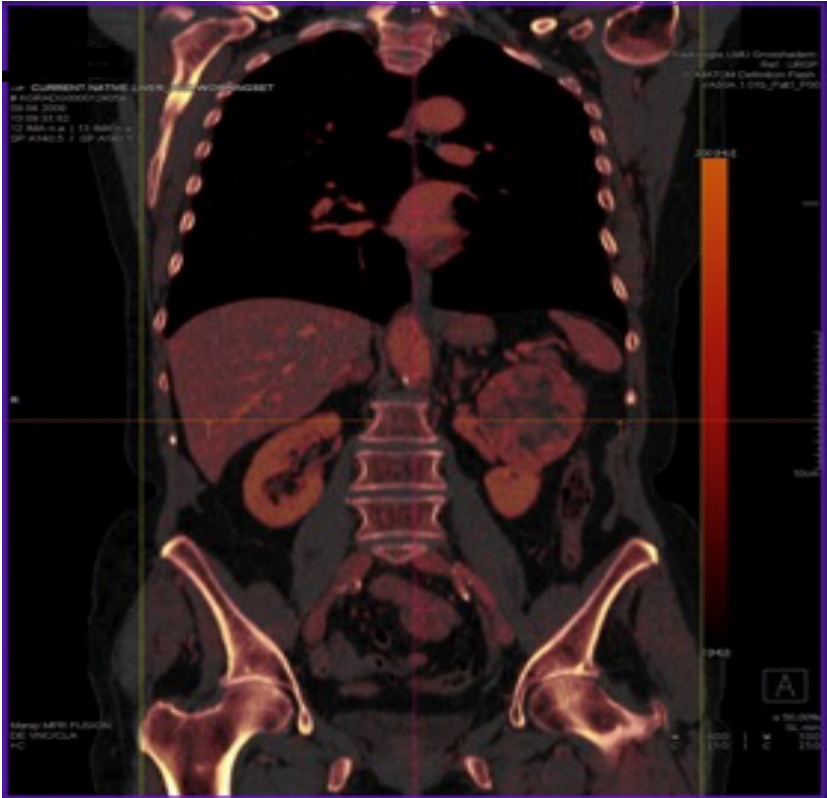


Abb. 2: DECT-Koronarschnitt eines linksseitigen Nierentumors in der farbkodierten Darstellung der Jodverteilung



II.6. Endotheliale Marker in der pathologischen Analyse

In der Bewertung der oben erwähnten Neovaskularisation von Tumoren hat sich in der Pathologie der Einsatz sog. Endothelmarker bewährt. Mit diesen werden im Rahmen immunhistochemischer Färbungsprozesse die mikroskopischen Schnittpräparate angereichert. Die anschließende Begutachtung durch den Pathologen und die mikroskopische Beurteilung der mikrovaskulären Dichte („microvascular density“, MVD) bewertet über ein Zählen angefärbter Gefäßanschnitte pro definiertem Gesichtsfeld (GF) die Vaskularisation des Gewebes. Eine höhere MVD war in Studien zum Mammakarzinom, dem Bronchialkarzinom und dem Prostatakarzinom mit schlechterer klinischer Prognose assoziiert (39), (40). Neben dem von Willebrand Faktor (vWF) zählen auch bestimmte Vertreter der „cluster of differentiation“ (CD)-Oberflächenproteine, z.B. CD31, CD105 und CD34, zu den häufig verwendeten Endothelmarkern (41), (42). Dabei ist das Thrombozyten-Endothelzellen-Adhäsionsmolekül CD31, auch PECAM-1 genannt, vaskulär u.a. an der Vaskulogenese und der Thrombozytenfunktion beteiligt. Es handelt sich bei CD31 um ein panendotheliales Protein, welches nicht spezifisch nur in neu gebildeten Endothelzellen vorkommt. CD34 wird insbesondere in den Perizyten von Gefäßen exprimiert und nur selten in Endothelzellen, womit es einen guten Marker für die Reifung noch immaturer Endothelzellen darstellt (39), (43), (44).

In Studien konnte eine Korrelation zwischen histologisch ausgeprägter aktiver Neovaskularisation und höherem Tumorgrad bzw. schlechterem klinischem Outcome festgestellt werden (41).

Im Hinblick auf die Beurteilung der MVD beim RCC mittels CD31 und CD34 haben einige Studien eine inverse Korrelation mit der Aggressivität des Tumors und dem entsprechendem Staging zeigen können (42), (45), (46), (47), während andere Arbeiten zum gegenteiligen Schluss kamen und eine Assoziation zwischen, mittels CD34 und vWF, bestimmter MVD und Metastasierung bzw. ungünstigerer Prognose herstellten (48), (49).

II.7. Subtypen des RCC – Histomorphologie und Bildgebung

Das Nierenzellkarzinom wird gemäß der allgemein anerkannten TNM-Klassifikation (7th Edition, International Union Against Cancer, 2010) eingeteilt (s. *Tab. 1*). Dabei werden die Tumoreigenschaften hinsichtlich des Wachstums des Primärtumors (T-Stadium), des lokoregionären Lymphknotenbefalls (N-Stadium) sowie einer etwaigen Fernmetastasierung (M-Stadium) beschrieben (50). Die Einteilung des histologischen Differenzierungsgrads erfolgt nach dem Fuhrman-Grading, welches die Morphologie und Regularität der Zellkerne beschreibt und in einem vierstufigen System den Grad der Entdifferenzierung beschreibt. Dabei zeigt sich bei zunehmendem Grad eine zunehmende Irregularität und Größe der Zellkerne sowie eine Prominenz vorhandener Nukleoli. Ein höherer Fuhrman-Grad hat sich hierbei mit einem erhöhten Filialisierungspotenzial assoziiert gezeigt (51), (52) (s. *Tab. 2*). Die verschiedenen Fuhrman-Grade werden exemplarisch anhand *Abb. 3*, aus der Arbeit von Rekha et al., veranschaulicht (53). Gemäß der Heidelberg-Klassifikation von 1997 (19) existieren zudem mehrere – molekulargenetisch und histomorphologisch unterschiedliche – Subtypen des RCC mit verschiedenen Eigenschaften bzw. unterschiedlicher Krankheitsprognose.

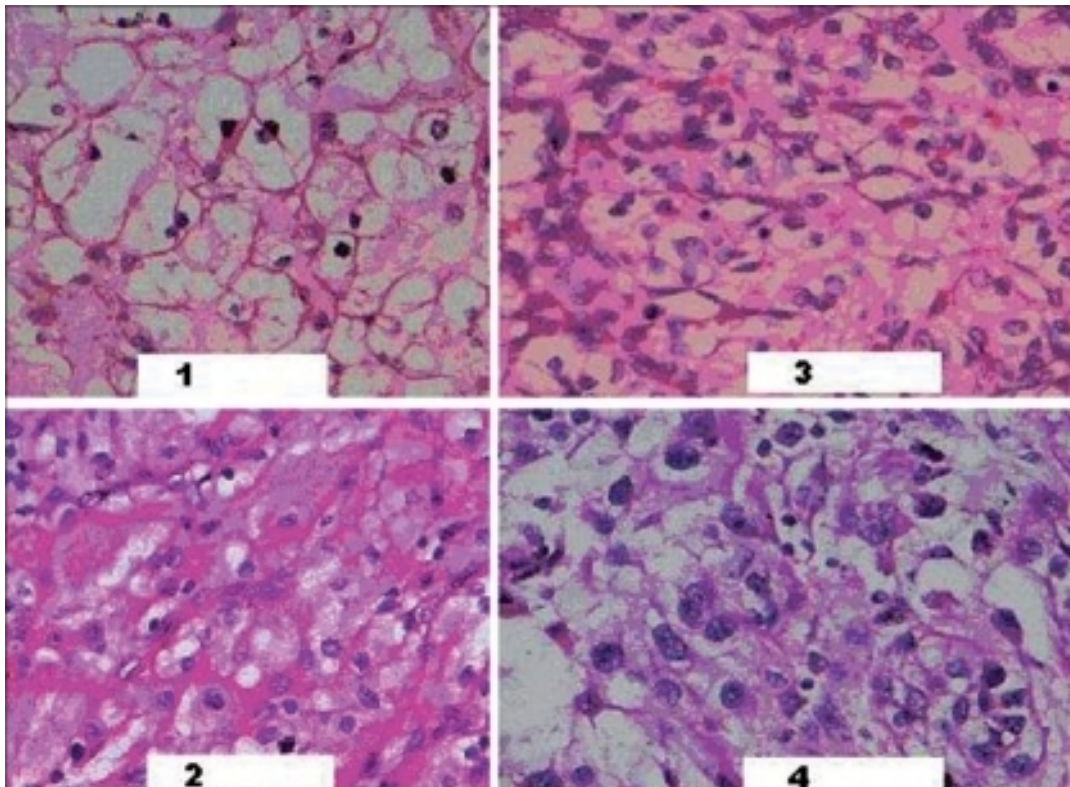
Tab. 1: TNM-Klassifikation des Nierenzellkarzinoms, 7th Edition (aus Wittekind et al., 2010) (50)

TX	Primärtumor nicht beurteilbar
T1	Primärtumor ≤ 7 cm Durchmesser, Begrenzung auf die Niere
T1a	Primärtumor ≤ 4 cm Durchmesser, Begrenzung auf die Niere
T1b	Primärtumor > 4 cm Durchmesser, Begrenzung auf die Niere
T2	Primärtumor > 7 cm, Begrenzung auf die Niere
T2a	Primärtumor > 7 cm, aber ≤ 10 cm, Begrenzung auf die Niere
T2b	Primärtumor > 10 cm Durchmesser, Begrenzung auf die Niere
T3	Infiltration des perirenal Gewebes oder der großen Nierenvenen
T3a	Invasion des perirenal oder sinusoidalen Fetts oder der V. renalis
T3b	Ausbreitung in infradiaphragmale V. cava
T3c	Ausbreitung in supradiaphragmalen V. cava oder Infiltration der Wand der V. cava
T4	Überschreiten der Gerota-Faszie, Beteiligung der ipsilateralen Nebenniere
NX	Lymphknotenmetastasierung nicht beurteilbar
N0	keine lokoregionäre Lymphknotenmetastasierung
N1	singuläre Lymphknotenmetastase
N2	Metastasen in mehr als einem Lymphknoten
MX	Fernmetastasierung nicht beurteilbar
M0	keine Fernmetastasierung
M1	Fernmetastasen vorhanden

Tab. 2: Pathologisches Fuhrman-Grading des Nierenzellkarzinoms (aus Novara et al., 2009) (52)

G1	Tumorzellen mit kleinem (ca. 10 µm messendem), rundem Zellkern, ohne Nukleoli
G2	Tumorzellen mit größerem Zellkern (ca. 15 µm), irreguläre Form und Nukleoli (unter 400-facher mikroskopischer Vergrößerung)
G3	Tumorzellen mit noch größerem Zellkern (ca. 20 µm), deutlich irreguläre Form und prominenten Nukleoli (unter 100-facher mikroskopischer Vergrößerung)
G4	Tumorzellen mit bizarren, gelappten Zellkernen und Chromatinklumpen

Abb. 3: Exemplarische Fuhrman-Grade unter dem Mikroskop (aus Rekha et al., 2008) (53)



Das am häufigsten vorkommende, meist sporadisch auftretende, **klarzellige Nierenzellkarzinom (ccRCC)** zeichnet für ca. 80-90 % der Fälle verantwortlich und ist prognostisch, verglichen mit den papillären und chromophoben Subtypen, mit einem ungünstigeren Outcome vergesellschaftet (54). Makroskopisch präsentiert das ccRCC typischerweise eine goldgelbe Schnittfläche, welche zusätzlich Einblutungen, eine Nekrose- und Zystenbildung sowie Kalzifikationen oder Ossifikationen enthalten kann. Mikroskopisch zeigt sich das charakteristische "klare" Zytoplasma als Zeichen des glykogen- und fettreichen Inhalts, wobei auch eosinophile Einlagerungen vorkommen können. Insbesondere der Anteil an Nekrosen innerhalb der Läsion ist hierbei mit aggressiveren Tumorentitäten assoziiert. In der CT-Bildgebung fällt das ccRCC durch eine ausgeprägte KM-Anreicherung in der kortikomedullären Phase (120-140 HU) sowie mit einem charakteristischen Auswaschen ("wash-out") in der nephrographischen Phase (90-100 HU), sowie mit begleitender zentraler Nekrosebildung, auf. Oft stellt sich eine den Tumor umgebende hypodense Pseudokapsel dar. In der MRT zeigt sich das ccRCC als isointense in der T1- sowie als hyperintense Läsion in der T2-Wichtung. Eine vorhandene Pseudokapsel imponiert meist hypointens in beiden Wichtungen. Eine Unterbrechung dieser Pseudokapsel kann auf ein aggressiveres Tumorwachstum deuten. Das ccRCC kann angioinvasiv in die Vena renalis sowie die Vena cava wachsen und metastasiert hämatogen am häufigsten in Lunge, Knochen und Leber (3), (55), (56).

Das **papilläre Nierenzellkarzinom (pRCC)** macht ca. 10-15 % der Nierenzellkarzinome aus und stellt sich makroskopisch durch eine gelblich-braune Schnittfläche mit weicher Gewebestruktur sowie durch die Ausbildung einer Pseudokapsel dar. Es wird entsprechend seiner mikroskopischen Morphologie weiter in Typ-1 bzw. Typ-2-pRCC unterteilt, wobei der Typ-1-Tumor durch ein basophiles Zytoplasma, die Typ-2-Variante durch ein eosinophiles Zytoplasma charakterisiert ist. Charakteristisch ist bei beiden Varianten die spindelzellförmige Anordnung der Zellen. Auch beim pRCC können Kalzifikationen, Nekrosen und Einblutungen vorkommen, insbesondere bei größeren Tumoren. Für das Typ-2-pRCC wurde eine – auch gegenüber dem ccRCC – ungünstigere Prognose bzgl. der Entwicklung eines Lokalrezidivs bzw. des Filialisierungspotenzials beschrieben (57).

In der Bildgebung mit CT und MRT zeigen sich diese Läsionen im Vergleich zum ccRCC homogener und neben regulärem Nierenparenchym hypovaskularisiert. Im Gegensatz zum “wash-out” beim ccRCC imponiert das pRCC in der KM-CT meist durch ein “progressive uptake”, also eine Zunahme der KM-Aufnahme von der kortikomedullären (ca. 50-60 HU) zur nephrographischen Phase (ca. 65-75 HU). Die charakteristische Hypointensität in der T2-Wichtung der MRT wird durch intratumorale Hämosiderineinlagerungen erklärt. Eine bildgebende Unterscheidung von Typ-1- und Typ-2-pRCC ist bisher nicht möglich (3), (55), (56), (58).

Daneben existiert als dritter Subtyp das **chromophobe Nierenzellkarzinom (chRCC)**. Es hat ca. 4-5 % Anteil an auftretenden Nierenzellkarzinomen und ist mit niedrig aggressivem Wachstum, einem niedrigen Metastasierungspotenzial sowie einer hohen Fünf-Jahres-Überlebensrate assoziiert. Das chRCC zeigt sich makroskopisch typischerweise als orangefarbene, feste Läsion ohne Pseudokapsel, welches sich nach pathologischer Fixation meist grau färbt. Mikroskopisch fällt ein blasses, retikulierte Zytoplasma auf. Eine sarkomatoide Entdifferenzierung ist beim chRCC mit besonders aggressivem Tumorverhalten assoziiert. In der Bildgebung imponiert das chRCC meist homogener im Vergleich zum ccRCC und hypovaskularisiert verglichen mit dem angrenzenden Nierengewebe. Eine mäßige KM-Aufnahme von 80-100 HU in der kortikomedullären Phase positioniert das chRCC bzgl. des Enhancements in der Mitte zwischen ccRCC und pRCC. In der MRT fällt ein hypointenses bzw. moderates Signal in der T2-Wichtung auf, wobei sich zentrale Narben zeigen können. Eine diesbezügliche Ähnlichkeit zu Onkozytomen erlaubt jedoch keine Unterscheidung zu dieser benignen Läsion in der Schnittbildgebung (3), (55), (56).

Die genannten Subtypen bilden den epidemiologisch wie auch klinisch wichtigsten Anteil der Nierenzellkarzinome. Daneben existiert noch eine kleine Minderheit anderer Subtypen, wie die Ductus-Bellini-Karzinome und die multilokulär zystischen Nierenzellkarzinome, wobei letztere eine indolente, gut differenzierte Variante des klarzelligigen Nierenzellkarzinoms mit gutem Outcome darstellen (3), (56). Die Prognose der Erkrankung ist allgemein abhängig vom Ausbreitungsgrad des Tumors, einer lymphogenen oder hämatogenen Filialisierung gemäß TNM-Stadium, zudem von der Differenzierung nach der Fuhrman-Graduierung (59). Auch der jeweilige Subtyp des Nierenzellkarzinoms spielt eine prognostische Rolle. Neben der bereits erwähnten ungünstigeren Prognose des papillären Karzinoms vom Typ 2 ist das chromophobe Nierenzellkarzinom mit einem besseren karzinomspezifischen Überleben vergesellschaftet (60).

Zudem sind weitere Umstände wie eine sarkomatoide Entdifferenzierung, die Bildung von Tumornekrosen sowie eine Beteiligung von Gefäßen und des Nierenbeckenkelchsystems unabhängige Prognosefaktoren. Dabei wird die sarkomatoide Entdifferenzierung heute als von jedem RCC-Subtyp potenziell ausgehend und nicht wie früher als eigene Tumorentität betrachtet (3), (61)

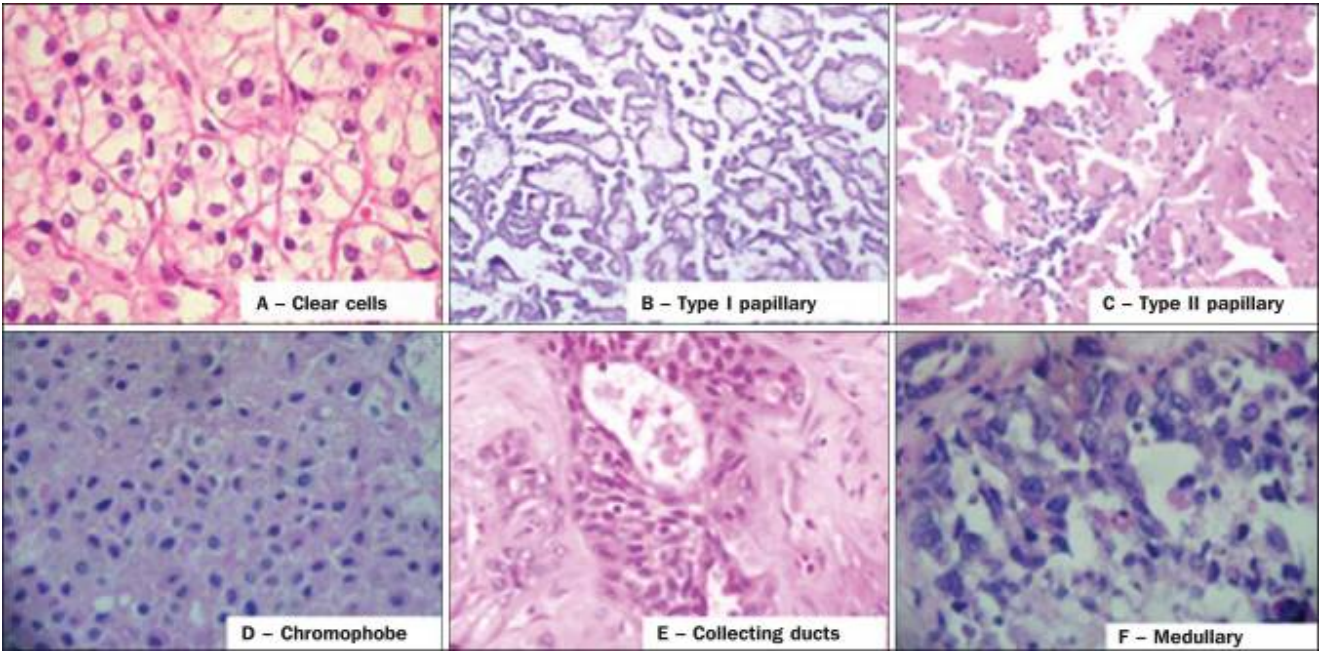
Eine prognostische Wertigkeit molekularer Marker konnte bisher nicht erwiesen werden (3), (56). Einen Überblick über die unterschiedlichen Charakteristika und die Histomorphologie der einzelnen RCC-Subtypen geben *Tab. 3* und *Abb. 4*.

Dabei sieht man in der Abbildung (55) von links oben nach rechts unten Beispielbilder mikroskopischer Präparate für das ccRCC, das pRCC Typ 1, das pRCC Typ 2 sowie das chRCC gezeigt. Die rechtsseitigen unteren Bilder zeigen die selteneren Tumorentitäten der Sammelrohrkarzinome und des medullären Karzinoms, auf die in dieser Arbeit nicht näher eingegangen wird.

Tab. 3: Charakteristika der häufigsten RCC-Subtypen

RCC-Subtyp	Anteil an RCC	Charakteristika
Klarzelliges Nierenzellkarzinom <i>ccRCC</i>	80-90 %	<ul style="list-style-type: none"> - Makroskopisch gelbe Schnittfläche - Mikroskopisch klares Zytoplasma - Prognostisch ungünstigstes outcome - CT: kräftiges Enhancement mit wash-out in der nephrographischen Phase
Papilläres Nierenzellkarzinom <i>pRCC</i>	10-15 %	<ul style="list-style-type: none"> - Makroskopisch gelb -braune Schnittfläche - Mikroskopisch Differenzierung zwischen papillären Tumoren von <u>Typ-1</u> (basophiles Zytoplasma) und <u>Typ-2</u> (eosinophiles Zytoplasma) - Typ 2 mit ungünstiger Prognose - CT: schwaches Enhancement mit progressive uptake
Chromophobes Nierenzellkarzinom <i>chRCC</i>	4-5 %	<ul style="list-style-type: none"> - Makroskopisch orangefarbene Schnittfläche - Mikroskopisch blasses, retikuliertes Zytoplasma - CT: mäßiges Enhancement

Abb. 4: Mikroskopische Präparate verschiedener RCC-Subtypen (aus Muglia und Prando, 2015) (55)



II.8. Therapie des RCC

II.8.a. Therapie des lokal begrenzten RCC

Die Therapie des Nierenzellkarzinoms hängt von mehreren Faktoren ab. Zum einen sind lokale Tumorausdehnung, bestehende Lymphknoten- oder Fernmetastasierung sowie zum anderen die renale Funktion und begleitende Komorbiditäten zu beachten. Bei Niereninsuffizienz oder Verdacht auf funktionelle Einzelnierigkeit kann die Durchführung eines Isotopennephrogramms weitere Informationen bzgl. renaler Gesamt- und Partialfunktionen liefern (3). Der Goldstandard in der Therapie eines lokal begrenzten Nierenzellkarzinoms besteht in der operativen Sanierung, welche zudem die einzige kurative Behandlung der Erkrankung darstellt.

Es existieren zwei grundlegende Operationsverfahren. Zum einen wird im Rahmen der radikalen Nephrektomie (rNx) die gesamte Niere mitsamt dem enthaltenen Tumor, sowie umgebende Lymphknoten und bei entsprechendem, bildgebendem oder intraoperativem, Verdacht die Nebenniere, entfernt. Zum anderen steht mit der partiellen Nephrektomie (pNx) oder "Nierenteilresektion" ein nierenerhaltendes Verfahren zur Verfügung, wobei das Ziel eine Resektion in sano ist, unter Erhaltung des übrigen Nierengewebes. Die Möglichkeit der Durchführung einer partiellen Nephrektomie hängt von der lokalen Tumorausbreitung und der Position des Tumors ab (3).

Hier haben sich unterschiedliche Scoring-Systeme zur Evaluation eines nierenerhaltenden Verfahrens etabliert. So wurden u.a. der C-Index ("centrality"), der R.E.N.A.L. Nephrometry Score ("radius.exophytic/endophytic.nearness.anterior/posterior.location") sowie die P.A.D.U.A.-Klassifikation ("preoperative aspects and dimensions used for anatomic classification") als Scoringsysteme entwickelt, mit dem Zweck die anatomischen Charakteristika von Nierentumoren in der Bildgebung zu quantifizieren und zu standardisieren (62), (63). Eine retrospektive Evaluation der P.A.D.U.A.-Klassifikation sowie des R.E.N.A.L.-Scores anhand 134, an drei verschiedenen Zentren durchgeführten, partiellen Nephrektomien bezüglich der Vorhersage peri- und postoperativer Risiken sowie der intraoperativen Ischämiezeit ergab ein erhöhtes Auftreten von Komplikationen sowie längere Ischämiezeiten im Falle hoher P.A.D.U.A.- und R.E.N.A.L.-Scores (64). Hinsichtlich des onkologischen Ergebnisses sind rNx und pNx vergleichbar, wobei das Risiko hinsichtlich der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz und einer erhöhten Mortalität aufgrund entsprechender Folgeerkrankungen zugunsten der partiellen Nephrektomie, durch die Erhaltung von Nierengewebe, signifikant reduziert ist (65). Ist eine partielle Nephrektomie technisch nicht durchführbar oder handelt es sich bei der betroffenen Niere um ein nachweislich funktionsloses Organ, so erfolgt die Entfernung der gesamten Niere.

Sowohl die Nierenteilresektion als auch die Nephrektomie können offen chirurgisch wie auch minimal-invasiv – über einen retroperitoneoskopischen oder einen transperitonealen Zugangsweg – durchgeführt werden, wobei gemäß der Studienlage beide Zugänge mit ähnlichen onkologischen Ergebnissen assoziiert waren (66).

Im Falle einer kompletten Nephrektomie ist ein minimal-invasives Vorgehen – aufgrund der schnelleren Rekonvaleszenz, geringerem Analgetikabedarf sowie kürzerer Krankenhausverweildauer – der offenen Variante vorzuziehen (67).

Die partielle Nephrektomie kann je nach Erfahrung des Zentrums offen chirurgisch oder minimal-invasiv erfolgen (3).

Bei der vollständigen Nephrektomie ist eine simultane Adrenalektomie bzw. eine Lymphadenektomie nicht zwingend nötig, es sei denn, diese Strukturen zeigen sich in einer präoperativen Bildgebung oder klinisch auffällig, wobei Patienten mit fortgeschrittenem Tumorstadium (T3-4) sowie histologisch und klinisch ungünstigen Tumorvarianten (hoher Fuhrman-Grad, sarkomatoide Entdifferenzierung) von einer erweiterten Lymphadenektomie profitieren können (68). Ein weiterer entscheidender Faktor bei der Therapieplanung ist ein vorhandener, venöser Thrombus – auch “Venenzapfen” genannt –, der sich über die V. renalis bis in die V. cava inferior und sogar transdiaphragmal bis in die V. cava superior ausbreiten kann. Die chirurgische Exzision des Thrombus bei nicht metastasiertem RCC – im Falle eines Befalls der V. cava superior unter Umständen unter Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine – ist hier das Vorgehen der Wahl (69), (70), (71).

II.8.b. Ablative Therapieverfahren

Die bioptische Sicherung zu rein diagnostischen Zwecken spielt nur vor systemischer bzw. ablativer Therapie (beispielsweise Kryotherapie oder Radiofrequenzablation) eine Rolle, wenn eine lokale Sanierung mittels partieller oder radikaler Nephrektomie – beispielsweise aufgrund eines fortgeschrittenen Erkrankungsstadiums – nicht durchgeführt werden kann.

Die Biopsie zielt auf die Ermittlung der Dignität eines unklaren Nierentumors sowie auf die Bestimmung des Grads der Differenzierung, wobei das Verfahren eine hohe Sensitivität sowie Spezifität besitzt (3). Eine Embolisation des Tumors kommt nur im Rahmen einer symptomatischen Therapie bei nicht operabler Erkrankung zur Anwendung, beispielsweise bei Auftreten von Makrohämaturie oder Flankenschmerzen. Für ablative Verfahren wie die Kryoablation oder die Radiofrequenzablation existieren vergleichende Studien (bspw. RFA vs. Kryoablation oder RFA vs. pNx (72), (73)), jedoch kann bei qualitativ limitierter Datenlage derzeit keine Therapieempfehlung gegeben werden. Dennoch können diese Verfahren als Optionen bei multimorbiden bzw. älteren Patienten mit eingeschränkter Lebenserwartung und geringer Tumorlast angeboten werden. Bei entsprechenden Patienten kommt bei kleinen, suspekten Läsionen auch eine aktive Überwachung (“active surveillance”, AS) mittels regelmäßiger Bildgebung in Frage (3). Eine randomisiert-kontrollierte Studie mit Patienten mit klinischen T1a-Tumoren hat hier drei Gruppen – AS vs. rNx vs. pNx - über 34 Monate bzgl. Gesamtüberleben sowie krankheitsspezifisches Überleben verglichen und keinen signifikanten Unterschied festgestellt (74).

II.8.c. Therapie des metastasierten RCC

Bei Vorliegen eines metastasierten Nierenzellkarzinoms (mRCC) sind die Anzahl und die Lokalisation der Metastasen, der Allgemeinzustand des Patienten und der Ausbreitungsgrad des Primärtumors wichtige Faktoren. Eine radikale Nephrektomie zur Beseitigung des Primärtumors im Sinne einer Zytoreduktion der Tumorzellen sollte bei ausgewählten Patienten durchgeführt werden, da sich diese Vorgehensweise in Kombination mit einer systemischen Interferongabe im Vergleich mit einer reinen systemischen Therapie in einer Metaanalyse zweier randomisierter Studien als überlegen gezeigt hat (75). Abschließende Daten zur Kombinationstherapie mit neueren Systemtherapeutika stehen aktuell noch aus (3). Insgesamt hat sich die operative Metastasektomie in entsprechenden retrospektiven Studien – sofern möglich – als günstig auf das Gesamtüberleben sowie das karzinomspezifische Überleben gezeigt. Eine signifikante Verbesserung des Gesamtüberlebens durch eine operative Entfernung von Metastasen stellte sich zudem bei einer Filialisierung in die Leber, in die Lunge sowie das Pankreas dar, wie entsprechende Studien gezeigt haben (76), (77), (78). Bei Schmerzen, die durch Filiae in Knochen und Gehirn verursacht werden, kommen als symptomatische Therapien eine lokale Radiatio sowie stereotaktische chirurgische Verfahren in Betracht (3), (79).

Die Chemotherapie ist aufgrund der hohen Expression des dem Nierenzellkarzinom eigenen „multiple-drug resistance proteins“ (MDRP), und der damit assoziierten Resistenz gegen gängige Chemotherapeutika, nicht zielführend. Lange Zeit galt die Monotherapie mit Interferon- α 2 als Therapie der Wahl. Neuere Studien konnten jedoch Vorteile für eine Kombinationstherapie aus Interferon- α 2 und Bevacizumab, den Tyrosinkinaseinhibitor (TKI) Sunitinib sowie dem mTOR („mammalian target of rapamycin“)-Inhibitor gegenüber der älteren Interferon-Monotherapie demonstrieren (80), (81), (82). Die aktuelle medikamentöse Therapie bei mRCC umfasst je nach vorliegendem Subtyp unterschiedliche, die Tumorangiogenese hemmende, Systemtherapeutika, welche entsprechend des Zeitpunkts ihres Therapieeinsatzes in Erstlinien- („first-line“), Zweitlinien- („second-line“) sowie Drittlinientherapeutika („third-line“) unterteilt werden. Die Systemtherapeutika oder „targeted agents“ gehören unterschiedlichen Substanzklassen an und sind bisher in Studien mehrheitlich bei Patienten mit ccRCC angewendet worden.

Dabei finden sich die Tyrosinkinaseinhibitoren Sunitinib, Sorafenib und Pazopanib, die mTOR-Inhibitoren Everolimus und Temsirolimus, der „programmed death-1 (PD-1) targeted immune checkpoint inhibitor“ Nivolumab sowie der monoklonale Antikörper Bevacizumab in den Therapiealgorithmen beim mRCC. Im Vergleich zur klassischen Immuntherapie mit Interferon- α 2 hat in vergangenen Studien die Sequenztherapie mit diesen selektiven antiangiogenetischen Therapeutika („targeted agents“) einen Überlebensvorteil gezeigt (3), (83).

Für nicht klarzellige Tumorvarianten, die ca. 25 % der mRCC ausmachen, ist am ehesten eine Therapie mit dem mTOR-Inhibitor Temsirolimus erfolgsversprechend, eine abschließende Empfehlung liegt aufgrund der noch eingeschränkten Datenlage noch nicht vor (84). Laut neuesten Studienergebnissen ist ein früher adjuvanter Einsatz eines Systemtherapeutikums nach Operation auch beim nicht metastasierten, lokal fortgeschrittenen NCC, im Sinne eines pT3-Tumors, mit einem erhöhten krankheitsfreien Überleben assoziiert (85).

Als Ansprechen in der bildgebenden Therapiekontrolle gilt eine Abnahme der Tumolvaskularisation, wobei sich die CT bzw. die DECT als adäquate Untersuchungsmethoden gezeigt haben (35), (86), (87).

III. Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Ziel der aktuellen Studie ist eine Bewertung des Dual-Energy CT-Verfahrens hinsichtlich der Unterscheidung unterschiedlicher Subtypen des RCC in einem operierten Patientenkollektiv, unter Untersuchung der immunhistochemisch gefärbten, histopathologischen Präparate auf ihre mikrovaskuläre Dichte.

Bei der Auswertung von DECT-Schnittbildgebung und pathohistologischer Parameter wurden insbesondere folgende Fragestellungen untersucht:

1. Lassen sich die in unserem Studienkollektiv enthaltenen RCC-Subtypen, insbesondere die klarzelligen und papillären Varianten mittels Analyse des Enhancements voneinander unterscheiden? Existiert ein cutoff-Wert zur optimalen Trennung von ccRCC und pRCC?
2. Lassen sich die genannten Subtypen mittels Analyse der Jodaufnahme voneinander differenzieren? Existiert hier ein optimaler Schwellenwert?
3. Gibt es eine Korrelation von Jodaufnahme und Fuhrman-Grad?
4. Gibt es eine Korrelation zwischen der mikrovaskulären Dichte im Gewebepräparat (CD31/CD34-Färbungen) und der Jodaufnahme?
5. Liegt eine Korrelation zwischen mikrovaskulärer Dichte und Tumorgrading vor bzw. gibt es hier einen optimalen cutoff-Wert?
6. Gibt es eine Korrelation zwischen mikrovaskulärer Dichte und RCC-Subtyp?

IV. Material und Methoden

IV.1. Studienpopulation

Wir sammelten retrospektiv die Daten von 74 Patienten mit histologisch gesichertem Nierenzellkarzinom, welche in unserem Zentrum (Urologische Klinik und Poliklinik, Ludwig-Maximilians-Universität München) zwischen Januar 2007 und Juli 2011 offen chirurgisch partiell oder radikal nephrektomiert wurden. Der Beobachtungszeitraum lag somit bei 54 Monaten. Alle eingeschlossenen Patienten gaben ihre ausführliche Zustimmung zu allen in dieser Studie beinhalteten, diagnostischen Maßnahmen. Von den 74 eingeschlossenen Patienten waren 58 männlichen und 16 weiblichen Geschlechts. Das durchschnittliche Patientenalter zum Zeitpunkt der Operation lag bei 63.7 ± 13.1 Jahren (Spanne: 31-87 Jahre). Vorangegangene Systemtherapie bei metastasiertem Nierenzellkarzinom war ein Ausschlusskriterium.

IV.2. Bildgebung per Dual Energy-CT

Alle DECT-Untersuchungen wurden auf einem der beiden im Institut für Klinische Radiologie der Ludwigs-Maximilians-Universität München vorhandenen Multidetector Dual-Source Systemen Siemens Somatom Definition Dual Source (DS) und Siemens Somatom Definition Flash (FLASH) durchgeführt (jeweils Siemens Healthcare, Forchheim, Deutschland). In beiden Systemen kommen wie bereits beschrieben zwei separate Röntgenröhren mit ihren jeweils ihnen gegenüberliegenden Detektoren zum Einsatz.

Die Patienten wurden in Rückenlage auf dem CT-Tisch gelagert. Aufgrund des kleineren Betrachtungsfelds („field of view“, FOV) von 26 cm der B-Röhre beim älteren Dual Source System wurden die Patienten je nach vorbekannter Lage des Tumors mit der ipsilateralen Seite auf dem Tisch gelagert. Bei dem neueren FLASH DECT-Gerät war das aufgrund des größeren FOV von 33 cm nicht mehr nötig. Nach Erstellung von Topogrammen in antero-posteriorer und lateraler Richtung erfolgte das Scannen der Patienten in kraniokaudaler Richtung während der nephrographischen Phase. Dabei wurde allen Patienten 1.3 ml/kg Körpergewicht nicht-ionisches, jodhaltiges Kontrastmittel (350 mg/ml Iomeprol, Produktname Iomeron der Firma Bracco, Mailand, Italien) intravenös appliziert. Die Akquisition mittels DECT erzeugt drei verschiedene Bilderserien: Neben den 80 kV- und den 140 kV-Bildern wird eine dritte Serie mit Informationen aus beiden Röntgenröhren (30 % aus der 80 kV- bzw. 70 % aus der 140 kV-Akquisition) generiert, welche die Bildqualität einer regulären CT mit 120 kV abbilden.

Die Rotationsgeschwindigkeit der Gantry betrug 0.5 Sekunden. Das gewonnene Bildmaterial wurde anschließend an einer speziellen Bearbeitungskonsole („workstation“) über die installierte Bildgebungssoftware syngo.via „CT Dual-Energy“ (Siemens Healthcare, Forchheim, Deutschland) analysiert. Die weitere Verarbeitung der Bilder basiert auf dem Prinzip der „Drei-Material-Dekomposition“, wonach angenommen wird, dass jeder Voxel der Bilderserien aus Jod, Fett oder Weichgewebe besteht (32). Ein enthaltener Softwarealgorithmus („Liver VNC“) simuliert anhand der 80 kV- und 140 kV-Bilderserien eine Jodsubtraktion aus dem Gewebe, zur Generierung virtueller Nativbilder („virtual non-enhanced“, VNE) und zusätzlich eine Bilderserie mit der expliziten Darstellung der Jodanreicherung im Gewebe („iodine-related attenuation“, IRA). Anschließend wird eine farbkodierte Karte erstellt, welche durch Überlagerung der Bilderserien simultan zu den VNE-Bildern die Jodverteilung im Gewebe anzeigt (s. *Abb. 5*). Die Strahlenbelastung der durchgeführten CT-Untersuchung für jeden Patienten wurde über das Dosis-Längen-Produkt (DLP) dokumentiert.

IV.3. Analyse des DECT-Bildmaterials

Auf den Bildern aller Patienten wurde die jeweilige Abschwächung (“attenuation”) der virtuellen Nativphase (“virtual non-contrast“, VNC) sowie die gemessene Abschwächung im Gewebe nach Kontrastmittelgabe (“enhancement”) in Hounsfield-Einheiten (HU) und ferner die Jodaufnahme (“iodine concentration”) einer kreisförmigen Untersuchungsregion (“region of interest“, ROI) gemessen (s. *Abb. 6*). Diese ROI ist über die verwendete Analysesoftware beliebig platzierbar und kann hinsichtlich der Größe verändert werden.

Bei homogenen Tumoren wurde die ROI über den größten Durchmesser der Raumforderung – unter Aussparung der Tumorränder – platziert, um möglichst die gesamte Läsion mit der Messung zu erfassen. Im Falle heterogener Raumforderungen mit Nekrosebildungen wurden nur solide Tumorareale bei der Messung berücksichtigt, in intratumoralen Nekrosearealen ohne Kontrastmittelaufnahme wurde nicht gemessen. Dabei wurde versucht, ein möglichst großes Areal innerhalb der soliden Anteile mit der applizierten ROI abzudecken.

Abb. 5: Transversalschnitt in der DECT: Farbkodierte Karte der Jodanreicherung bei linksseitigem Nierentumor

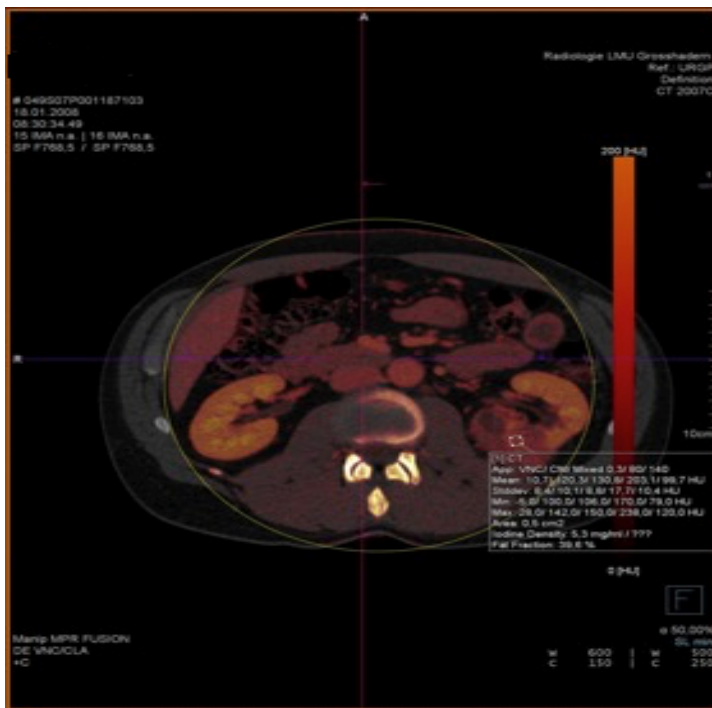
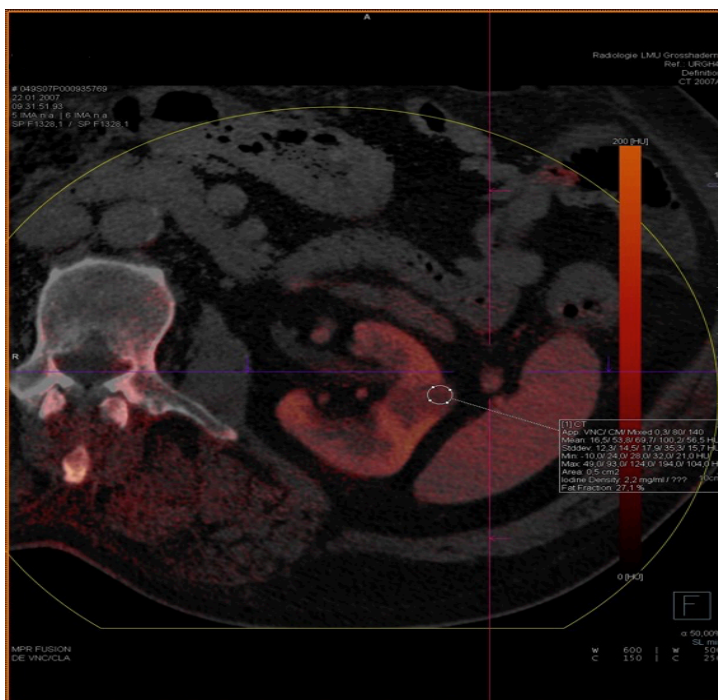


Abb. 6: Transversalschnitt einer DECT: Softwarefenster der applizierten ROI mit Messwerten zu Enhancement und Jodaufnahme



IV.3. Aufbereitung und Färbung der Gewebepräparate

Die Gewebepräparate wurden in unserem hausinternen Pathologischen Institut zunächst im makroskopischen Zuschnitt weiter aufgearbeitet und nach entsprechender Auswahl repräsentativer Gewebeareale diese mit dem Mikrotom auf eine Schichtdicke von 1.5 µm zugeschnitten. Die so ungefärbt auf Objektträgern angefertigten Leerschnitte wurden im Anschluss per Hämatoxylin-Eosin(HE)-Färbung angefärbt. Zusätzlich erfolgte die Anwendung der immunhistochemischen Färbungen mit Anti-CD31 und Anti-CD34 Antikörpern.

Dazu wurden für die Färbung von CD31 ein monoklonaler Maus-Antikörper (Dako/Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) in einer Verdünnung von 1:200, im Falle von CD34 ebenfalls ein monoklonaler Maus-Antikörper (Cell Marque Corporation, Rocklin, CA, USA) in einem Verdünnungsverhältnis von 1:200, angewendet. Nach Zugabe von Paraffin, anschließender Entparaffinierung, Hitzevorbehandlung und Beimischung eines "cell conditioners" (Zellkonditionierer) wurden die entsprechenden Antikörper appliziert und die Objektträger inkubiert. Nach anschließender Gegenfärbung mit Hämatoxylin waren die Präparate bereit zur mikroskopischen Sichtung und Auswertung.

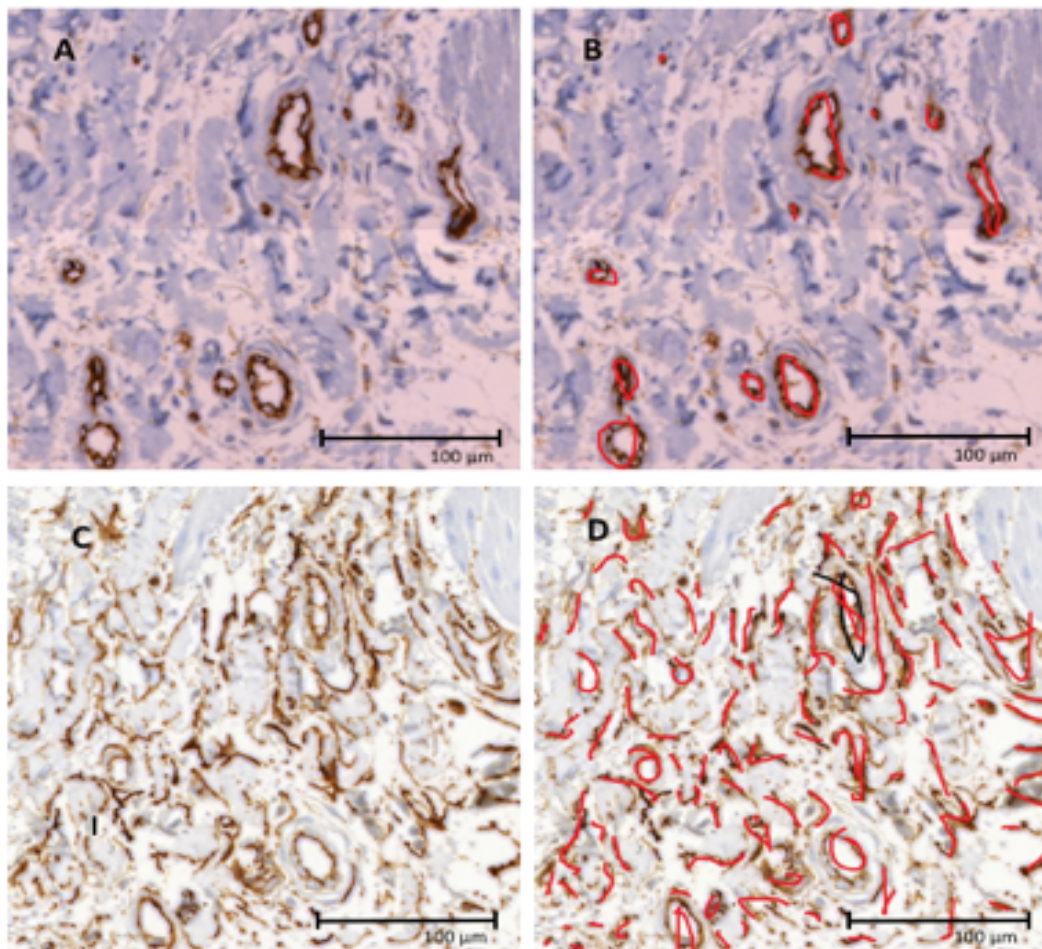
IV.4. Auswertung der Histopathologie bzgl. mikrovaskulärer Dichte

Die ausgewählten, repräsentativen Schnitte wurden anschließend unter einem Mikroskop des Modells DM2500 (Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland) mit einer Gesichtsfeldanzahl von 25 begutachtet. Zunächst wurde die HE-Färbung betrachtet, um den Tumor mikroskopisch zu sichten und ihn dann von dem gesunden Gewebe innerhalb des Objektträgers abzugrenzen. Hierzu wurde der Tumorbereich entsprechend mit einem wasserfesten Markerstift auf dem Objektträger eingezeichnet. Das gleiche erfolgte mit den immunhistochemisch gefärbten Schnittpräparaten. Die so markierten Objektträger wurden zur Digitalisierung des Bildmaterials sowie zur entsprechenden digitalen Nachbearbeitung in einen MIRAX Scanner (Carl Zeiss GmbH, Oberkochen, Deutschland) eingelegt. Mithilfe einer speziellen Software auf dem verbundenen Rechner konnte auf einem groben Umriss des Schnittpräparats der einzuscannende Bereich bestimmt werden. Dabei orientierte man sich an der auf dem Umriss sichtbaren Umrandung des Markerstifts. Sämtliche eingescannten Schnittpräparate wurden auf einem externen Speichermedium gesammelt. Per Personal Computer (PC) und installierter MIRAX Viewer Software (Carl Zeiss GmbH, Oberkochen, Deutschland) waren die Schnitte wie unter einem regulären Mikroskop dank der hohen Auflösung der eingescannten Präparate einer Vergrößerung und Verkleinerung per Zoom-Funktion zugänglich. Anschließend erfolgte die Beurteilung der mikrovaskulären Dichte.

Als zu zählendes Gefäß wurde gemäß den 1991 von Weidner veröffentlichten Kriterien zur mikroskopischen Gefäßdichtebestimmung in Tumoren jede angefärbte Endothelzelle und jeder Endothelzellhaufen, die sich eindeutig getrennt von umliegenden Gefäßen, Tumor- oder Bindegewebe zeigt, gewertet. So wurden auch angefärbte Endothelstrukturen, die womöglich Teile desselben Gefäßes bilden, separat gezählt. Weder das Vorhandensein von Erythrozyten noch eines Gefäßlumens waren zwingende Voraussetzungen für die Definition eines zu zählenden Gefäßes. Unter dem Mikroskop waren bei kleinem Vergrößerungsgrad innerhalb des Tumors die Areale mit der höchsten Gefäßdichte identifiziert und dann bei 200-facher Vergrößerung und einem Areal von 0.74 mm^2 auf die Anzahl der Endothelzellen untersucht worden. Eine 1995 von Weidner publizierte Übersichtsarbeit empfiehlt dabei ein Gesichtsfeld von 0.19 mm^2 nicht zu unterschreiten, um die Aussagekraft der MVD nicht zu minimieren (88), (89). In unserer Studie wurden die vorliegenden Schnittpräparate innerhalb der Software bei kleinem Vergrößerungsgrad (10-20x) hinsichtlich der "hotspots" untersucht. Insgesamt fünf solcher "hotspots" wurden schließlich innerhalb der Software, jeweils für die CD31- und CD34-Färbung, bei 200-facher Vergrößerung und einem Bildausschnitt von $293.42 \times 293.42 \text{ }\mu\text{m}$ (ca. 0.29 mm^2) fotografiert und auf dem externen Speichermedium archiviert. Es wurden von jedem Schnittpräparat fünf solcher Fotos angefertigt. Dabei wurde bei der Auswahl der hotspots sorgfältig auf die Einhaltung korrespondierender Areale zwischen den CD31 und CD34-Färbungen geachtet.

Die gespeicherten Fotos wurden im Anschluss auf dem PC in der Bildbearbeitungssoftware Paint (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) geöffnet und die einzelnen Gefäßanschnitte mit roten Pinselstrichen mittlerer Dicke markiert, um bereits gezählte Gefäße nicht doppelt zu zählen (s. *Abb. 7*). Die so bearbeiteten Bilder wurden ebenfalls auf einem externen Speichermedium gespeichert.

Abb. 7: Korrespondierendes Gewebeareal eines ccRCC nach Färbung mit CD31 und CD34 vor (A und C) und nach (B und D) farblicher Markierung der Endothelzellen



IV.4. Statistische Analyse

Zur statistischen Auswertung wurde die Software Statistica 13 (Statistica, Tulsa, OK, USA) sowie MedCalc 16 (MedCalc, Ostend, Belgien) verwendet.

Da bei den meisten Parametern keine Normalverteilung vorlag (laut Kolmogorov-Smirnov-Test), erfolgte die Anwendung nichtparametrischer Tests: Der Mann-Whitney-Test zum Vergleich von zwei Gruppen, Kruskal-Wallis-ANOVA incl. post hoc-Tests zum Vergleich von mehr als zwei Gruppen.

Es wurde zudem eine "receiver operating characteristic" (ROC)-Analyse (=Grenzwertoptimierungskurve) zur Beurteilung der Aussagekraft von Schwellenwerten erhobener radiologischer und pathologischer Parameter, die Qualität des Tests wurde mittels Analyse der Fläche unter der Kurve ("area under the curve", AUC) bewertet. Dabei stellte ein Wert von 1 eine optimale Diskriminierungsfähigkeit des zu beurteilenden Parameters dar. Die Spearman-Rangkorrelation R erfolgte zur Analyse des Zusammenhangs zwischen zwei Parametern (z.B. MVD und Jodkonzentration). Für die statistische Analyse der gezählten Gefäßanschnitte der CD31- und CD34-Färbungen der histopathologischen Präparate wurde jeweils der Mittelwert aus den fünf ausgezählten Hotspots gebildet. Als statistisch signifikant wurden p-Werte kleiner als 0.05 gewertet.

V. Ergebnisse

V.1. Tumorspezifikationen

Von den insgesamt 74 Fällen fand sich bei 55 Patienten in der histopathologischen Analyse ein ccRCC, wobei sich in zwei Fällen eine sarkomatoide Entdifferenzierung zeigte. Bei 15 Patienten zeigte sich ein pRCC, bei drei Patienten ein chRCC. In einem Fall fand sich ein multilokulär zystisches RCC als indolente Variante eines ccRCC.

Die einzelnen Patientengruppen wurden nach Aufteilung nach Subtyp auch hinsichtlich des Fuhrman-Grads untersucht. So fand sich bei neun Patienten mit klarzelligem Tumor eine gute Differenzierung (G1), bei 33 Patienten eine mäßige Tumordifferenzierung (G2), in zehn Fällen ein entdifferenzierter Tumor (G3). In drei Fällen fand sich ein G4-Befund, wobei zwei davon auf die sarkomatoid entdifferenzierten Tumoren entfielen.

Bei den papillären Tumoren lag in drei Fällen ein G1, in neun Fällen ein G2, in drei Fällen ein G3, sowie bei einem Patienten ein unklarer Befund vor.

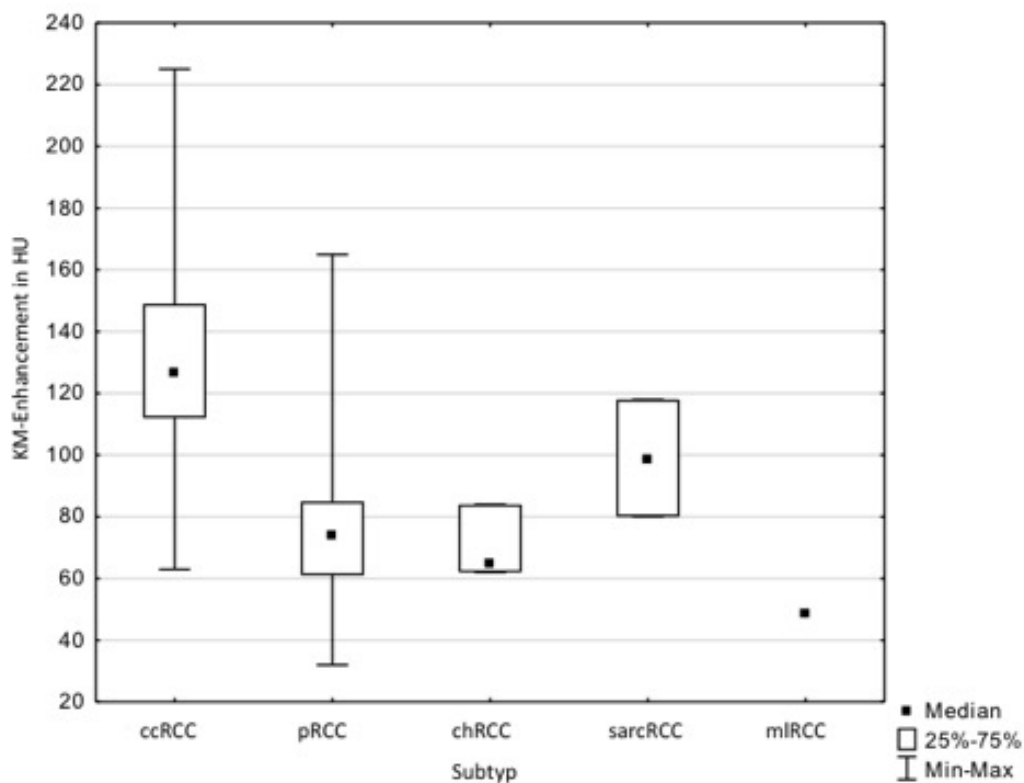
Bei den Patienten mit papillärem Tumor fanden sich in drei Fällen ein G1-Befund, in sieben Fällen eine G2- und in drei weiteren eine G3-Differenzierung. In einem Fall war durch die Pathologie kein Fuhrman-Grading angegeben. Die drei chromophoben Tumore verteilten sich auf zwei G2- und eine G3-Differenzierung. Der multilokulär zystische Tumor zeigte sich charakteristischerweise gut differenziert (G1).

V.2. Korrelation von KM-Aufnahme mit RCC-Subtyp

Im Hinblick auf die Kontrastmittelaufnahme zeigte sich zwischen papillären und klarzelligen Subtypen ein signifikanter Unterschied ($p < 0.001$, s. *Abb. 8*).

So ergab sich für das ccRCC ein mittleres Enhancement von 129.7 ± 34.1 HU (Spanne: 63 - 225 HU), für das pRCC wurden gemittelt 76.7 ± 30.6 HU (32 - 165 HU) gemessen. Die geringe Anzahl der übrigen Tumorvarianten reichte nicht für eine statistische Berechnung aus. Der Mittelwert des Enhancements bei den chRCC betrug 70.3 HU (62 - 84 HU), bei den zwei sarkomatoid entdifferenzierten ccRCC 99 HU (80 - 118 HU) und bei dem Einzelfall des multilokulär-zystischen RCC 49 HU.

Abb. 8: Vergleich der KM-Aufnahme der RCC-Subtypen:



Die ROC-Analyse (s. *Abb. 9 und 10*) ergab, bei einer “area under the curve” (AUC) von 0.895 (95 % Konfidenzintervall 0.747 - 0.956), einen optimalen cutoff-Wert von ≤ 105 HU zur Identifikation eines papillären Tumors gegenüber einem klarzelligem Karzinom ($p < 0.001$). Unter Anwendung dieses Schwellenwerts errechnete sich für die Identifikation eines pRCC eine Sensitivität von 93.3 %, eine Spezifität von 81.1 % und eine Gesamtgenauigkeit von 83.8 % (57 von 68 korrekt eingestufte Patienten) für die Identifikation eines pRCC.

Abb. 9: ROC-Analyse zur Unterscheidung zwischen ccRCC und pRCC nach Enhancement

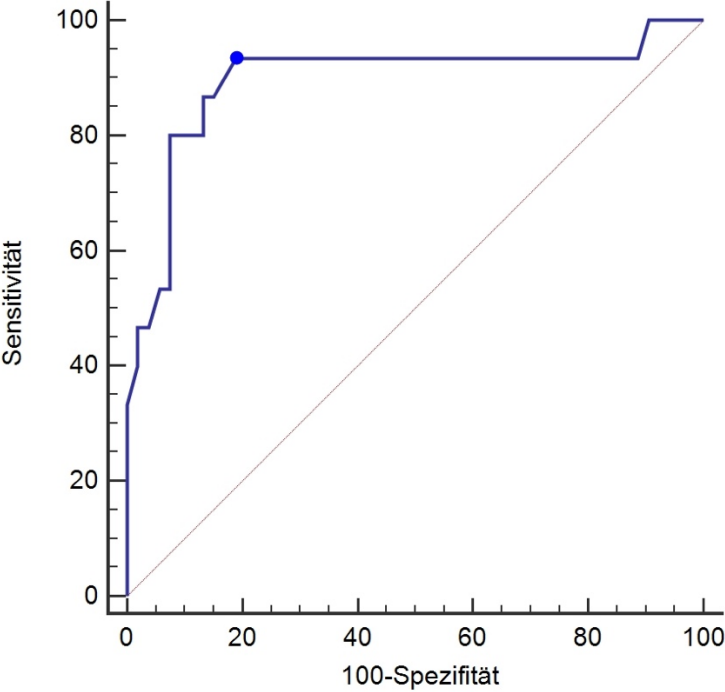
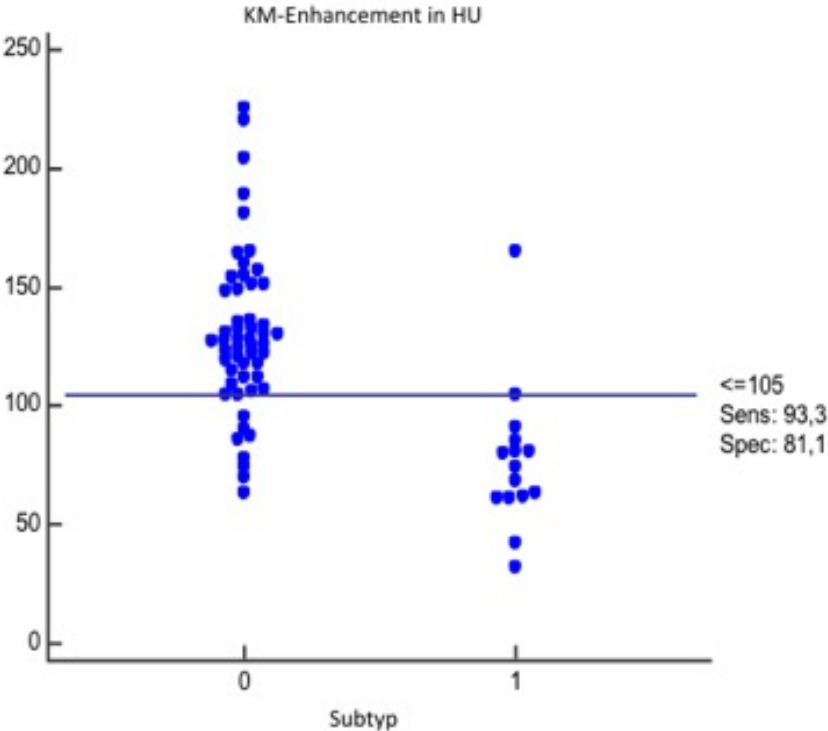


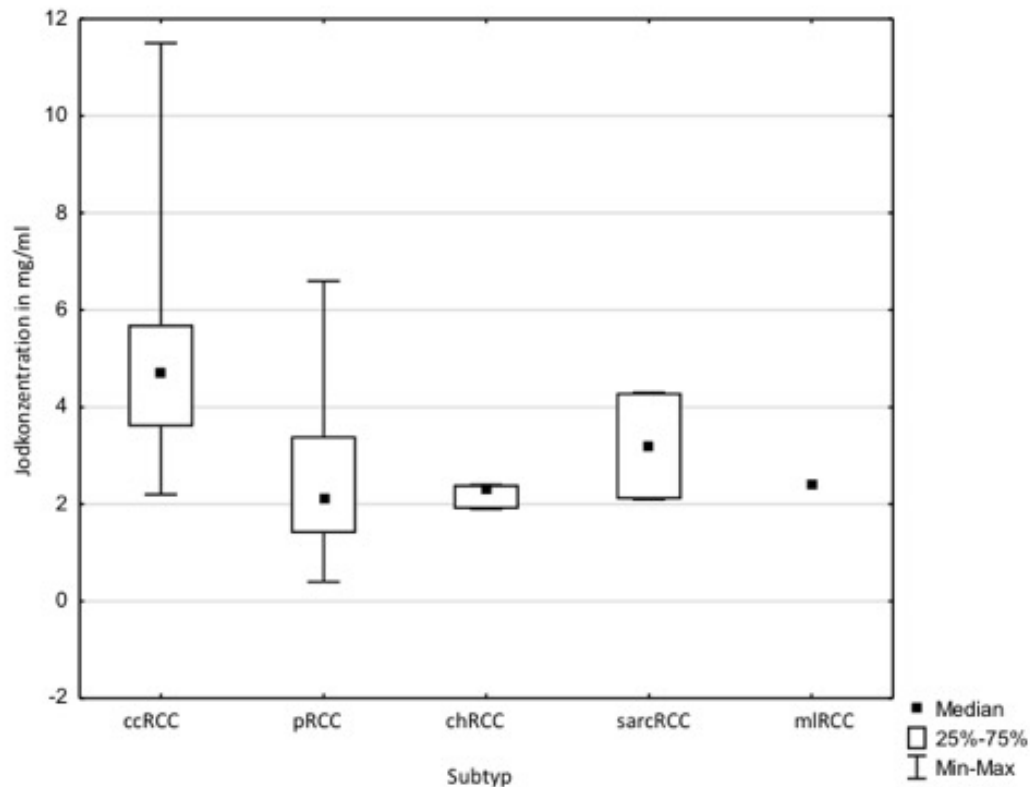
Abb. 10: Darstellung des Cutoff-Werts zur Differenzierung zwischen ccRCC und pRCC nach Enhancement



V.3. Korrelation von Jodaufnahme mit RCC-Subtyp

Hinsichtlich der Jodaufnahme (=Jodkonzentration) zeigten sich zwischen dem klarzelligen und dem papillären RCC ebenso signifikante Unterschiede ($p < 0.001$, s. *Abb. 11*). So ergab sich für die klarzelligen Karzinome ein durchschnittlicher Wert von 4.83 ± 1.75 mg/ml (Spanne: 2.2 - 11.5 mg/ml), für die papillären Tumoren ein Durchschnittswert von 2.53 ± 1.59 mg/ml (0.4 - 6.6 mg/ml). Die übrigen Subtypen gingen auch bei der statistischen Evaluation der Jodkonzentration nicht in die Berechnung mit ein. Dabei ergaben sich für die Jodkonzentration Mittelwerte von 2.2 mg/ml (1.9 - 2.4 mg/ml) für das chRCC, 3.2 mg/ml (2.1 - 4.3 mg/ml) für die sarkomatoid entdifferenzierten RCC sowie 2.4 mg/ml für das multilokulär-zystische RCC.

Abb. 11: Vergleich der Jodkonzentration der RCC-Subtypen



Bei der durchgeführten ROC-Analyse ergab sich, bei einer AUC von 0.866 (95 % Konfidenzintervall: 0.762 - 0.937), ein optimaler cutoff-Wert von ≤ 3.1 mg/ml zur Identifikation eines papillären Tumors gegenüber einem ccRCC ($p < 0.001$). Unter Verwendung dieses Schwellenwerts (s. roter Marker in der ROC-Kurve und Darstellung des cutoff-Werts, *Abb. 12 u. 13*) wurde eine Spezifität von 90.6 %, eine Sensitivität von 73.3 % sowie eine Gesamtgenauigkeit von 86.8 % (59 von 68 korrekt eingestufte Patienten) für die Identifikation eines pRCC berechnet.

Abb. 12: ROC-Analyse zur Unterscheidung zwischen pRCC und ccRCC nach Jodkonzentration

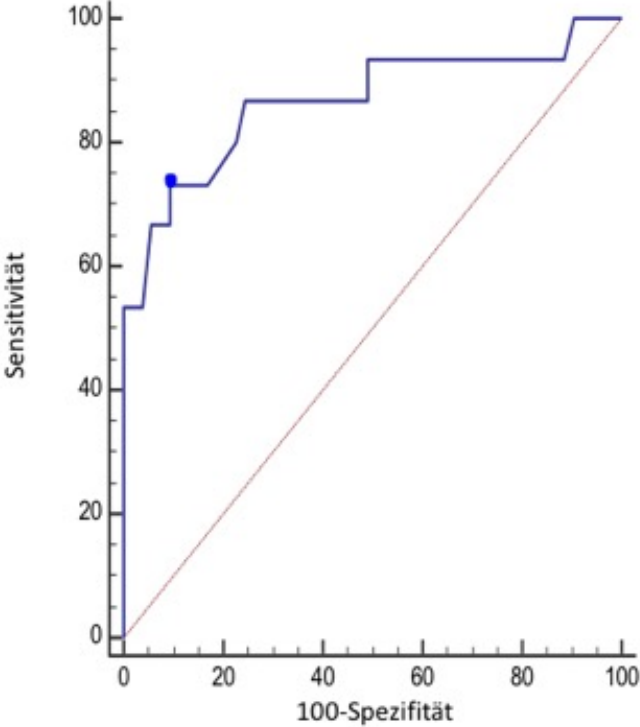
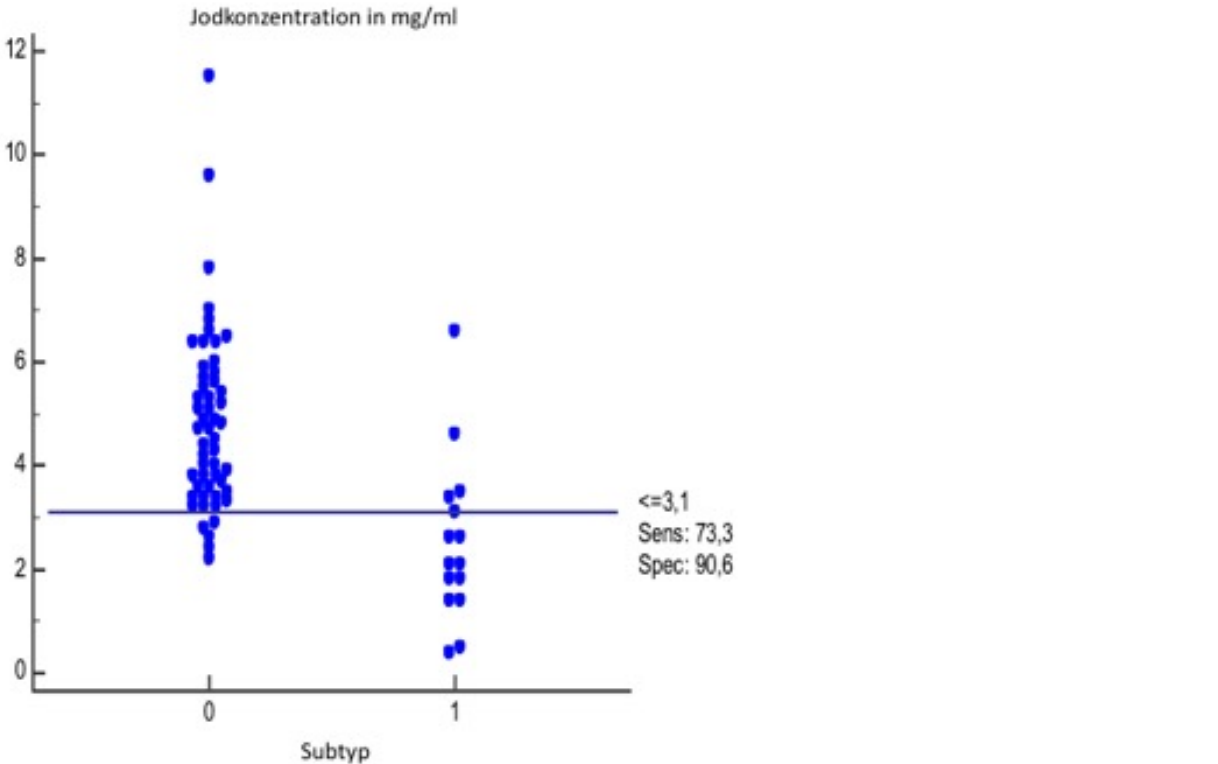


Abb. 13: Darstellung des Cutoff-Werts zur Differenzierung zwischen ccRCC und pRCC nach Jodkonzentration



0 = klarzellig
1 = papillär

V.4. Korrelation von Jodaufnahme und Fuhrman-Grad

Bei der Analyse von Jodaufnahme im Gewebe und entsprechender Korrelation mit den Fuhrman-Graduierungen, unter Einbeziehung aller Karzinome in unserem Kollektiv (s. *Abb. 14*), ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen besser (G1 und G2) und schlechter differenzierten (G3 und G4) Tumoren feststellen ($p=0.066$).

Wurden nur die klarzelligen Tumoren auf die genannte Unterscheidung des G-Stadiums anhand der Jodaufnahme analysiert (s. *Abb. 15*), ergab sich hier ein signifikanter Wert ($p=0.045$). Bei Limitierung der Analyse auf die papillären Tumoren (s. *Abb. 16*) fand sich hingegen keine statistische Signifikanz ($p=0.938$).

Abb. 14: Korrelation von Jodaufnahme und Fuhrman-Grad (alle RCC)

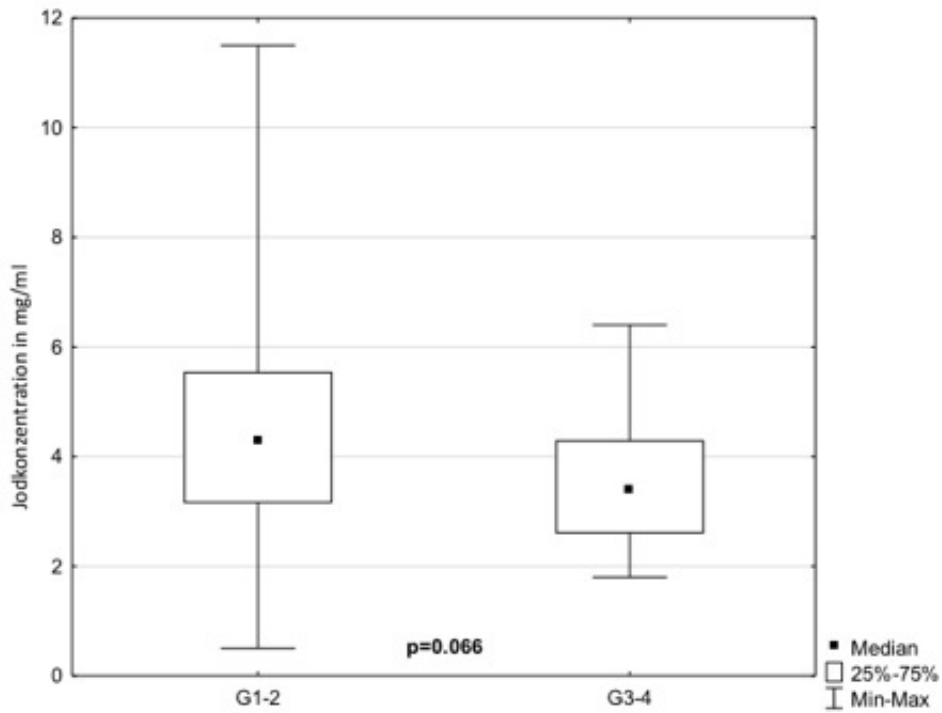


Abb. 15: Korrelation von Jodaufnahme und Fuhrman-Grad (nur ccRCC)

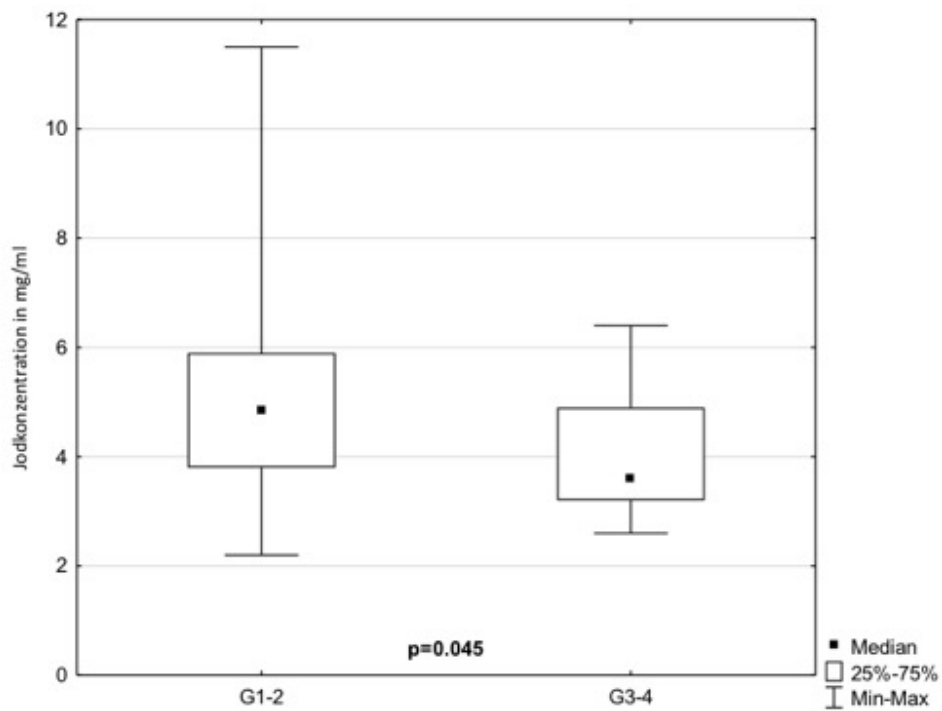
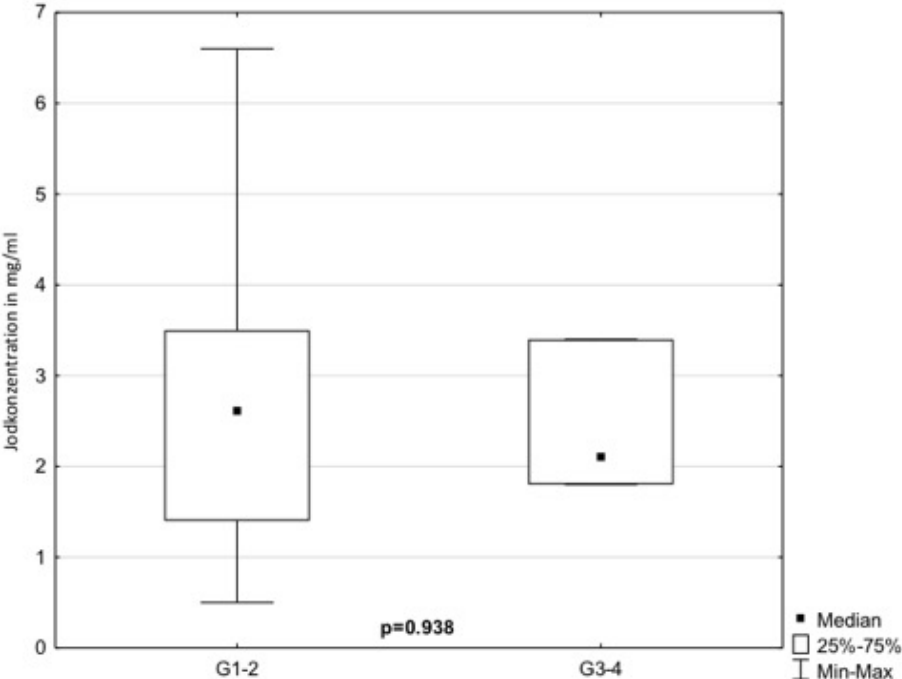


Abb. 16: Korrelation von Jodaufnahme und Fuhrman-Grad (nur pRCC)

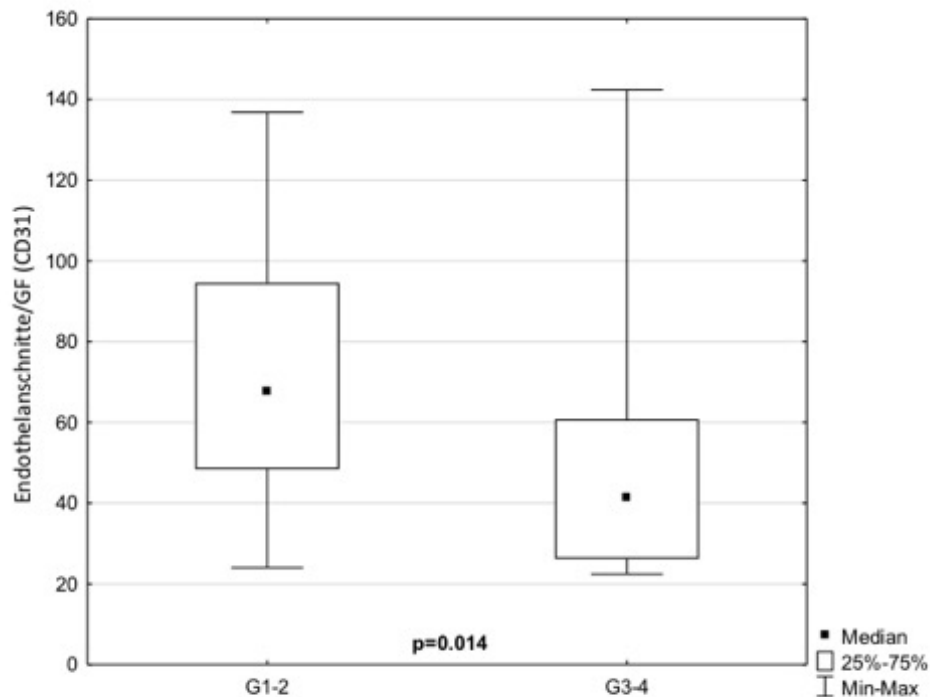


V.5. Korrelation von MVD und Fuhrman-Grad

Hinsichtlich der per ausgezählte Gefäßanschnitte evaluierten mikrovaskulären Dichte in den CD31- und CD34-Färbungen wurden, wie oben erwähnt, aus den fünf „hotspots“ die Mittelwerte gebildet. Der Median in der ccRCC-Gruppe betrug 62 (Spanne: 22 - 142) für CD31 und 55 (Spanne: 8 - 154) für CD34. Der Median in der pRCC-Gruppe lag bei 14 (Spanne: 5 - 23) für CD31 und bei 12 (Spanne: 6-18) für CD34.

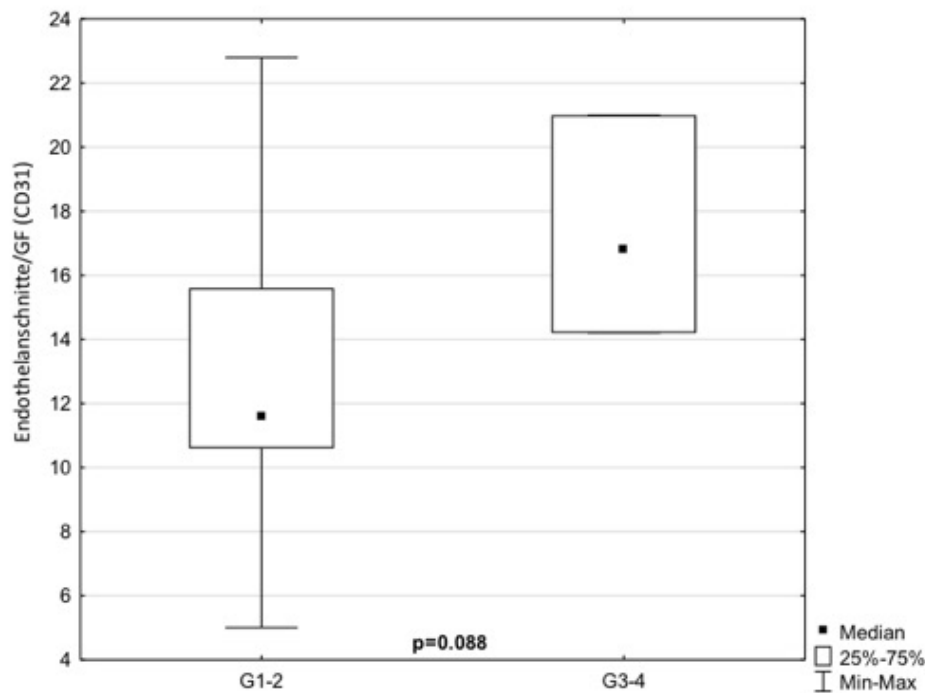
Beim Vergleich der mit CD31 ermittelten mikrovaskulären Dichte mit dem Fuhrman-Grad des Kollektivs (s. *Abb. 17*) konnten besser differenzierte, klarzellige Tumoren (G1 und G2) signifikant von entdifferenzierteren Karzinomen (G3 und G4) unterschieden werden ($p=0.01$). Die AUC lag bei 0.739 (95 % Konfidenzintervall: 0.6 - 0.85). In der ROC-Analyse wurde ein optimaler Cutoff-Wert bzgl. der CD31-MVD von ≤ 47 berechnet, welche die Detektion klarzelliger G3- und G4-Tumoren mit einer Sensitivität von 72.7 % und einer Spezifität von 78.6 % ermöglichte.

Abb. 17: Zusammenhang von CD31 und Grading beim ccRCC



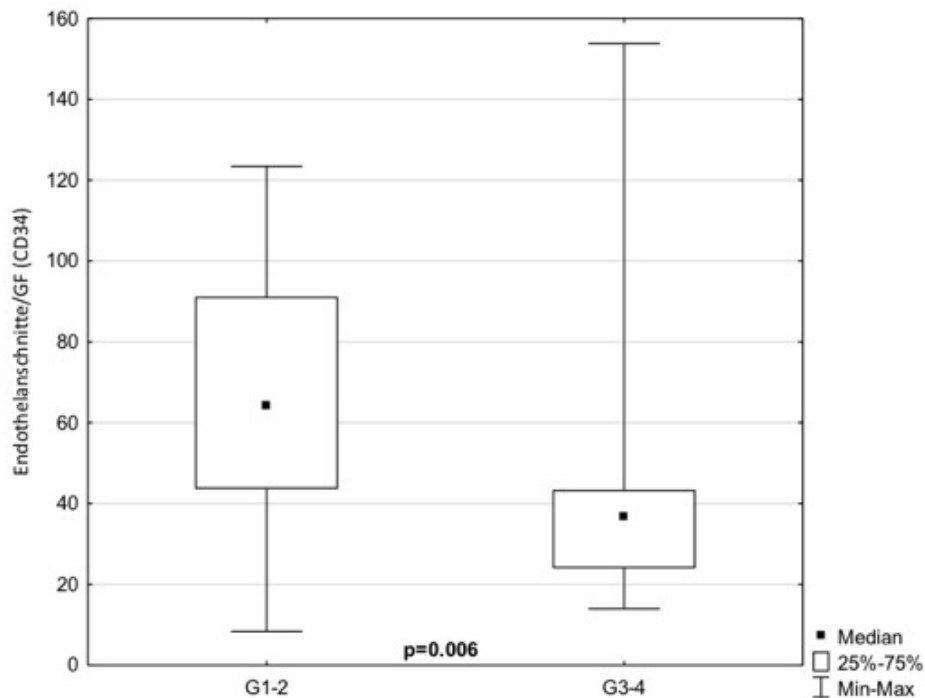
Beim papillären Subtyp (s. *Abb. 18*) konnten G3- und G4-Tumoren in der Korrelation mit CD31 nicht signifikant von gut differenzierten Karzinomen unterschieden werden ($p=0.09$). Die ROC-Analyse ergab eine AUC von 0.848 (95 % Konfidenzintervall: 0.562 - 0.979, $p=0.002$). Bei einem ermittelten Cutoff-Wert von ≥ 14 Endothelanschnitten pro Gesichtsfeld (GF) ergab sich für die Detektion von G3- und G4-Tumoren eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 72.2 %.

Abb. 18: Zusammenhang von CD31 und Grading beim pRCC



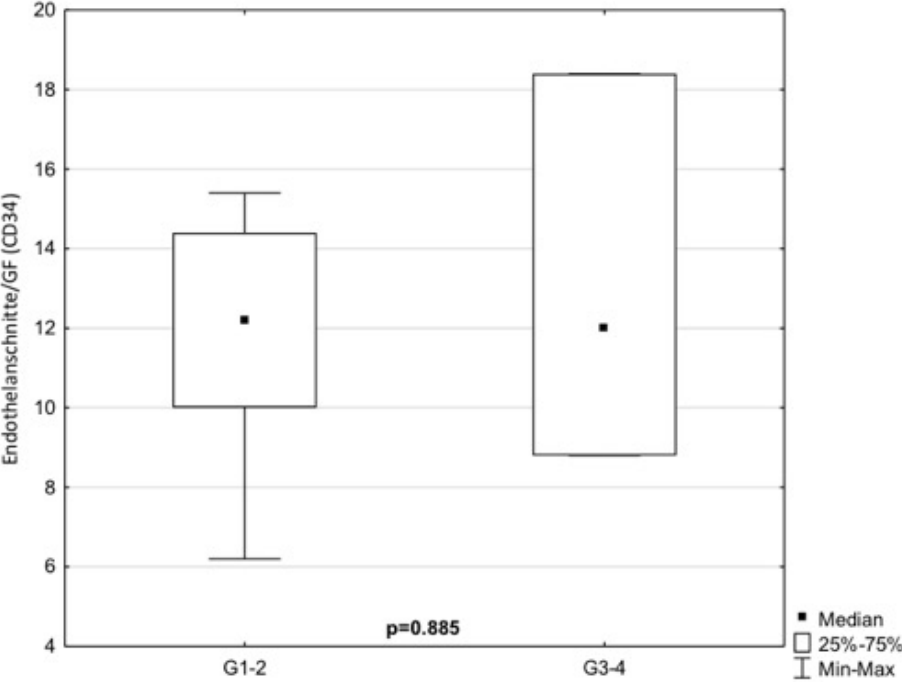
Im Vergleich zwischen dem Fuhrman-Grading und der MVD unter Verwendung von CD34 zeigte sich bei den ccRCC (s. *Abb. 19*) ein signifikanter Unterschied zwischen G1-/G2-Tumoren und entdifferenzierteren Tumoren ($p=0.006$). In der ROC-Analyse fand sich eine AUC von 0.764 (95 % Konfidenzintervall: 0.627 - 0.87, $p=0.005$). Bei einem Cutoff-Wert von ≤ 43 Gefäßanschnitten zeigte sich im Hinblick auf die Detektion eines G3-/G4-Tumors eine Sensitivität von 81.8 % sowie eine Spezifität von 76.2 %.

Abb. 19: Zusammenhang von CD34 und Grading beim ccRCC



Bei den pRCC (s. *Abb. 20*) fand sich in der gleichen Korrelation von CD34 und Grading kein signifikanter Unterschied zwischen G1/G2-Tumoren und entdifferenzierten Karzinomen. Die ROC-Analyse ergab eine AUC von 0.545 (95% Konfidenzintervall: 0.267 - 0.804, $p=0.858$) und funktionierte somit nicht. Ein bestimmter Cutoff-Wert von ≥ 16 Gefäßanschnitten ergab bzgl. der Detektion von G3-/G4-Tumoren eine Sensitivität von 33.3 % und eine Spezifität von 100 %.

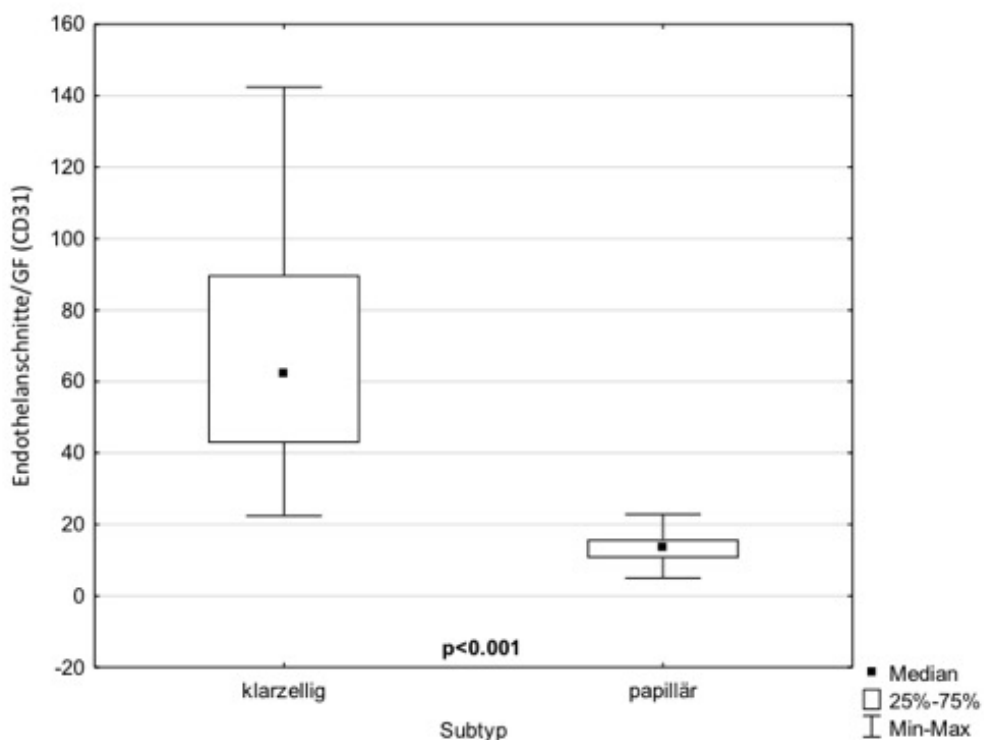
Abb. 20: Zusammenhang von CD34 und Grading beim pRCC



V.6. Korrelation von MVD und histologischem Subtyp

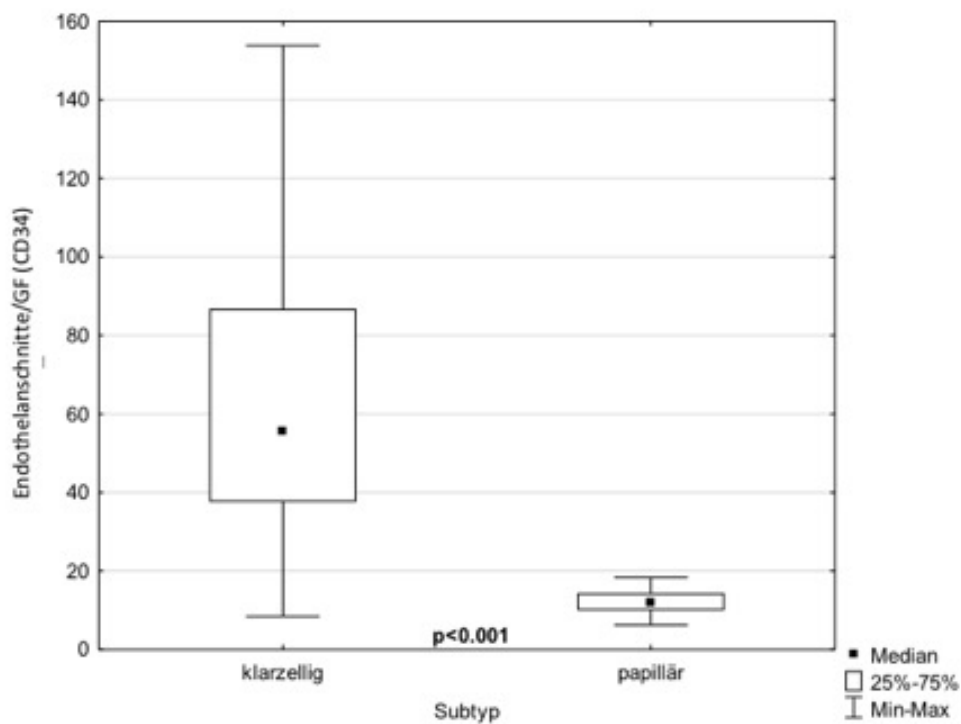
Bei der Korrelation von MVD in Form von CD31 mit dem histologischen Subtyp lässt sich ein signifikanter Unterschied zwischen papillären und klarzelligen Karzinomen abbilden ($p < 0.001$, s. *Abb. 21*). In der ROC-Analyse zeigt sich die AUC mit 0.999 (95 % Konfidenzintervall: 0.945 - 1.0, $p < 0.001$). Bei einem Cutoff-Wert von ≤ 23 Gefäßanschnitten ergibt sich bzgl. der Detektion eines papillären gegenüber eines klarzelligen Karzinoms eine Sensitivität von 100 % sowie eine Spezifität von 98.1 %.

Abb. 21: Zusammenhang von CD31 und RCC-Subtyp



Bei der Korrelation von CD34 und histologischem Subtyp findet sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen ccRCC und pRCC ($p < 0.001$, s. Abb. 22). In der ROC-Analyse ergibt sich eine AUC von 0.977 (95 % Konfidenzintervall: 0.908 - 0.998, $p < 0.001$). Es findet sich ein optimaler Cutoff-Wert von ≤ 18 Endothelanschnitten, mit dem eine Detektion von pRCC gegenüber ccRCC mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 94.3 % gelingt.

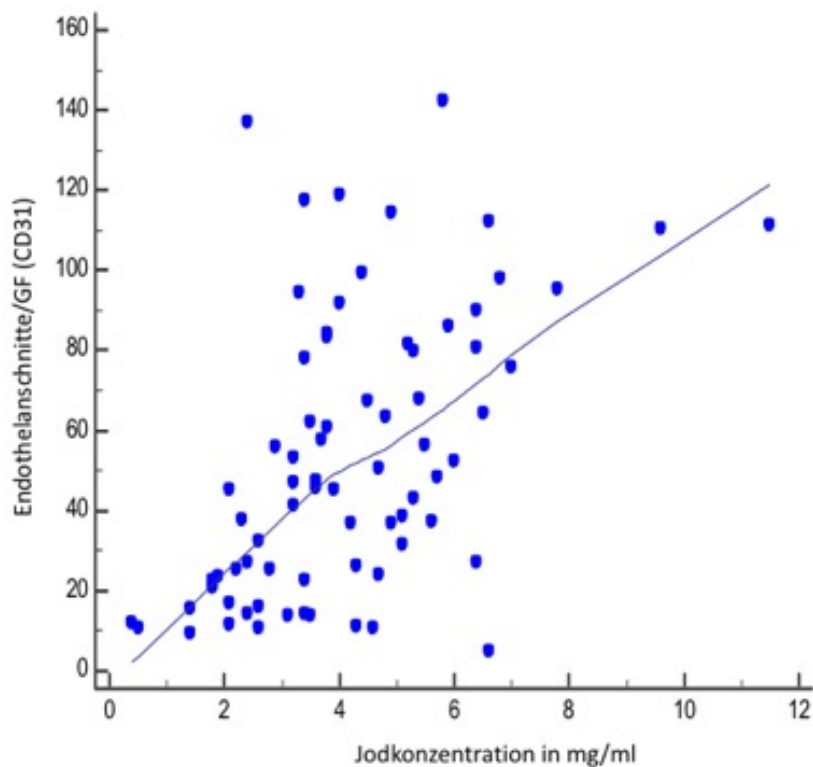
Abb. 22: Zusammenhang von CD34 und RCC-Subtyp



V.7. Korrelation von Jodaufnahme und MVD

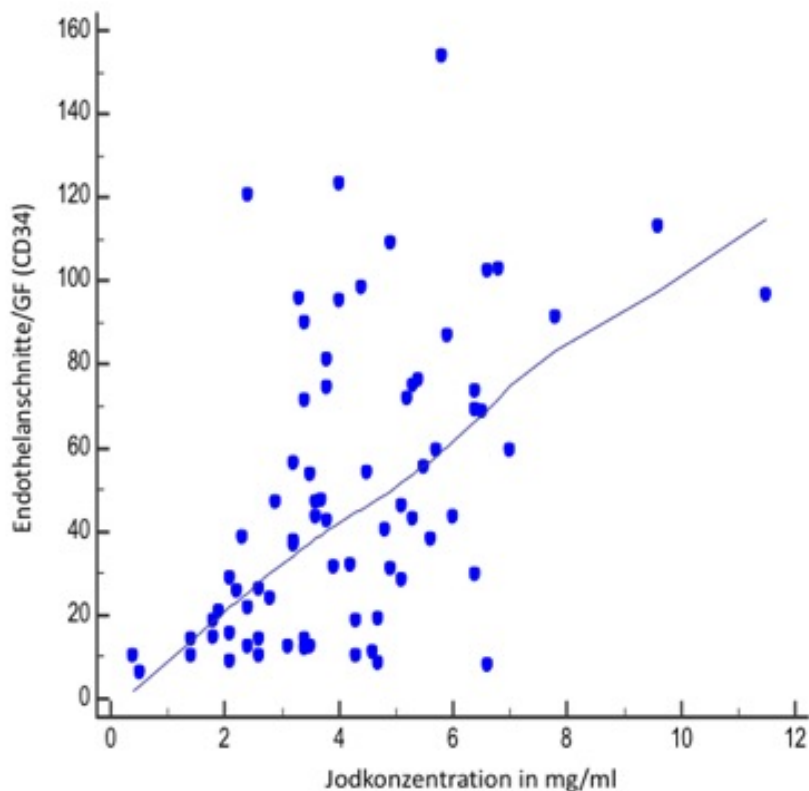
Im Vergleich mittels Spearman-Rangkorrelation zum Vergleich des Zusammenhangs von zwei Parametern zeigt sich bei der Korrelation von gemessener Jodkonzentration im DECT und der mikrovaskulären Dichte in der Immunhistochemie im Fall von CD31 (s. Abb. 23) ein R-Wert (=Rangkorrelationskoeffizient) von 0.539 ($p < 0.001$) für alle RCC. Zudem zeigt sich bei reinem Einschluss der ccRCC ein R-Wert von 0.3 ($p = 0.029$), bei Analyse der pRCC ein R-Wert von -0.172 ($p = 0.539$).

Abb. 23: Korrelation von Jodaufnahme und MVD (CD31)



Im Fall von CD34 zeigt sich bei der Korrelation von MVD und gemessener Jodaufnahme (s. Abb. 24) ein R-Wert von 0.537 ($p < 0.001$) und somit ein positiver Zusammenhang von MVD und Jodaufnahme unter Einschluss aller RCC. Bei Limitation der Analyse auf die ccRCC zeigt sich ein R-Wert von 0.331 ($p = 0.016$) und somit ebenfalls eine positive Korrelation beider Parameter. Bei den papillären Tumoren errechnet sich keine signifikante Korrelation beider Parameter, bei einem R-Wert von -0.022 ($p = 0.937$).

Abb. 24: Korrelation von Jodaufnahme und MVD (CD34)



VI. Diskussion

Die klarzelligen, papillären und chromophoben Tumorvarianten bilden den Hauptanteil der klinisch relevanten Nierenzellkarzinome.

Die einzelnen Subtypen des RCC variieren neben ihrer Morphologie in Bildgebung und Histopathologie auch bzgl. ihrer Prognose. Bei der Planung einer Systemtherapie beim mRCC unterscheiden sie sich zudem hinsichtlich des therapeutischen Ansatzes voneinander (84). Der Aussagekraft einer prätherapeutischen Biopsie mit Gewinnung von Gewebe zur histologischen Einordnung eines Nierenzellkarzinoms stehen die Invasivität und damit verbundene, mögliche Komplikationen, wie ein Blutungs- bzw. Infektionsrisiko oder die Entwicklung eines Pneumothorax, zudem das Risiko falsch negativer Probengewinnung bei Fehlpunktion gegenüber (90).

Die Beleuchtung nicht-invasiver Methoden zur entsprechenden Subtypisierung im Sinne eines Einsatzes kontrastmittelverstärkter Schnittbildgebung zielt auf die Beurteilung der Tumorperfusion und der unterschiedlichen Vaskularisation einzelner RCC-Varianten. Diese Neubildung von Gefäßen stellt einen essentiellen Faktor im Wachstum solider Tumoren dar (9). Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit der Frage, inwiefern die Dual Energy-CT durch die Detektion subtiler Jodaufnahmen im Gewebe zu einer genaueren Einordnung einer suspekten Läsion bzgl. ihres Subtyps und ihres Differenzierungsgrads beitragen kann.

Darüber hinaus sollte durch die Analyse der immunhistochemisch gefärbten Schnittpräparate – anhand der Beurteilung der Gefäßdichte über die Endothelmarker CD31 und CD34 – eine zusätzliche Bewertung der Tumorangiogenese und einer Korrelation mit den DECT-Parametern erfolgen.

VI.1. Korrelation von Enhancement und RCC-Subtyp

In unserer Arbeit konnten wir einen signifikanten Unterschied zwischen pRCC und ccRCC hinsichtlich der Kontrastmittelaufnahme der soliden Tumoranteile in der nephrographischen Phase des durchgeführten DECT demonstrieren. Die erhobenen Werte sprechen für ein unterschiedliches Perfusionsmuster der beiden Tumorentitäten sowie eine erhöhte Vaskularisierung der ccRCC.

Über eine cutoff-Analyse berechneten wir einen Schwellenwert von 105 HU für die Identifikation eines pRCC gegenüber einem klarzelligem Tumor über das Enhancement, wobei für das ccRCC ein durchschnittlicher Wert von 129.7 HU und für das pRCC ein Mittelwert von 76.7 HU zu verzeichnen war. Diese Ergebnisse decken sich mit den zu erwartenden Werten für ein Enhancement von ccRCC und pRCC während der nephrographischen Phase (3), (55), (56).

Ein pRCC ließ sich hier mit einer Spezifität von 81,1 %, einer Sensitivität von 93.3 % und einer Gesamtgenauigkeit von 83.8 % (57 von 68 korrekt eingestufte Patienten) von einem ccRCC differenzieren.

Frühere Studien haben sich bereits mit dem Thema der Unterscheidung von RCC-Subtypen mit Hilfe von Schnittbildgebung beschäftigt, wobei die an vorheriger Stelle bereits erwähnten Unterschiede in den Anreicherungsmustern des Kontrastmittels zwischen den einzelnen Tumorvarianten weiter analysiert wurden. Im Allgemeinen wird bei der Verwendung der MDCT zur näheren Klassifizierung der Raumforderungen ein Dichtewert von 15 - 20 HU als Schwellenwert für maligne Nierenläsionen gefordert (91). In einer Studie von Young et al. wurden insgesamt 298 Patienten mit RCC verschiedener Subtypen sowie Onkozytomen vor operativer Therapie mittels multiphasischer MDCT untersucht. Hier zeigten die ccRCC sowie die Onkozytome das am stärksten ausgeprägte Enhancement während der kortikomedullären Phase, die pRCC und chRCC die intensivste Anreicherung während der nephrographischen Phase. Das ccRCC zeigte dabei in den meisten analysierten Phasen der CT-Untersuchung ein signifikant intensiveres Enhancement gegenüber den anderen Subtypen, was eine aus früheren Studien bekannte Beobachtung darstellt ($p < 0.001$ bis $p = 0.008$) (92). Lediglich der Vergleich von ccRCC und chRCC während der nephrographischen Phase erbrachte trotz höherer Enhancement-Werte für das ccRCC keine statistische Signifikanz ($p = 0.052$). Im Vergleich zwischen papillärem und klarzelligem Subtyp fiel ein signifikant höheres Enhancement zugunsten des ccRCC auf ($p < 0.001$ in allen Phasen).

Speziell in der nephrographischen Phase zeigten sich durchschnittliche Dichtewerte von 103 vs. 64 HU für ccRCC und pRCC, welche etwas unter den von uns erhobenen Mittelwerten lagen.

Mittels cutoff-Analyse wurden multiphasische Schwellenwerte zur optimalen Unterscheidung der Subtypen bestimmt, z.B. die Differenzierung von ccRCC und Onkozytomen in 83 von 108 Fällen (77% Genauigkeit) und zwischen ccRCC und chRCC in 81 von 97 Fällen (84% Genauigkeit). Damit gelang in der monophasischen Auswertung, mit einem errechneten Schwellenwert von 65 HU in der nephrographischen Phase, eine korrekte Unterscheidung zwischen ccRCC und pRCC in 141 von 173 Fällen (82% Genauigkeit), wobei die papillären Tumoren mit n=53 einen relevanten Anteil am Gesamtkollektiv hatten (31). Der von uns berechnete cutoff-Wert von 105 HU erzielte mit knapp 84 % Gesamtgenauigkeit in unserem Kollektiv ein leicht besseres Ergebnis in der Unterscheidung von ccRCC und pRCC, wobei wir die Unterscheidung von ccRCC und chRCC aufgrund der geringen Anzahl an chromophoben Tumoren nicht analysiert haben. Unter Verwendung aller drei CT-Phasen errechnete sich in der Studie von Young et al. für die Unterscheidung zwischen pRCC und ccRCC eine Genauigkeit von 85 %.

Eine weitere Studie von Ruppert-Kohlmayr et al. analysierte ebenfalls das Enhancement der einzelnen CT-Phasen über die Applikation von Messregionen – unter Aussparung nekrotischer Areale – und versuchte intrinsische (Nierenfunktion, Hydratationsstatus des Patienten) Störfaktoren über eine Korrektur mittels Einführung einer festen, standardisierten Messkonstante zu beseitigen.

Die so gemessene, relative KM-Anreicherung in den kortikomedullären und nephrographischen Phasen unterschied sich signifikant voneinander. Speziell in der nephrographischen Phase zeigten sich wiederum etwas niedrigere Werte im Vergleich zu unserer Studie, mit durchschnittlichen Dichtewerten von 105.1 HU und 67.3 HU für ccRCC und pRCC.

Unter Berücksichtigung des errechneten cutoff-Werts von 85 HU in der nephrographischen Phase konnten ccRCC von pRCC signifikant ($p < 0.05$) und mit einer Genauigkeit von 94.8 % unterschieden werden, was über der von uns errechneten Gesamtgenauigkeit liegt, bei insgesamt ähnlicher Anzahl an eingeschlossenen pRCC ($n=16$) in die Studie (93). Eine weitere Studie von Sun et al. ging der gleichen Frage mit Hilfe einer kontrastmittelverstärkten MR-Bildgebung nach und beurteilte die Änderungen in der Signalintensität für jede Phase der Untersuchung. Entsprechende Änderungen, insbesondere in der kortikomedullären Phase, erlaubten eine Unterscheidung von ccRCC und pRCC mit einer Sensitivität von 96 % und einer Spezifität von 93 %, wobei sich auch ccRCC und chRCC in der Änderung ihrer Signalintensität in beiden genannten Phasen signifikant voneinander unterschieden. Zusätzlich wurde die Änderung des Signalverhaltens der Tumoren mit jener des angrenzenden Nierenparenchyms verglichen ("tumor-to-cortex enhancement index"). Auch unter Anwendung dieses Index ließen sich die ccRCC von den übrigen Subtypen mit statistischer Signifikanz ($p < 0.0001$ bis $p = 0.04$) unterscheiden. Zudem war eine grenzwertig signifikante Unterscheidung ($p = 0.05$) von pRCC und chRCC in der nephrographischen Phase festzustellen. (94).

VI.2. Korrelation von Jodaufnahme und RCC-Subtyp bzw. Grading

Die DECT hat sich im Allgemeinen als geeignetes Instrument zur Abbildung der Tumorperfusion, über die Messung der Jodaufnahme im Gewebe, etabliert. Dies ist im Besonderen in Studien zum Therapiemonitoring unter antiangiogenetischer Therapie maligner Erkrankungen untersucht worden, so u.a. für das hepatozelluläre Karzinom sowie das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom (95), (96). Bzgl. der Jodkonzentration unterschieden sich pRCC und ccRCC signifikant voneinander, bei einem höheren Mittelwert von 4.83 mg/ml für die klarzelligen Tumoren gegenüber der papillären Variante mit 2.53 mg/ml. Dies lässt wiederum auf eine bessere Vaskularisierung der ccRCC schließen. Für die Jodkonzentration errechnete sich in unserer Studie aus den Ergebnissen der DECT ein Schwellenwert von 3.1 mg/ml, mit welchem sich mit einer Sensitivität von 73.3 % und einer Spezifität von 90.6 % sowie einer Gesamtgenauigkeit von 86.8 % (59 von 86 korrekt eingestufte Patienten) ein pRCC von einem ccRCC differenzieren ließ.

Die Praktikabilität der DECT zur Beurteilung von Nierenläsionen und einer Einordnung hinsichtlich ihrer Dignität konnte bereits in mehreren Studien demonstriert werden. So wurden in einer Studie von Song et al. 60 Patienten mit unklaren Raumforderungen der Niere per multiphasisch durchgeführter – inkl. echter Nativphase, kortikomedullärer Phase und nephrographischer Phase – DECT untersucht, wobei zusätzlich eine Beurteilung der Bildqualität durch die Untersucher erfolgte.

Ferner wurden über o.g. Softwarealgorithmus aus den generierten Bildern über die digitale Subtraktion von Jod virtuelle Nativbilder erstellt, wobei die Strahlenbelastung unter echter und virtueller Nativphase verglichen wurde. Alle 21 durch anschließend operative Histologiegewinnung bestätigten RCC wurden durch die DECT korrekt klassifiziert, die Karzinome fielen dabei durch höhere Dichtewerte von über 20 HU in kortikomedullärer und nephrographischer Phase auf, was sich mit unseren Beobachtungen deckt.

Im Vergleich der Bildqualität zwischen echter Nativphase und virtueller Nativserie aus kortikomedullärer und nephrographischer Phase zeigte sich die echte Phase als qualitativ überlegen ($p < 0.01$), was sich nicht mit den 2007 von Graser erhobenen Daten deckt (97). Die mittlere Strahlenbelastung der multiphasischen DECT ohne echte Nativphase lag mit 10.2 mSv ca. 19 % unter der Untersuchung mit nativer Serie (12.6 mSv).

Insbesondere die Bedeutung der Messung der Jodkonzentration im Gewebe konnte in Studien demonstriert werden. So führten Chandarana et al. an jodhaltigen Phantomen sowie 21 unklaren Nierenläsionen eine DECT-Bildgebung durch. Dabei stimmten zum einen die mit der DECT-Software kalkulierten Messwerte der Phantome mit den tatsächlichen Werten der Jodkonzentration signifikant überein ($p < 0.0001$), zum anderen zeigte sich die Jodkonzentration in kontrastmittelaufnehmenden Läsionen signifikant erhöht ($p < 0.0001$). Dabei wurde ein Schwellenwert von 0.5 mg/ml als prädiktiver Wert für ein Enhancement errechnet (34).

Diese positive Korrelation von Enhancement und Jodkonzentration konnte auch in einer weiteren Studie von Ascenti et al. gezeigt werden, bei welcher 72 Läsionen retrospektiv auf ihr Enhancement-Verhalten in der DECT mittels Messung des Enhancements in HU und Messung der Jodkonzentration ausgewertet wurden. Die erhobenen Werte wurden anschließend mit den Ergebnissen der Histopathologie bzw. einer follow-up Bildgebung verglichen. Die mittlere Jodkonzentration belief sich bei den Läsionen mit Enhancement auf 2.2 mg/ml. Im Vergleich zeigte sich die Jodkonzentration – mit einer Sensitivität von 100 %, einer Spezifität von 94.4 % und einer Gesamtgenauigkeit von 97 % – als signifikant besserer Parameter zur Beurteilung auf Enhancement ($p < 0.001$) im Vergleich zur Dichtemessung, welche eine Sensitivität von 77.7 %, eine Spezifität von 100 % und eine Gesamtgenauigkeit von 97 % aufwies (98). Ferner führten Graser et al. eine vergleichende Studie – DECT vs. reguläre Single-Energy CT – mit 202 Patienten mit im Ultraschall aufgefallenen suspekten Raumforderungen der Niere durch. Insgesamt 117 Patienten davon wurden per partielle oder komplette Nephrektomie operiert bzw. in zwei Fällen bei Inoperabilität biopsiert. Davon erwiesen sich 99 der Raumforderungen als maligne Karzinome und 18 als gutartige Tumoren. Die 99 malignen Tumoren – hauptsächlich Nierenzellkarzinome, bis auf sieben Transitionalzellkarzinome, Ewing-Sarkome, Lymphome u.a. – zeigten ein mittleres Enhancement von ca. 88 HU, also über der von den Untersuchern geforderten Grenze von 15 HU als Kriterium für Malignität. Dabei bestand das reguläre Single-Energy CT aus dem Fahren einer echten Nativphase sowie einer nephrographischen Phase.

Die DECT wurde während der nephrographischen Phase gefahren und eine oben beschriebene virtuelle Nativphase herausgerechnet. Das DECT-Verfahren erwies sich mit einer Sensitivität von 96 %, einer Spezifität von 93.2 % und einer Gesamtgenauigkeit von 94.6 % als nahezu ebenbürtig mit der biphasisch durchgeführten Single-Energy CT-Untersuchung, welche eine Sensitivität von 97 %, eine Spezifität von 95.1 % und eine Gesamtgenauigkeit von 96 % aufwies ($p>0.05$), was über den in vorliegender Arbeit errechneten Werten liegt, wobei jedoch in unserem Kollektiv nur Nierenzellkarzinome eingeschlossen wurden. Zudem konnte bei der DECT aufgrund des Verzichts auf eine echte Nativphase die mittlere Strahlendosis um ca. 49 % reduziert werden (99).

Eine weitere Studie von Hellbach et al. untersuchte die DECT als bildgebendes Instrument im Rahmen eines Therapiemonitorings bei 26 Patienten mit mRCC unter antiangiogenetischer Therapie. Da sich nicht Tumorgöße, sondern insbesondere bei Tumoren mit ausgeprägter Perfusion – z.B. dem gastrointestinalen Stromatumor – eine Reduktion derselben in den Neoplasieherden für ein Therapieansprechen relevant gezeigt haben (100), war die Jodaufnahme im Gewebe sowie das auf dem Jodgehalt im Gewebe (“iodine-related attenuation”, IRA) basierende Enhancement Gegenstand der Messungen. Die in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden einmal vor Beginn der Systemtherapie mit Sunitinib per DECT untersucht, sowie ein zweites Mal zehn Wochen nach Therapiestart. Das gemessene mittlere Enhancement der insgesamt 44 Läsionen nahm zwischen den genannten Zeitpunkten um knapp 30 % – von ca. 77 HU auf ca. 53 HU – ab ($p=0.001$).

Der reine Jodanteil des gemessenen Enhancements nahm sogar um knapp 50 % – von ca. 39 HU auf ca. 19 HU – ab.

Die Jodkonzentration im Gewebe nahm ebenso nach zehn Wochen um 50.7 % - von 2.1 mg/ml auf 1 mg/ml – ab. Die so demonstrierte Devaskularisierung konnte als ein erfolgreiches Therapieansprechen auf Sunitinib gedeutet werden. Insbesondere der Vorteil, den reinen Jodanteil des Enhancements ohne das darunterliegende Gewebe messen zu können, erlaubte eine genaue Beurteilung der Perfusion (35).

Der bildgebenden Differenzierung von klarzelligem und papillärem RCC-Subtyp mittels Quantifizierung der Jodkonzentration im DECT gingen Mileto et al. nach. Sie untersuchten 88 Patienten mit histologisch gesichertem RCC präoperativ mittels Dual-Energy Schnittbildgebung. Dabei wurden Durchschnittswerte von 2.5 mg/ml sowie 1 mg/ml hinsichtlich der Jodkonzentration für ccRCC und pRCC angegeben, welche sich nicht mit den höheren Messwerten (ca. 4.8 mg/ml für ccRCC und ca. 2.5 mg/ml für pRCC) aus unserem Studienkollektiv decken. Mittels Kurvenanalyse wurde ein optimaler Schwellenwert für die Jodaufnahme im Gewebe von 0.9 mg/ml ermittelt, um zwischen ccRCC und pRCC zu unterscheiden. Neben einer Sensitivität von 98.2 % und einer Spezifität von 86.3 % wurde eine Gesamtgenauigkeit von 95.3 % für die Anwendung dieses Schwellenwerts auf das Studienkollektiv angegeben. Zudem konnten, sowohl für ccRCC als auch pRCC, ein signifikanter Zusammenhang zwischen Fuhrman-Grad und Jodaufnahme demonstriert werden.

Somit konnten gemäß den in der Studie genannten Ergebnissen aus der DECT-Bildgebung Schlüsse hinsichtlich des Tumorgradings gezogen werden.

So war eine signifikante Unterscheidung ($p < 0.001$) mit niedrigerem Fuhrman-Grad (G1 und G2) von schlechter differenzierten Tumoren (G3 und G4), sowohl für klarzellige als auch papilläre Subtypen, möglich. Aufgrund der fehlenden Notwendigkeit der Durchführung multipler Phasen war mit der Anwendung der DECT auch eine Reduktion der Strahlendosis möglich. Einen Nachteil der Studie stellt die fehlende Korrelation mit den Dichtemessungen einer, unter Umständen multiphasisch gefahrenen, klassischen CT-Untersuchung dar (101). Die errechneten Werte bzgl. Spezifität, Sensitivität und Gesamtgenauigkeit lagen in unserer Studie, bei einem cutoff-Wert von 3.1 mg/ml für die Jodkonzentration, mit 90.6 %, 73.3 % und 86.8 % unter der von Mileto et al. publizierten Ergebnissen, wobei der Anteil an papillären Tumoren mit $n=14$ unter der in der Vorstudie eingeschlossenen pRCC ($n=21$) lag. Ebenso waren in unsere Studie verglichen mit der Arbeit von Mileto et al. weniger undifferenzierte papilläre Tumoren eingeschlossen ($n=3$ vs. $n=14$), was einen eindeutigen Vergleich der Werte bei mutmaßlich unterschiedlichem Perfusionsmuster von besser und schlechter differenzierten Karzinomen erschwert. Die oben beschriebene, von Mileto et al. evaluierte Unterscheidung von G1/G2 und G3/G4 Tumoren, wobei diese Arbeit sich als einzige in der recherchierten Literatur mit der Unterscheidung der Fuhrman-Graduierung mittels Jodkonzentration beschäftigt hatte, wurde auch von uns beleuchtet. Einen signifikanten Unterschied zwischen Jodaufnahme und Fuhrman-Grading fand sich in unserem Kollektiv nur bei den klarzelligen Tumoren ($p=0.045$).

VI.3. Korrelation von MVD und Subtyp bzw. Grading

Bzgl. der Evaluation der MVD zur Beurteilung der Angiogenese beim RCC existieren mehrere Studien unter Verwendung immunhistochemischer Endothelmarker. Im Gegensatz zu anderen Tumoren ist die Studienlage zur Rolle der MVD beim Nierenzellkarzinom heterogen. Dabei berichten einige Studien von einer inversen Korrelation der MVD zum Tumorstadium und der Krankheitsprognose (42), (46), (47), (89), andere wiederum über einen positiven Zusammenhang (48), (49). Delahunt et al. beschreiben beispielsweise einen inversen Zusammenhang der MVD zum Patientenüberleben und führen tumorbiologische Veränderungen in entdifferenzierten Karzinomen, wie Tumorfibrose sowie die Ausbildung großer vaskulärer Kanäle, als Erklärung an (102). Sabo et al. führen die Beobachtung einer geringeren MVD in aggressiveren Tumoren auf deren schnelleres Wachstum und eine dadurch erforderliche Beschränkung der Komplexität des vaskulären Netzwerks zurück und begründen dies mit dem von ihnen ermittelten signifikanten Zusammenhang zwischen mikrovaskulärer Dichte und vermehrter Tumornekrose. Dabei identifizierten sie in ihrem Kollektiv Tumornekrose als unabhängigen prognostischen Faktor (49, 103).

In unserem Patientenkollektiv fand sich in der Auswertung der Histologie nach MVD – für CD31 und CD34 – beim ccRCC ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe der G1/G2 und der G3/G4-Tumoren ($p=0.014$ und $p=0.006$), wobei sich Cutoff-Werte von ≤ 47 bzw. ≤ 41 gezählte Endothelanschnitte für die optimale Detektion eines entdifferenzierten Karzinoms errechneten. Die entdifferenzierten Tumoren zeigten somit in der Auswertung der MVD gegenüber den G1/G2-Tumoren eine verminderte Vaskularisation. Hinsichtlich der Eingruppierung der Tumoren nach RCC-Subtyp fiel unter Verwendung von CD31 ein signifikanter Unterschied zwischen ccRCC und pRCC mit einer höheren Anzahl gezählter Endothelanschnitte zugunsten des ccRCC auf ($p<0.001$). Als optimaler cutoff-Wert (mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 98.1 %) wurde für die Detektion eines pRCC ≤ 23 Endothelanschnitte kalkuliert. Eine ebenso signifikante Unterscheidung war unter Verwendung von CD34 möglich ($p<0.001$), wobei hier ein cutoff-Wert (Sensitivität: 100 %, Spezifität: 94,3 %) von ≤ 18 Endothelien für die Detektion eines pRCC errechnet wurde. Somit stellte sich für die klarzelligen Tumoren in der Beurteilung der MVD eine signifikant höhere Vaskularisation dar. CD31 als unspezifischer Endothelmarker findet auch in einer Studie von Sandlund et al. Anwendung, wobei die CD31-Expression sich bei den eingeschlossenen 208 Nierenzellkarzinomen bei den ccRCC signifikant höher im Vergleich zu jener der 28 pRCC darstellte ($p<0.001$).

Nach Unterteilung der ccRCC-Fälle in die entsprechenden Stadien zeigte sich die Expressionsintensität von CD31 umgekehrt proportional zum TNM-Stadium ($p=0.024$) und dem Fuhrman-Grad ($p=0.01$). Eine durchgeführte univariate Analyse ermittelte bei den klarzelligen Tumoren eine günstigere Prognose für die Tumoren mit der höheren MVD ($p=0.01$), wobei die CD31-Expression in der multivariaten Analyse jedoch kein unabhängiger Risikofaktor war (42).

Die pathologische Analyse der RCC-Präparate von 70 Patienten mit dem Endothelmarker Anti-CD34 führten Imao et al. durch, wobei hinsichtlich der Methodik analog zu unserer Studie bei geringem mikroskopischem Vergrößerungsgrad fünf "hotspots" mit der höchsten Gefäßdichte für die Auszählung bei 400-facher Vergrößerung selektiert wurden, dies jedoch am Mikroskop anstatt anhand digitalisierter Bilder auf dem PC. In der Studie konnte ein signifikanter Unterschied in der Gefäßdichte zwischen filialiserten und nicht-filialiserten Tumoren gefunden werden ($p=0.005$) sowie zusätzlich eine – statistisch jedoch nicht signifikante – Tendenz einer Abnahme der Gefäßdichte mit steigendem Staging und Grading der Tumoren. Eine signifikante Unterscheidung zwischen klarzelligen und nicht-klarzelligen Subtypen war nicht möglich ($p=0.74$). In der multivariaten Analyse war die MVD kein unabhängiger Faktor für die Prognose der Erkrankung (46). Yildiz et al. untersuchten ebenso die Präparate von 54 RCC auf Gefäßdichte anhand mit CD34-Färbung gefärbten Schnittpräparaten, welche nach entsprechender Selektion geeigneter Areale bei 400-fachem Vergrößerungsgrad untersucht wurden.

Es wurde zwischen Arealen mit hohem Gefäßanteil („high MVD“) und solchen mit geringerer Anzahl („low MVD“) anhand eines festgelegten Schwellenwerts von 40 Endothelien unterschieden. Eine höhere Gefäßdichte war hierbei mit einem günstigeren TNM-Stadium assoziiert ($p < 0.001$ bis $p = 0.05$). Obwohl auch in dieser Studie in der multivariaten Analyse die MVD kein unabhängiger Faktor war, zeigte sie sich umgekehrt proportional mit dem Patientenüberleben, einer Gefäßinvasion und einer vorliegenden Metastasierung vergesellschaftet (47). Obgleich CD31 in früheren Studien als sensitiver Marker in der Bestimmung der MVD verwendet wurde (104), bildet es als panendothelialer Marker kein Abbild für proliferierendes Endothel. Zudem wurde die Problematik einer Kreuzreaktion von Anti-CD31 mit Plasmazellen beschrieben (39).

Bauman et al. untersuchten in ihrer Arbeit Nierenzellkarzinompräparate von 251 Patienten bzgl. ihrer Gefäßdichte mittels immunhistochemischer Färbung mit Anti-CD31, als unspezifischer Endothelmarker, sowie Anti-CD105, als Marker für aktiv proliferierendes Endothel. Dabei kam als Beurteilungsfaktor die CD105/CD31-Ratio zum Einsatz, automatisiert gemessen nach Einlesen der Präparate über einen Gewebescanner. Dabei zeigte sich die CD105/CD31-Ratio bei Tumoren eines fortgeschrittenen Gradings (G4 vs. G1) sowie Stagings (pT3-4 vs. pT1) signifikant erhöht ($p < 0.0001$). Zusätzlich fiel eine geringere Ratio bei papillären Subtypen im Vergleich zu klarzelligem Tumoren auf ($p = 0.05$). Die Beobachtung einer geringeren MVD bei papillären Tumoren deckt sich mit den Ergebnissen unserer Arbeit, die ebenfalls auf eine geringere Vaskularisation der pRCC deuten.

Die Durchführung einer multivariaten Analyse zeigte eine signifikante Assoziation zwischen erhöhter CD105/CD31-Ratio und schlechterem Gesamtüberleben (HR=1.54, $p=0.02$), jedoch keine Assoziation mit dem krebsspezifischen Überleben, während Patienten unter einer Anti-VEGF Systemtherapie und niedriger Endothelmarker-Ratio ein signifikant besseres Überleben zeigten ($p=0.02$) (41).

Eine Metaanalyse von Cheng et al. untersuchte nach entsprechender Literaturlauswahl 15 Arbeiten, die sich mit der Frage beschäftigten, inwieweit sich die MVD als prognostischer Faktor bei Patienten mit RCC eignet (43).

Von den eingeschlossenen Studien konnte nur die Arbeit von Yagasaki et al. die MVD in einer multivariaten Analyse als unabhängigen prognostischen Faktor identifizieren, wobei hier CD105 als Endothelmarker eingesetzt wurde (105). Bzgl. der restlichen Studien, die entweder Antikörper gegen Faktor VIII, CD31 oder CD34 als Endothelmarker benutzten konnte in der Metaanalyse keine Assoziation zum Gesamtüberleben festgestellt werden. An der Vielzahl der Studien zur Gefäßdichte beim RCC lassen sich auch Probleme der methodologischen Heterogenität erkennen. Viele Arbeitsgruppen haben unterschiedliche Methoden in der Auswertung der MVD. So unterscheiden sich die Methoden bzgl. der Anzahl gezählter Gesichtsfelder, Größe der Gesichtsfelder und dem Schwellenwert, ab wann die Gefäßdichte als niedrig oder hoch eingestuft wurde, wobei meist der Median als cutoff-Wert diente. Zudem unterschieden sich die Studien auch bzgl. anderer Parameter wie Patientencharakteristika, verwendeten Antikörpern oder follow-up (43).

Insgesamt deuten die von uns erhobenen Ergebnisse auf eine verminderte Vaskularisation höhergradig entdifferenzierter Karzinome, welche mit einer ungünstigeren Prognose für den Patienten vergesellschaftet sind.

Da sich die vorliegende Arbeit jedoch nicht mit dem follow-up der eingeschlossenen Patienten beschäftigt hat, kann hier keine Aussage bzgl. der prognostischen Wertigkeit der MVD, beispielsweise im Hinblick auf das krankheitsspezifische Überleben, von uns getroffen werden.

VI.4. Korrelation von Jodaufnahme und MVD

Frühere Studien zur Korrelation von im DECT gemessener Jodkonzentration und ausgezählter mikrovaskulärer Dichte in immunhistochemisch gefärbten, histologischen Präparaten konnten bei der intensiven Durchsicht der vorhandenen Literatur nicht gefunden werden. Die statistische Berechnung der von uns erhobenen Messergebnisse aus der mikroskopischen Auszählung von Endothelien und der Jodaufnahme im DECT ergab unter Einschluss aller RCC in der Spearman-Rangkorrelation einen signifikanten Zusammenhang zwischen der MVD – unter Verwendung von CD31 – und der Jodkonzentration in der DECT ($p < 0.001$). Bei Limitierung der Analyse auf die klarzelligen Tumoren fällt ebenso ein signifikanter Zusammenhang auf ($p = 0.029$), welcher für die papillären Tumoren nicht festzustellen war. Auch unter Einsatz von CD34 findet sich eine signifikante Korrelation von Jodkonzentration und MVD beim Gesamtkollektiv ($p < 0.001$) sowie ebenfalls bei der Gruppe der ccRCC ($p = 0.016$). Diese Ergebnisse stützen die Annahme einer korrekten Abbildung der Tumorperfusion sowohl durch die MVD als auch über die gemessene Jodaufnahme in der Bildgebung und unterstreichen die Bedeutung der Angiogenese in der pathologischen und radiologischen Untersuchung des Nierenzellkarzinoms. Der mangelnde statistische Zusammenhang bei den pRCC ist möglicherweise durch die geringe Fallzahl der papillären Tumoren in unserem Kollektiv bedingt, sollte jedoch in künftigen Studien mit größeren Patientenzahlen nochmals auf einen Zusammenhang untersucht werden.

VI.5. Limitationen der Studie

Bzgl. möglicher Einschränkungen der vorliegenden Studie ist zum einen die, im Vergleich zu früheren Studien, relativ kleine Fallzahl ($n=74$) zu nennen. Darüber hinaus ist der Anteil an nicht-klarzelligen Tumorvarianten im Vergleich zu den ccRCC gering. So wurden in unsere Studie nur 14 Patienten mit pRCC und drei Patienten mit chRCC eingeschlossen, wobei letztere Gruppe aufgrund der geringen Fallzahl nicht in die statistischen Berechnungen eingeschlossen wurde. Zudem handelt es sich um eine retrospektive Arbeit, in deren Rahmen der optimale Schwellenwert bezüglich der Jodaufnahme zur Unterscheidung der RCC-Subtypen im DECT nur aus den bereits vorliegenden Daten errechnet wurde. Hier wären weitere, prospektive Studien nötig, um die postulierten Werte zu verifizieren. Die Auswertung der histopathologischen Präparate sowie des DECT-Bildmaterials wurde nur durch einen einzelnen Untersucher durchgeführt. Ein möglicher "interobserver bias" wurde somit nicht evaluiert.

Die Auswahl der "hotspots" mit der höchsten Gefäßdichte innerhalb der mikroskopischen Begutachtung der Präparate erfolgte nach subjektiver Auswahl, wobei diese Problematik bereits von Weidner genannt wird (88). Gleiches gilt für die Insertion der ROI bei der intratumoralen Messung der Jodaufnahme aus den CT-Bildern. Auch hier muss trotz strengen Beachtens der bereits von Mileto et al. befolgten Kriterien zur korrekten Messung – unter Aussparung der Tumorränder sowie dem Aussparen von Nekrosearealen – eine subjektive Auswahl geeigneter Bezirke in heterogenen Raumforderungen suggeriert werden (101).

Zudem wurde in der vorliegenden Studie kein weiteres follow-up bzgl. des Patientenüberlebens durchgeführt, so dass u.a. eine multivariate Analyse der Daten, wie Jodkonzentration bzw. MVD, bzgl. eines unabhängigen prognostischen Faktors für das weitere Überleben nicht möglich war.

VII. Zusammenfassung

Die Quantifizierung der Jodaufnahme im Dual-Energy CT beim Nierenzellkarzinom erlaubt über die Evaluation der Tumorperfusion eine zuverlässige Identifikation papillärer RCC-Varianten gegenüber klarzelligen Tumoren. Ebenso ermöglicht die Beurteilung der Jodkonzentration in der DECT-Bildgebung bei den ccRCC eine Eingruppierung in besser und schlechter differenzierte Tumoren gemäß der Fuhrman-Graduierung. Die Praktikabilität des Verfahrens, insbesondere durch die farblich aufbereitete Oberfläche zur genauen Messung der Jodaufnahme im Gewebe bedingt, erlaubt neben der einfachen Anwendung die Generation objektiverer Resultate. Die mit den immunhistochemischen Endothelmarkern CD31 und CD34 ermittelte mikrovaskuläre Dichte lässt ebenfalls einen Rückschluss auf den jeweiligen Subtyp zu. Bei den klarzelligen Karzinomen ist darüber hinaus eine signifikante Unterscheidung nach Fuhrman-Grad (G1 und G2 vs. G3 und G4) möglich. Die Zuhilfenahme der beschriebenen Scanmethode, die Digitalisierung und Fotodokumentation der Schnittpräparate, bietet auch bei der Auswertung der Histologie gegenüber der klassischen Auszählung von Gefäßanschnitten über das Mikroskop objektiver- und reproduzierbare Messparameter.

Weitere Studien zu diesem Thema, ggf. unter Einschluss von CD105 als Marker für proliferierendes Endothel, sind aus unserer Sicht sinnvoll und notwendig, um den Stellenwert der MVD, als Surrogatparameter der Tumorangiogenese, für die Diagnostik und Therapie, insbesondere hinsichtlich der Selektion passender Substanzen bei der Systemtherapie fortgeschrittener oder metastasierter Nierenzellkarzinome, zu bestimmen. Die positive Korrelation von Jodaufnahme und MVD im Gesamtkollektiv und in der Gruppe der klarzelligen Karzinome, gemäß unserem Wissen erstmalig beschrieben, unterstreicht die Rolle der Angiogenese im Management des Nierenzellkarzinoms und weist auf eine korrekte Abbildung der Gefäßdichte über die Messung der Jodkonzentration hin. Hinsichtlich der Bedeutung der DECT-Bildgebung für die Diagnostik des RCC sind weitere bewertende Studien nötig. Die Rolle der Evaluation von Enhancement und Jodkonzentration im Gewebe und die in dieser Arbeit festgestellte hohe diagnostische Wertigkeit in der Einschätzung und Typisierung des RCC sollte weiter untersucht werden. Insbesondere der Beleuchtung der Perfusionsmuster der unterschiedlichen Subtypen fällt eine essentielle Rolle zu, wobei die signifikant höhere Mikrogefäßdichte und Jodkonzentration der klarzelligen Karzinome auf eine stärker ausgeprägte Vaskularisation dieser Tumoren hinweisen.

Im Hinblick auf die teilweise unterschiedlichen Ergebnisse im Vergleich mit vorangegangenen Studien wäre für zukünftige Projekte der Einschluss eines größeren Patientenkollektivs wünschenswert, gegebenenfalls unter Einbeziehen mehrerer teilnehmender Studienzentren sowie unter Erhebung von Nachsorgedaten eingeschlossener Patienten. Dies würde eine genauere Beurteilung der erhobenen radiologischen und pathologischen Parameter hinsichtlich ihrer prognostischen Aussage und ihrer klinischen Wertigkeit erlauben und könnte dazu beitragen, den Stellenwert der Dual-Energy Schnittbildgebung in der Diagnostik des Nierenzellkarzinoms zu festigen.

VIII. Abkürzungsverzeichnis

AP	alkalische Phosphatase
AS	active surveillance / aktive Überwachung
AUC	area under the curve / Fläche unter der Kurve
C-Index	centrality index / Zentralitätsindex
ccRCC	clear cell renal cell carcinoma / klarzelliges Nierenzellkarzinom
CD	cluster of differentiation / zelluläres Oberflächenmolekül
chRCC	chromophobe renal cell carcinoma / chromophobes Nierenzellkarzinom
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DECT	Dual-Energy Computertomographie
FOV	field of view / Betrachtungswinkel beim DECT
GF	Gesichtsfeld
HE	Hämatoxylin-Eosin
HIF	hypoxia-inducible factor / Hypoxie-induzierter Faktor
HR	hazard ratio
HU	Hounsfield unit / Hounsfield Einheit
KM	Kontrastmittel
kV	Kilovolt
MDCT	Multidetektor Computertomographie
mIRCC	multilokulär zystisches Nierenzellkarzinom
mRCC	metastatic renal cell cancer / metastasiertes Nierenzellkarzinom
MRT	Magnetresonanztomographie
mTOR	mammalian target of rapamycin

mSv	Millisievert
MVD	microvascular density / mikroskopische Gefäßdichte
P.A.D.U.A.	preoperative aspects and dimensions used for anatomic classification
PC	Personal Computer
PD-1	programmed death-1 targeted immune checkpoint Inhibitor
pRCC	papillary renal cell carcinoma / papilläres Nierenzellkarzinom
pNx	partielle Nephrektomie
RCC	renal cell carcinoma / Nierenzellkarzinom
ROC	receiver operating characteristic / Grenzwertoptimierungskurve
R.E.N.A.L.	radius.exophytic/endophytic.nearness.anterior/posterior.location
rNx	radikale Nephrektomie
TKI	Tyrosinkinase-Inhibitor
VEGF	vascular endothelial growth factor / Signalmolekül der Vaskulogenese
VHL	Von-Hippel-Lindau
VNC	virtual non-contrast / virtuelle Nativphase

IX. Literaturverzeichnis

1. Levi F, Ferlay J, Galeone C, Lucchini F, Negri E, Boyle P, et al. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. *BJU Int.* 2008;101(8):949-58.
2. Ljungberg B, Campbell SC, Choi HY, Jacqmin D, Lee JE, Weikert S, et al. The epidemiology of renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 2011;60(4):615-21.
3. Ljungberg B, Bensalah K, Canfield S, Dabestani S, Hofmann F, Hora M, et al. EAU guidelines on renal cell carcinoma: 2014 update. *Eur Urol.* 2015;67(5):913-24.
4. Hunt JD, van der Hel OL, McMillan GP, Boffetta P, Brennan P. Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies. *Int J Cancer.* 2005;114(1):101-8.
5. Pischon T, Lahmann PH, Boeing H, Tjonneland A, Halkjaer J, Overvad K, et al. Body size and risk of renal cell carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer.* 2006;118(3):728-38.
6. Weikert S, Boeing H, Pischon T, Weikert C, Olsen A, Tjonneland A, et al. Blood pressure and risk of renal cell carcinoma in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Am J Epidemiol.* 2008;167(4):438-46.
7. Clague J, Lin J, Cassidy A, Matin S, Tannir NM, Tamboli P, et al. Family history and risk of renal cell carcinoma: results from a case-control study and systematic meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18(3):801-7.
8. Sanz-Ortega J, Olivier C, Perez Segura P, Galante Romo I, San Jose Manso L, Saez M. [Hereditary renal cancer]. *Actas Urol Esp.* 2009;33(2):127-33.
9. Nishida N, Yano H, Nishida T, Kamura T, Kojiro M. Angiogenesis in cancer. *Vasc Health Risk Manag.* 2006;2(3):213-9.
10. Baldewijns MM, van Vlodrop IJ, Vermeulen PB, Soetekouw PM, van Engeland M, de Bruine AP. VHL and HIF signalling in renal cell carcinogenesis. *J Pathol.* 2010;221(2):125-38.
11. Turner KJ, Moore JW, Jones A, Taylor CF, Cuthbert-Heavens D, Han C, et al. Expression of hypoxia-inducible factors in human renal cancer: relationship to angiogenesis and to the von Hippel-Lindau gene mutation. *Cancer Res.* 2002;62(10):2957-61.
12. Di Lorenzo G, Autorino R, Sternberg CN. Metastatic renal cell carcinoma: recent advances in the targeted therapy era. *Eur Urol.* 2009;56(6):959-71.
13. Thompson Coon J, Hoyle M, Green C, Liu Z, Welch K, Moxham T, et al. Bevacizumab, sorafenib tosylate, sunitinib and temsirolimus for renal cell carcinoma: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2010;14(2):1-184, iii-iv.
14. Jayson M, Sanders H. Increased incidence of serendipitously discovered renal cell carcinoma. *Urology.* 1998;51(2):203-5.
15. Kim HL, Belldegrun AS, Freitas DG, Bui MH, Han KR, Dorey FJ, et al. Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis. *J Urol.* 2003;170(5):1742-6.
16. Patard JJ, Leray E, Cindolo L, Ficarra V, Rodriguez A, De La Taille A, et al. Multi-institutional validation of a symptom based classification for renal cell carcinoma. *J Urol.* 2004;172(3):858-62.
17. Rasmussen F. Metastatic renal cell cancer. *Cancer Imaging.* 2013;13(3):374-80.
18. Lee CT, Katz J, Fearn PA, Russo P. Mode of presentation of renal cell carcinoma provides prognostic information. *Urol Oncol.* 2002;7(4):135-40.
19. Kovacs G, Akhtar M, Beckwith BJ, Bugert P, Cooper CS, Delahunt B, et al. The Heidelberg classification of renal cell tumours. *J Pathol.* 1997;183(2):131-3.
20. Heidenreich A, Ravery V, European Society of Oncological U. Preoperative imaging in renal cell cancer. *World J Urol.* 2004;22(5):307-15.

21. Israel GM, Bosniak MA. Pitfalls in renal mass evaluation and how to avoid them. *Radiographics*. 2008;28(5):1325-38.
22. Clevert DA, Sterzik A, Braunagel M, Notohamiprodjo M, Graser A. [Modern imaging of kidney tumors]. *Urologe A*. 2013;52(4):515-26.
23. Tsai LL, Grant AK, Morteale KJ, Kung JW, Smith MP. A Practical Guide to MR Imaging Safety: What Radiologists Need to Know. *Radiographics*. 2015;35(6):1722-37.
24. Kreft BP, Muller-Miny H, Sommer T, Steudel A, Vahlensieck M, Novak D, et al. Diagnostic value of MR imaging in comparison to CT in the detection and differential diagnosis of renal masses: ROC analysis. *Eur Radiol*. 1997;7(4):542-7.
25. Choudhary S, Rajesh A, Mayer NJ, Mulcahy KA, Haroon A. Renal oncocytoma: CT features cannot reliably distinguish oncocytoma from other renal neoplasms. *Clin Radiol*. 2009;64(5):517-22.
26. Rosenkrantz AB, Hindman N, Fitzgerald EF, Niver BE, Melamed J, Babb JS. MRI features of renal oncocytoma and chromophobe renal cell carcinoma. *AJR Am J Roentgenol*. 2010;195(6):W421-7.
27. Hindman N, Ngo L, Genega EM, Melamed J, Wei J, Braza JM, et al. Angiomyolipoma with minimal fat: can it be differentiated from clear cell renal cell carcinoma by using standard MR techniques? *Radiology*. 2012;265(2):468-77.
28. Rubenthaler J, Paprottka KJ, Marcon J, Reiser M, Clevert DA. MRI and contrast enhanced ultrasound (CEUS) image fusion of renal cysts. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2016.
29. Bosniak MA. The use of the Bosniak classification system for renal cysts and cystic tumors. *J Urol*. 1997;157(5):1852-3.
30. Roupret M, Zigeuner R, Palou J, Boehle A, Kaasinen E, Sylvester R, et al. European guidelines for the diagnosis and management of upper urinary tract urothelial cell carcinomas: 2011 update. *Eur Urol*. 2011;59(4):584-94.
31. Young JR, Margolis D, Sauk S, Pantuck AJ, Sayre J, Raman SS. Clear cell renal cell carcinoma: discrimination from other renal cell carcinoma subtypes and oncocytoma at multiphasic multidetector CT. *Radiology*. 2013;267(2):444-53.
32. Graser A, Johnson TR, Chandarana H, Macari M. Dual energy CT: preliminary observations and potential clinical applications in the abdomen. *Eur Radiol*. 2009;19(1):13-23.
33. Song KD, Kim CK, Park BK, Kim B. Utility of iodine overlay technique and virtual unenhanced images for the characterization of renal masses by dual-energy CT. *AJR Am J Roentgenol*. 2011;197(6):W1076-82.
34. Chandarana H, Megibow AJ, Cohen BA, Srinivasan R, Kim D, Leidecker C, et al. Iodine quantification with dual-energy CT: phantom study and preliminary experience with renal masses. *AJR Am J Roentgenol*. 2011;196(6):W693-700.
35. Hellbach K, Sterzik A, Sommer W, Karpitschka M, Hummel N, Casuscelli J, et al. Dual energy CT allows for improved characterization of response to antiangiogenic treatment in patients with metastatic renal cell cancer. *Eur Radiol*. 2016.
36. Graser A, Zech CJ, Stief CG, Reiser MF, Staehler M. [Imaging renal cell carcinoma]. *Urologe A*. 2009;48(4):427-36; quiz 37-8.
37. Spek A, Strittmatter F, Graser A, Kufer P, Stief C, Staehler M. Dual energy can accurately differentiate uric acid-containing urinary calculi from calcium stones. *World J Urol*. 2016;34(9):1297-302.
38. Coursey CA, Nelson RC, Boll DT, Paulson EK, Ho LM, Neville AM, et al. Dual-energy multidetector CT: how does it work, what can it tell us, and when can we use it in abdominopelvic imaging? *Radiographics*. 2010;30(4):1037-55.
39. Nico B, Benagiano V, Mangieri D, Maruotti N, Vacca A, Ribatti D. Evaluation of microvascular density in tumors: pro and contra. *Histol Histopathol*. 2008;23(5):601-7.
40. Meert AP, Paesmans M, Martin B, Delmotte P, Berghmans T, Verdebout JM, et al.

The role of microvessel density on the survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer*. 2002;87(7):694-701.

41. Bauman TM, Huang W, Lee MH, Abel EJ. Neovascularity as a prognostic marker in renal cell carcinoma. *Hum Pathol*. 2016;57:98-105.
42. Sandlund J, Hedberg Y, Bergh A, Grankvist K, Ljungberg B, Rasmuson T. Evaluation of CD31 (PECAM-1) expression using tissue microarray in patients with renal cell carcinoma. *Tumour Biol*. 2007;28(3):158-64.
43. Cheng SH, Liu JM, Liu QY, Luo DY, Liao BH, Li H, et al. Prognostic role of microvessel density in patients with renal cell carcinoma: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(9):5855-63.
44. Zocchi MR, Poggi A. PECAM-1, apoptosis and CD34+ precursors. *Leuk Lymphoma*. 2004;45(11):2205-13.
45. Yildiz E, Ayan S, Goze F, Gokce G, Gultekin EY. Relation of microvessel density with microvascular invasion, metastasis and prognosis in renal cell carcinoma. *BJU Int*. 2008;101(6):758-64.
46. Imao T, Egawa M, Takashima H, Koshida K, Namiki M. Inverse correlation of microvessel density with metastasis and prognosis in renal cell carcinoma. *Int J Urol*. 2004;11(11):948-53.
47. Anastassiou G, Duensing S, Steinhoff G, Zorn U, Grosse J, Dallmann I, et al. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1): a potential prognostic marker involved in leukocyte infiltration of renal cell carcinoma. *Oncology*. 1996;53(2):127-32.
- 7
50. Wittekind C. [2010 TNM system: on the 7th edition of TNM classification of malignant tumors]. *Pathologe*. 2010;31(5):331-2.
51. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1982;6(7):655-63.
52. Novara G, Martignoni G, Artibani W, Ficarra V. Grading systems in renal cell carcinoma. *J Urol*. 2007;177(2):430-6.
53. Rekha PR, Rajendiran S, Rao S, Shroff S, Joseph LD, Prathiba D. Histological reclassification, histochemical characterization and c-kit immunoreexpression in renal cell carcinoma. *Indian J Urol*. 2008;24(3):343-7.
54. Capitano U, Cloutier V, Zini L, Isbarn H, Jeldres C, Shariat SF, et al. A critical assessment of the prognostic value of clear cell, papillary and chromophobe histological subtypes in renal cell carcinoma: a population-based study. *BJU Int*. 2009;103(11):1496-500.
55. Muglia VF, Prando A. Renal cell carcinoma: histological classification and correlation with imaging findings. *Radiol Bras*. 2015;48(3):166-74.
56. Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R, Kirkali Z. 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults. *Eur Urol*. 2006;49(5):798-805.
57. Pignot G, Elie C, Conquy S, Vieillefond A, Flam T, Zerbib M, et al. Survival analysis of 130 patients with papillary renal cell carcinoma: prognostic utility of type 1 and type 2 subclassification. *Urology*. 2007;69(2):230-5.
58. Simone G, Tuderti G, Ferriero M, Papalia R, Misuraca L, Minisola F, et al. Papillary type 2 versus clear cell renal cell carcinoma: Survival outcomes. *Eur J Surg Oncol*. 2016;42(11):1744-50.
59. Patard JJ, Leray E, Rodriguez A, Rioux-Leclercq N, Guille F, Lobel B. Correlation between symptom graduation, tumor characteristics and survival in renal cell carcinoma. *Eur Urol*. 2003;44(2):226-32.
60. Volpe A, Novara G, Antonelli A, Bertini R, Billia M, Carmignani G, et al. Chromophobe renal cell carcinoma (RCC): oncological outcomes and prognostic factors in a large multicentre series. *BJU Int*. 2012;110(1):76-83.
61. de Peralta-Venturina M, Moch H, Amin M, Tamboli P, Hailemariam S, Mihatsch M,

- et al. Sarcomatoid differentiation in renal cell carcinoma: a study of 101 cases. *Am J Surg Pathol.* 2001;25(3):275-84.
62. Ficarra V, Novara G, Secco S, Macchi V, Porzionato A, De Caro R, et al. Preoperative aspects and dimensions used for an anatomical (PADUA) classification of renal tumours in patients who are candidates for nephron-sparing surgery. *Eur Urol.* 2009;56(5):786-93.
63. Kutikov A, Uzzo RG. The R.E.N.A.L. nephrometry score: a comprehensive standardized system for quantitating renal tumor size, location and depth. *J Urol.* 2009;182(3):844-53.
64. Hew MN, Baseskioglu B, Barwari K, Axwijk PH, Can C, Horenblas S, et al. Critical appraisal of the PADUA classification and assessment of the R.E.N.A.L. nephrometry score in patients undergoing partial nephrectomy. *J Urol.* 2011;186(1):42-6.
65. Weight CJ, Larson BT, Fergany AF, Gao T, Lane BR, Campbell SC, et al. Nephrectomy induced chronic renal insufficiency is associated with increased risk of cardiovascular death and death from any cause in patients with localized cT1b renal masses. *J Urol.* 2010;183(4):1317-23.
66. Desai MM, Strzempkowski B, Matin SF, Steinberg AP, Ng C, Meraney AM, et al. Prospective randomized comparison of transperitoneal versus retroperitoneal laparoscopic radical nephrectomy. *J Urol.* 2005;173(1):38-41.
67. Peng B, Zheng JH, Xu DF, et al. Retroperitoneal laparoscopic nephrectomy and open nephrectomy for radical treatment of renal cell carcinoma: A comparison of clinical outcomes. *Academic Journal of Second Military Medical University.* 2006;27:1167-9.
68. Capitanio U, Becker F, Blute ML, Mulders P, Patard JJ, Russo P, et al. Lymph node dissection in renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 2011;60(6):1212-20.
69. Nesbitt JC, Soltero ER, Dinney CP, Walsh GL, Schrupp DS, Swanson DA, et al. Surgical management of renal cell carcinoma with inferior vena cava tumor thrombus. *Ann Thorac Surg.* 1997;63(6):1592-600.
70. Haferkamp A, Bastian PJ, Jakobi H, Pritsch M, Pfitzenmaier J, Albers P, et al. Renal cell carcinoma with tumor thrombus extension into the vena cava: prospective long-term followup. *J Urol.* 2007;177(5):1703-8.
71. Faust W, Ruthazer R, Topjian L, et al. Minimal access vs. median sternotomy for cardiopulmonary bypass in the management of renal cell carcinoma with vena caval and atrial involvement. *J Urol.* 2013;189 (Suppl.):e255.
72. Olweny EO, Park SK, Tan YK, Best SL, Trimmer C, Cadeddu JA. Radiofrequency ablation versus partial nephrectomy in patients with solitary clinical T1a renal cell carcinoma: comparable oncologic outcomes at a minimum of 5 years of follow-up. *Eur Urol.* 2012;61(6):1156-61.
73. Atwell TD, Schmit GD, Boorjian SA, Mandrekar J, Kurup AN, Weisbrod AJ, et al. Percutaneous ablation of renal masses measuring 3.0 cm and smaller: comparative local control and complications after radiofrequency ablation and cryoablation. *AJR Am J Roentgenol.* 2013;200(2):461-6.
74. Patel N, Cranston D, Akhtar MZ, George C, Jones A, Leiblich A, et al. Active surveillance of small renal masses offers short-term oncological efficacy equivalent to radical and partial nephrectomy. *BJU Int.* 2012;110(9):1270-5.
75. Flanigan RC, Mickisch G, Sylvester R, Tangen C, Van Poppel H, Crawford ED. Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. *J Urol.* 2004;171(3):1071-6.
76. Staehler MD, Kruse J, Haseke N, Stadler T, Roosen A, Karl A, et al. Liver resection for metastatic disease prolongs survival in renal cell carcinoma: 12-year results from a retrospective comparative analysis. *World J Urol.* 2010;28(4):543-7.
77. Zerbi A, Ortolano E, Balzano G, Borri A, Beneduce AA, Di Carlo V. Pancreatic metastasis from renal cell carcinoma: which patients benefit from surgical resection? *Ann*

Surg Oncol. 2008;15(4):1161-8.

78. Amiraliev A, Pikin O, Alekseev B, et al. Treatment strategy in patients with pulmonary metastases of renal cell cancer. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. 2012;15(Suppl.):S20.
79. Fokas E, Henzel M, Hamm K, Surber G, Kleinert G, Engenhart-Cabillic R. Radiotherapy for brain metastases from renal cell cancer: should whole-brain radiotherapy be added to stereotactic radiosurgery?: analysis of 88 patients. *Strahlenther Onkol*. 2010;186(4):210-7.
80. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007;356(2):115-24.
81. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007;356(22):2271-81.
82. Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, Ravaud A, Bracarda S, Szczylik C, et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet*. 2007;370(9605):2103-11.
83. Calvo E, Schmidinger M, Heng DY, Grunwald V, Escudier B. Improvement in survival end points of patients with metastatic renal cell carcinoma through sequential targeted therapy. *Cancer Treat Rev*. 2016;50:109-17.
84. Schrader AJ, Olbert PJ, Hegele A, Varga Z, Hofmann R. Metastatic non-clear cell renal cell carcinoma: current therapeutic options. *BJU Int*. 2008;101(11):1343-5.
85. Ravaud A, Motzer RJ, Pandha HS, George DJ, Pantuck AJ, Patel A, et al. Adjuvant Sunitinib in High-Risk Renal-Cell Carcinoma after Nephrectomy. *N Engl J Med*. 2016;375(23):2246-54.
86. Choueiri TK. VEGF inhibitors in metastatic renal cell carcinoma: current therapies and future perspective. *Curr Clin Pharmacol*. 2011;6(3):164-8.
87. Lv P, Liu J, Yan X, Chai Y, Chen Y, Gao J, et al. CT spectral imaging for monitoring the therapeutic efficacy of VEGF receptor kinase inhibitor AG-013736 in rabbit VX2 liver tumours. *Eur Radiol*. 2016.
88. Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol*. 1995;147(1):9-19.
89. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med*. 1991;324(1):1-8.
90. Silverman SG, Gan YU, Morteale KJ, Tuncali K, Cibas ES. Renal masses in the adult patient: the role of percutaneous biopsy. *Radiology*. 2006;240(1):6-22.
91. Israel GM, Bosniak MA. How I do it: evaluating renal masses. *Radiology*. 2005;236(2):441-50.
92. Kim JK, Kim TK, Ahn HJ, Kim CS, Kim KR, Cho KS. Differentiation of subtypes of renal cell carcinoma on helical CT scans. *AJR Am J Roentgenol*. 2002;178(6):1499-506.
93. Ruppert-Kohlmayr AJ, Uggowitz M, Meissnitzer T, Ruppert G. Differentiation of renal clear cell carcinoma and renal papillary carcinoma using quantitative CT enhancement parameters. *AJR Am J Roentgenol*. 2004;183(5):1387-91.
94. Sun MR, Ngo L, Genega EM, Atkins MB, Finn ME, Rofsky NM, et al. Renal cell carcinoma: dynamic contrast-enhanced MR imaging for differentiation of tumor subtypes--correlation with pathologic findings. *Radiology*. 2009;250(3):793-802.
95. Dai X, Schlemmer HP, Schmidt B, Hoh K, Xu K, Ganten TM, et al. Quantitative therapy response assessment by volumetric iodine-uptake measurement: initial experience in patients with advanced hepatocellular carcinoma treated with sorafenib. *Eur J Radiol*. 2013;82(2):327-34.
96. Baxa J, Matouskova T, Krakorova G, Schmidt B, Flohr T, Sedlmair M, et al. Dual-

Phase Dual-Energy CT in Patients Treated with Erlotinib for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Possible Benefits of Iodine Quantification in Response Assessment. *Eur Radiol.* 2016;26(8):2828-36.

97. Graser A. Dual energy CT in the assessment of renal masses. Can dual energy virtually unenhanced images replace noncontrast scanning? *RSNA 2007 Chicago, IL, USA2007.*

98. Ascenti G, Mileto A, Krauss B, Gaeta M, Blandino A, Scribano E, et al. Distinguishing enhancing from nonenhancing renal masses with dual-source dual-energy CT: iodine quantification versus standard enhancement measurements. *Eur Radiol.* 2013;23(8):2288-95.

99. Graser A, Becker CR, Staehler M, Clevert DA, Macari M, Arndt N, et al. Single-phase dual-energy CT allows for characterization of renal masses as benign or malignant. *Invest Radiol.* 2010;45(7):399-405.

100. Apfaltrer P, Meyer M, Meier C, Henzler T, Barraza JM, Jr., Dinter DJ, et al. Contrast-enhanced dual-energy CT of gastrointestinal stromal tumors: is iodine-related attenuation a potential indicator of tumor response? *Invest Radiol.* 2012;47(1):65-70.

101. Mileto A, Marin D, Alfaro-Cordoba M, Ramirez-Giraldo JC, Eusemann CD, Scribano E, et al. Iodine quantification to distinguish clear cell from papillary renal cell carcinoma at dual-energy multidetector CT: a multireader diagnostic performance study. *Radiology.* 2014;273(3):813-20.

102. Delahunt B, Bethwaite PB, Thornton A. Prognostic significance of microscopic vascularity for clear cell renal cell carcinoma. *Br J Urol.* 1997;80(3):401-4.

103. Sabo E, Boltenko A, Sova Y, Stein A, Kleinhaus S, Resnick MB. Microscopic analysis and significance of vascular architectural complexity in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2001;7(3):533-7.

104. Horak ER, Leek R, Klenk N, LeJeune S, Smith K, Stuart N, et al. Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer. *Lancet.* 1992;340(8828):1120-4.

105. Yagasaki H, Kawata N, Takimoto Y, Nemoto N. Histopathological analysis of angiogenic factors in renal cell carcinoma. *Int J Urol.* 2003;10(4):220-7.

X. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

X.1. Tabellen

- Tab. 1: TNM-Klassifikation des Nierenzellkarzinoms, 7th Edition
- Tab. 2: Pathologisches Fuhrman-Grading des Nierenzellkarzinoms
- Tab. 3: Charakteristika der häufigsten RCC-Subtypen

X.2. Abbildungen

- Abb. 1: Schematischer Aufbau eines Dual-Source Computertomographen
- Abb. 2: DECT-Koronarschnitt eines linksseitigen Nierentumors in der farbkodierten Darstellung der Jodverteilung
- Abb. 3: Exemplarische Fuhrman-Grade unter dem Mikroskop
- Abb. 4: Mikroskopische Präparate verschiedener RCC-Subtypen
- Abb. 5: Transversalschnitt in der DECT: Farbkodierte Karte der Jodanreicherung bei linksseitigem Nierentumor
- Abb. 6: Transversalschnitt einer DECT: Softwarefenster der applizierten ROI mit Messwerten zu Enhancement und Jodaufnahme
- Abb. 7: Korrespondierendes Gewebeareal eines ccRCC nach Färbung mit CD31 (oben) und CD34 (unten) vor und nach farblicher Markierung der Endothelzellen

- Abb. 8: Vergleich der KM-Aufnahme der RCC-Subtypen
- Abb. 9: ROC-Analyse zur Unterscheidung zwischen ccRCC und pRCC nach Enhancement
- Abb. 10: Darstellung des Cutoff-Werts zur Differenzierung zwischen ccRCC und pRCC nach Enhancement
- Abb. 11: Vergleich der Jodkonzentration der RCC-Subtypen
- Abb. 12: ROC-Analyse zur Unterscheidung zwischen pRCC und ccRCC nach Jodkonzentration
- Abb. 13: Darstellung des Cutoff-Werts der Jodkonzentration zur Differenzierung zwischen ccRCC und pRCC
- Abb. 14: Korrelation zwischen Jodaufnahme und Fuhrman-Grad (alle RCC)
- Abb. 15: Korrelation zwischen Jodaufnahme und Fuhrman-Grad (nur ccRCC)
- Abb. 16: Korrelation zwischen Jodaufnahme und Fuhrman-Grad (nur pRCC)
- Abb. 17: Zusammenhang von CD31 und Grading beim ccRCC
- Abb. 18: Zusammenhang von CD31 und Grading beim pRCC
- Abb. 19: Zusammenhang von CD34 und Grading beim ccRCC
- Abb. 20: Zusammenhang von CD34 und Grading beim pRCC
- Abb. 21: Zusammenhang von CD31 und RCC-Subtyp
- Abb. 22: Zusammenhang von CD34 und RCC-Subtyp
- Abb. 23: Korrelation von Jodaufnahme und MVD (CD31)
- Abb. 24: Korrelation von Jodaufnahme und MVD (CD34)

XI. Lebenslauf

Der Lebenslauf ist aus Gründen des Datenschutzes in der elektronischen Fassung dieser Dissertation nicht enthalten

XII. Danksagung

Mein herzlichster und vornehmlicher Dank gilt meinen Eltern, Paolo und Maria Marcon, deren Unterstützung und Hilfe ich mir Zeit meines Lebens stets gewiss sein konnte und ohne deren Einsatz und Aufopferung meine medizinisch-berufliche Existenz, die vorliegende Arbeit eingeschlossen, nicht vorstellbar gewesen wäre.

Mein besonderer und herzlicher Dank gilt meinem Leitenden Oberarzt und Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Michael Staehler, der mir über diese Dissertation hinaus stets ein guter Lehrer und Leitfigur in meiner bisherigen klinischen Laufbahn war.

Ebenso möchte ich meinen Betreuern aus den Fachbereichen der Klinischen Radiologie sowie der Pathologie, Herrn PD Dr. Anno Graser und Frau Dr. Christiane Tymphner, danken, die mich insbesondere in der Anfangsphase dieser Studie mit Wissen und Tatkraft unterstützt haben.

Ein besonderer Dank gilt auch meinem Ärztlichen Klinikdirektor, Herrn Prof. Dr. Christian Stief, dessen über die Förderung der ärztlichen Ausbildung hinausgehendes Engagement für die medizinische Forschung täglich meinen eigenen Enthusiasmus für die Wissenschaft nährt.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen guten Freunden Ivan, Thomas, Sebastian, Göran, Timon und Patrick bedanken, die mir über die Jahre hinweg treue Weggefährten waren, auf die ich mich stets verlassen konnte und mit denen ich viele prägende Erlebnisse teilen durfte.

XIII. Eidesstattliche Versicherung

Marcon, Julian 30.11.1986

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema:

Die Rolle der Dual-Energy Computertomographie in der Subtypisierung und Graduierung des Nierenzellkarzinoms – Korrelation mit der mikrovaskulären Dichte in histopathologischen Präparaten

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ort, Datum

Unterschrift Doktorand

