

Aus der Radiologischen Universitätsklinik Tübingen  
Abteilung Radiologische Diagnostik  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. C. D. Claussen

Korrelation zwischen dynamischer kontrastverstärkter MRT  
und histologischer Analyse bei Lungenrundherden

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
Vincent Pierre Schneider  
aus  
Reutlingen

2007

Dekan: Professor Dr. Ingo B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. F. Schick

2. Berichterstatter: Professor Dr. H. Aebert

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet,  
die mir dieses Studium ermöglicht haben



## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Stellenwert der Magnetresonanztomographie bei Lungenrundherden .....</b>	<b>7</b>
<b>1.2. Die Tumorangiogenese und Tumorproliferation als wichtige Faktoren der aktuellen klinischen Forschungen .....</b>	<b>12</b>
<b>1.3. Fragestellungen und Ziele .....</b>	<b>14</b>
<b>2. Material und Methoden .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1. Patientengut.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2. MRT-Protokoll.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3. Immunhistochemische Methoden.....</b>	<b>20</b>
2.3.1. Avidin-Biotin-Komplex-Methode .....	20
2.3.2. Verwendete Antikörper .....	21
<b>2.4. Histologische Analyse der Lungenrundherde .....</b>	<b>22</b>
2.4.1. Bestimmung der histologischen Kapillarmorphologie der einzelnen Lungenrundherde.....	22
2.4.2. Quantitative Bestimmung der Kapillardichte mittels lichtmikroskopischer Kapillarzählung.....	23
2.4.3. Quantitative Bestimmung der mittels Faktor-VIII-Antikörpern immunhistochemisch angefärbten Fläche .....	25
2.4.4. Quantitative Bestimmung der Zellproliferationsrate mittels des immunhistochemischen Markers Ki-67 .....	28
2.4.5. Bestimmung der Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) der einzelnen Lungenrundherde .....	30

---

<b>2.5. Aufstellung des Entscheidungsbaumes .....</b>	<b>31</b>
<b>2.6. Statistische Methoden .....</b>	<b>33</b>
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>34</b>
<b>3.1. MRT-Parameter .....</b>	<b>34</b>
3.1.1. Intensität der Kontrastmittelaufnahme sowie Kontrastmittel- anflutungsgeschwindigkeit und wash-out .....	34
3.1.2. Analyse der Signalintensitätskurven der Kontrastmittelaufnahme ...	35
3.1.3. Morphologische Analyse der MRT-Daten .....	37
<b>3.2. Histologische Analyse .....</b>	<b>39</b>
3.2.1. Histologische Diagnosen der Lungenrundherde.....	39
3.2.2. Bestimmung der Kapillardichte .....	41
3.2.3. Bestimmung der immunhistochemisch angefärbten Fläche .....	43
3.2.4. Bestimmung der Zellproliferationsrate .....	45
3.2.5. Bestimmung der Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) .....	46
3.2.6. Analyse der morphologischen Verteilung der Kapillaren .....	47
3.2.7. Korrelation der lichtmikroskopischen Kapillarzählung mit der Bestimmung der immunhistochemisch angefärbten Fläche .....	49
<b>3.3. Korrelation der histologischen Ergebnisse mit den ermittelten MRT-         Parametern.....</b>	<b>51</b>
3.3.1. Gegenüberstellung mittlere Kapillardichte und mittlere Kontrast- mittelaufnahme .....	51
3.3.2. Einteilung der histologischen Ergebnisse und MRT-Ergebnisse nach Kurventypen .....	52
3.3.3. Korrelation der Kapillardichte und der immunhistochemisch angefärbten Kapillarfläche mit der Kontrastmittel-Signalintensität.....	56

---

3.3.4. Korrelation der Kapillardichte und der immunhistochemisch angefärbten Kapillarfläche mit der Kontrastmittelanflutungsgeschwindigkeit (Slope) und dem wash-out .....	61
3.3.5. Korrelation des Zellproliferationsmarkers Ki-67 mit den Parametern der MRT-Untersuchung .....	62
3.3.6. Korrelation der Ergebnisse des VEGF-Scores mit den Ergebnissen der MRT-Untersuchung .....	64
3.3.7. Korrelation der Morphologie-Parameter der histologischen und magnetresonanztomographischen Analyse.....	65
<b>3.4. Analyse des Entscheidungsbaumes .....</b>	<b>66</b>
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>68</b>
<b>5. Zusammenfassung.....</b>	<b>85</b>
<b>6. Literaturliste.....</b>	<b>89</b>
<b>7. Anhang .....</b>	<b>97</b>
7.1. Tabellen.....	97
7.2. Abbildungen .....	101
<b>8. Danksagung .....</b>	<b>105</b>
<b>9. Lebenslauf .....</b>	<b>106</b>

**Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1 .....	8
Abbildung 2 .....	8
Abbildung 3 .....	23
Abbildung 4 .....	25
Abbildung 5 .....	28
Abbildung 6 .....	29
Abbildung 7 .....	31
Abbildung 8 .....	36
Abbildung 9 .....	39
Abbildung 10 .....	49
Abbildung 11 .....	50
Abbildung 12 .....	51
Abbildung 13 .....	55
Abbildung 14 .....	59
Abbildung 15 .....	59
Abbildung 16 .....	60
Abbildung 17 .....	60
Abbildung 18 .....	62
Abbildung 19 .....	67
Abbildung 20 .....	101
Abbildung 21 .....	102
Abbildung 22 .....	103
Abbildung 23 .....	104

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1 .....	1
Tabelle 2 .....	5
Tabelle 3 .....	21
Tabelle 4 .....	24
Tabelle 5 .....	27
Tabelle 6 .....	30
Tabelle 7 .....	34
Tabelle 8 .....	35
Tabelle 9 .....	38
Tabelle 10.....	40
Tabelle 11.....	41
Tabelle 12.....	42
Tabelle 13.....	43
Tabelle 14.....	44
Tabelle 15.....	45
Tabelle 16.....	48
Tabelle 17.....	52
Tabelle 18.....	53
Tabelle 19.....	54
Tabelle 20.....	54
Tabelle 21.....	57
Tabelle 22.....	58
Tabelle 23.....	61
Tabelle 24.....	62
Tabelle 25.....	63
Tabelle 26.....	64
Tabelle 27.....	65
Tabelle 28.....	97

**Abkürzungsverzeichnis**

ABC	Avidin-Biotin-Komplex
BC	Bronchialkarzinom
Ca	Karzinom
CT	Computertomographie
DAB	Diaminobenzidintetrahydrochlorid
E	Enhancement (Intensität der Kontrastmittelaufnahme im MRT)
FDG-PET	2-[fluorine18]-fluoro-2-deoxy-D-glucose-Positronen-Emissions-Tomographie
Gd-DTPA	Gadolinium-Diäthylentriaminpentaessigsäure
IQS	Interquartilspanne
ISS	Immunostained Surface (Immunhistochemisch angefärbte Fläche)
kDA	KiloDalton
Ki-67	Marker zur Erfassung der Zellproliferationsrate (Äquivalent zu MIB-1)
KM	Kontrastmittel
KT	Kurventyp
LRH	Lungenrundherd(e)
Mean	Mittelwert
MRT	Magnetresonanztomographie
MV	Microvessel (Kapillare)
MVD	Microvessel-Density (Kapillardichte)
QUIPS	Quantimed Interactive Programming System (Programmroutine zur Automatisierung von Arbeitsschritten)
RGB	Rot-Grün-Blau
ROI	Region of Interest
rS	Spearman'scher Rangkorrelationskoeffizient
SI	Signalintensity (Signalintensität)
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (Endothelialer Gefäßwachstumsfaktor)

## **1. Einleitung**

Das Bronchialkarzinom wurde bereits 1533 von Paracelsus beschrieben. Besonders durch das Zigarettenrauchen ist dieser Tumor inzwischen zur dritthäufigsten Krebsart geworden. Die Inzidenz der Bronchialkarzinome steigt kontinuierlich an und betrug bei den Männern im Jahre 2000 etwa 31.800 und bei den Frauen etwa 10.400 Neuerkrankungen jährlich. Die 5-Jahresüberlebensrate liegt bei nur 13% für Männer und 14% für Frauen [1].

In Tabelle 1 ist zur Veranschaulichung die histologische Verteilung der verschiedenen Lungenkrebsentitäten aus einer Erhebung der Thoraxklinik Heidelberg-Rohrbach dargestellt. Zu sehen ist, dass das Plattenepithel- und das Adenokarzinom den größten Anteil an malignen Neuerkrankungen der Lunge verursachen [2].

<b>Histologie</b>	<b>Gesamt</b>	<b>Frauen</b>	<b>Männer</b>
<b>Plattenepithelkarzinom</b>	37%	19%	40%
<b>Adenokarzinom</b>	32%	52%	28%
<b>Kleinzelliges Karzinom</b>	19%	18%	20%
<b>Großzelliges Karzinom</b>	7%	6%	7%
<b>Mischtumoren</b>	5%	5%	5%

**Tabelle 1: Histologische Verteilung der Bronchialkarzinome (Thorax-Klinik, Krankenhaus Heidelberg-Rohrbach, n=6097).**

Das Plattenepithelkarzinom lässt sich, histologisch gesehen, in unterschiedliche Differenzierungsgrade (G1-G4) einteilen. Hochdifferenzierte Plattenepithelkarzinome weisen gleichförmige Epithelkomplexe mit zellulären Atypien, Verhornungstendenz und Ausprägung von Interzellularbrücken auf. Im Querschnitt resultieren wirbelartige und zwiebelschalenähnliche Hornperlen (verhornendes Plattenepithelkarzinom).

Das Adenokarzinom ist ein vom Epithelgewebe vor allem exokriner, seltener endokriner Drüsen oder von zylinderzellhaltiger Schleimhaut ausgehendes Karzinom. Es lässt sich in azinäre, papilläre, solide und schleimbildende Adenokarzinome einteilen. Adenokarzinome werden im Regelfall, da sie lange symptomlos bleiben, erst spät entdeckt. Charakteristisch sind ausgedehnte zentrale Vernarbungen, weshalb die Abgrenzung zu einem Narbenkarzinom Probleme bereiten sein kann. Die Abgrenzung zu Metastasen von Adenokarzinomen anderer Organe (Niere, Uterus, etc...) kann sehr schwierig sein.

Neuroendokrine Tumoren (Karzinoide) sind über mehrere Jahre lokal begrenzt wachsende Tumoren mit einer guten Prognose nach operativer Entfernung. Atypische Karzinoide sind durch erhöhte Zellpolymorphie, gesteigerte Proliferationsaktivität und kleinherdige Nekrosen charakterisiert. Bei Diagnose sind bereits in 30% Lymphknotenmetastasen vorhanden.

In der Untergruppe der wenig differenzierten (hochmalignen) neuroendokrinen Karzinome werden heute die kleinzelligen Karzinome mit den Untergruppen des Oatcell-Karzinoms (haferkornähnliche Zellen) und großzellige, neuroendokrine Tumoren geführt [3, 4].

Abgesehen von den oben genannten malignen Tumorarten kann es auch noch andere Ursachen für einen Lungenrundherd geben.

Metastasen können ebenfalls für solch einen Befund verantwortlich sein, wobei lymphogene und hämatogene Metastasierungswege unterschieden werden. Besonders Tumoren der an das System der unteren Hohlvene angeschlossenen abdominalen Organe metastasieren bevorzugt hämatogen in die Lunge (z.B. Nieren-, Rektum-, Magen-, Pankreas-, aber auch Mammakarzinome). Bei der lymphogenen Tumorausbreitung resultiert häufig eine reaktive paravasale Fibrose (röntgenologisch Befund einer interstitiellen Lungenfibrose). Besonders häufig metastasieren Plattenepithel- und Adenokarzinome in die Lunge, wobei aber auch seltener Tumoren (z.B. Knochentumoren (Ewing-Sarkom)) eine Metastasierung verursachen können.

Ebenso können auch benigne Prozesse einen mittels Bildgebung sichtbaren Lungenrundherd verursachen. Hamartochondrome sind meist gutartige Geschwulste aus Knorpelgewebe. Diese sind von Knorpel oder Knochen oder von knorpelfreiem Gewebe (heterotopes Chondrom) ausgehend, mit Neigung zu schleimiger oder fettiger Erweichung, Zystenbildung, Verkalkung und Verknocherung. An Mischformen gibt es Chondrofibrome, -myxome, -angiome, sowie -osteome. Ein Übergang in das maligne Chondrosarkom ist möglich. Tuberkulome zeichnen sich durch einen „Zusammenfluss“ mehrerer tuberkuloider Granulome (zentral mit verkäsender Nekrose, nach außen hin Lymphozyten) aus. Diese kapseln sich im Verlauf meist narbig ab. Entzündliche sowie lymphozytäre Reaktionen können verschiedene Ursachen wie zum Beispiel chronische Reize durch körperfremdes oder eigenes Material oder bakterielle Infektionen haben [3, 4].

Aufgrund des schnellen Wachstums maligner Tumoren mit rascher Metastasierung und geringen Überlebensraten vor allem in fortgeschrittenen Stadien ist es wichtig, diese Tumoren frühzeitig zu erkennen und von benignen Läsionen sicher zu unterscheiden. Der Goldstandard zur Früherkennung neu aufgetretener Rundherde der Lunge ist bisher die Computertomographie [5, 6]. Die bisherigen Ergebnisse zeigen aber, dass dieses Verfahren in der Differenzierung von Lungenrundherden zu ungenau ist [6, 7].

In einer Screening-Studie mit 3500 CT-Untersuchungen von 1400 Patienten waren 455 abklärungs- bzw. kontrollbedürftige Befunde aufgefallen, wobei letztlich jedoch nur eine geringe Zahl von 15 Karzinomen gefunden wurde [6]. Dies bedeutet für die Patienten eine Belastung, da diese Befunde entweder biopsiert oder durch eine Verlaufskontrolle beobachtet werden müssen. Lungenrundherde sind somit häufige Befunde in der röntgenologischen Thoraxdiagnostik und die im CT entdeckte Anzahl kleiner Lungenrundherde ist seit Einführung der hochauflösenden Dünnschichtcomputertomographie weiter angestiegen [8]. Auch durch das Lungenkrebscreening mittels Niedrig-Dosis-Computertomographie, welche sich zu diesem Zweck immer mehr durchsetzt, werden kleinere Lungenrundherde (< 10 mm) häufiger als früher entdeckt

[6, 9-11]. Die weitere Vorgehensweise bei solchen neu entdeckten Lungenrundherden sollte überdacht werden, da die meisten von ihnen gutartig sind und eine Operation somit meist unnötig ist [12].

Als Möglichkeit zur Verlaufskontrolle bieten sich regelmäßige CT-Untersuchungen an, um das Wachstum, welches sich in den allermeisten Fällen durch eine Volumenzunahme bemerkbar macht, zu ermitteln [10, 13, 14]. Ein Problem ist aber die hohe Strahlenbelastung, welche selbst bei der Niedrig-Dosis-Computertomographie nicht unerheblich ist [15, 16]. Nach internationaler Meinung müssen zudem Lungenrundherde größer als 10 mm definitionsgemäß biopsiert oder chirurgisch exzidiert werden. Dabei wurde gezeigt, dass 20-50% aller invasiv untersuchten Lungenrundherde gutartig waren und somit der operative Eingriff entbehrlich war [17-19].

Die aktuelle Studie aus dem Jahre 2005 von MacMahon et al. [7] zeigt ebenfalls, dass die momentan gültigen Leitlinien bei Neuentdeckung eines Lungenrundherdes im CT in Bezug auf ihren Nutzen, ihre Risiken sowie die Kosten-Effektivität überdacht werden sollten. Diese besagen, dass jeder unklare, mittels CT neu entdeckte Lungenrundherd, innerhalb von spätestens 2 Jahren neu untersucht werden sollte. In den letzten 5 Jahren zeigten sich wichtige neue Erkenntnisse bezüglich der Prävalenz und der biologischen Eigenschaften (z.B. Wachstumsgeschwindigkeit) von Lungenrundherden. Die neuesten Empfehlungen von MacMahon et al. zum Vorgehen bei neu entdeckten Lungenrundherden im CT unterscheiden sich deshalb in wesentlichen Punkten gegenüber denen vorheriger Leitlinien (siehe Tabelle 2). Obwohl die CT-Untersuchungen bei kleinen Befunden (< 6mm) aufgrund dieser Erkenntnisse deutlich reduziert werden können, sind vor allem bei Befunden > 8mm aber immer noch mehrfache Nachuntersuchungen mit dann entsprechender Strahlenbelastung indiziert.

Rundherdgröße (mm) <sup>2</sup>	Patienten mit niedrigem Risiko (1)	Patienten mit hohem Risiko (2)
≤ 4	Keine Nachsorge-Untersuchung nötig (3)	Nachsorge-CT in 12 Monaten. Wenn Befund unverändert, keine weitere Nachsorgeuntersuchung (4)
> 4-6	Nachsorge-CT in 12 Monaten. Wenn Befund unverändert, keine weitere Nachsorgeuntersuchung (4)	Initiales Nachsorge-CT nach 6-12 Monaten, dann nach 18-24 Mon., wenn Befund unverändert (4)
> 6-8	Initiales Nachsorge-CT nach 6-12 Monaten, dann nach 18-24 Mon., wenn Befund unverändert	Initiales Nachsorge-CT nach 3-6 Mon.. Dann nach 9-12 und nach 24 Mon. falls Befund unverändert
> 8	Nachsorge-CT nach 3, 9 und 24 Monaten; dynamisches, kontrastverstärktes CT, PET und/oder Biopsie	Gleiches Vorgehen wie bei Patienten mit niedrigem Risiko
<p><b>(1) Nichtraucher oder „Wenig-Raucher“ in der Vorgeschichte sowie keine anderen bekannten Risikofaktoren</b></p> <p><b>(2) Raucher/in in der Vorgeschichte oder andere bekannte Risikofaktoren</b></p> <p><b>(3) Das Risiko, dass der Befund in dieser Kategorie maligne ist (&lt; 1%), ist wesentlich geringer als bei einer CT-Untersuchung eines asymptomatischen Rauchers</b></p> <p><b>(4) Solide („Matt-Glass“) sowie teilsolide Lungenrundherde benötigen eventuell eine längere Nachsorge, um langsam wachsende Adenokarzinome aufzuspüren</b></p>		

**Tabelle 2: Aktuelle Empfehlungen zur Nachsorge und zum Vorgehen bei Lungenrundherden, welche zufällig im CT entdeckt wurden (bei Personen älter als 35 Jahre).**

Mittels kontrastmittelverstärkter, dynamischer CT ist ebenfalls eine qualitative und quantitative Unterscheidung der Vaskularisierung zwischen benignen und malignen Läsionen möglich [20-25]. Eine multizentrisch durchgeführte Studie hat aber eine starke Überlappung der Kontrastmittelaufnahmeintensität bei benignen und malignen Lungenrundherden gezeigt, sodass sich hieraus eine Spezifität von nur 58% ergab [23-25].

Die 2-[fluorine18]-fluoro-2-deoxy-D-glucose-Positronen-Emissions-Tomographie (FDG-PET) stellt eine weitere wichtige, nicht invasive Untersuchungsmethode zur Klassifizierung von Lungenrundherden dar. Die FDG-PET, basierend auf der Verstoffwechslung von FDG, trennt maligne von benignen Lungenrundherden mit einer relativ hohen Genauigkeit von ca. 90% [26-28]. Die Sensitivität bei Lungenrundherden kleiner als 20 mm lässt aber stark nach [22].

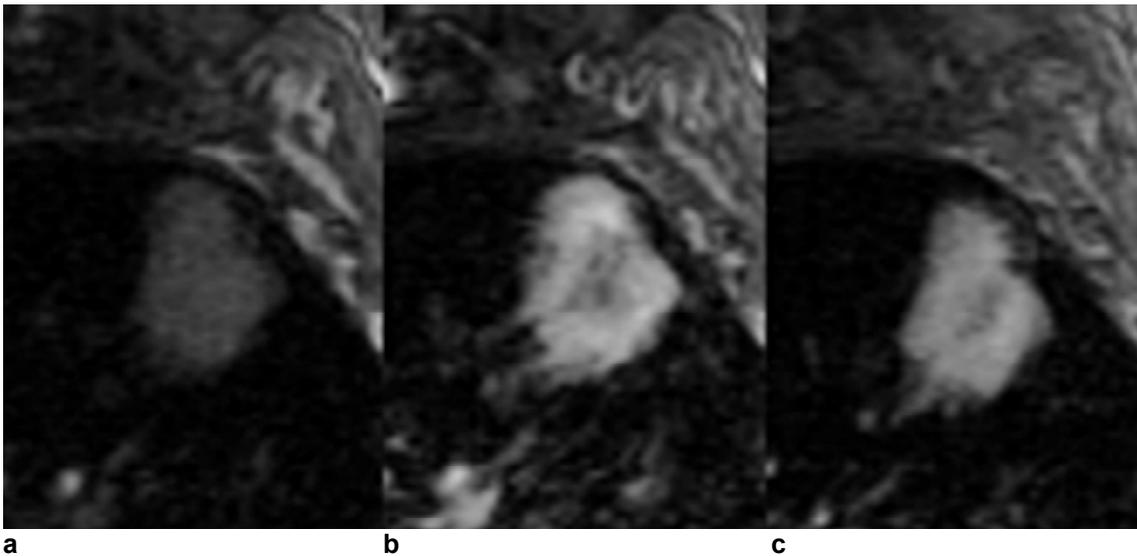
Die im Gegensatz zur Computertomographie bei der dynamischen, kontrastmittelverstärkten Magnetresonanztomographie bestehenden Vorteile (unter anderem keine Strahlenbelastung, bessere Darstellung des zu untersuchenden Gewebes, höhere zeitliche Auflösung) in der Charakterisierung von Lungenrundherden wurden bereits von verschiedenen Forschungsgruppen bestätigt [22, 29, 30]. Dabei ist es mit Hilfe spezieller Sequenzen mit kurzer Aufnahmezeit möglich, die erste Anflutungsphase des Kontrastmittels im Lungenrundherd genau darzustellen.

## **1.1. Stellenwert der Magnetresonanztomographie bei Lungenrundherden**

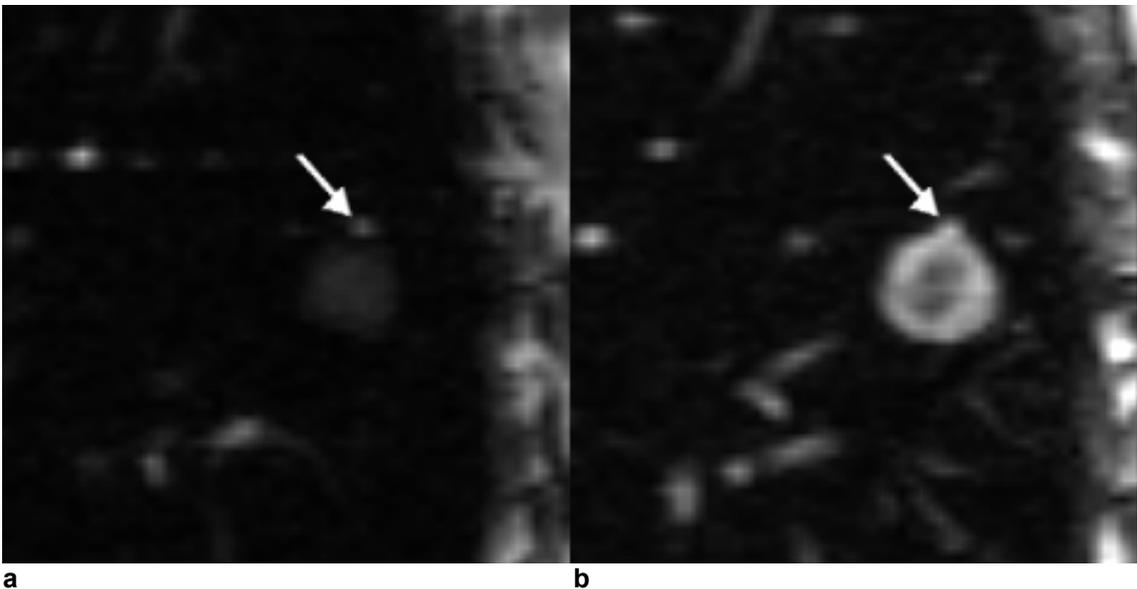
Im Gegensatz zu anderen Organen ist die MRT-Untersuchung von Lungenrundherden trotz gewisser Vorteile aufgrund einiger Probleme bei der Darstellung des Lungengewebes bisher keine Standarduntersuchungsmethode. Dies hängt vor allem mit den sich ergebenden Artefakten durch Herz- und Atembewegungen und der relativ niedrigen räumlichen Auflösung zusammen [31-33]. Deshalb existieren bis jetzt noch sehr wenige Daten zu dieser Untersuchungsmethode [34-38]. Diese haben aber hinsichtlich der Sensitivität bei der Unterscheidung zwischen benignen und malignen Lungenrundherden im Vergleich zu der dynamischen CT-Untersuchung vergleichbare Ergebnisse aufgezeigt. Die MRT-Untersuchungen zeigten hier aber eine höhere Spezifität. Dies wurde unter anderem damit erklärt, dass mittels MRT die Anflutungsgeschwindigkeit des Kontrastmittels während der ersten Aufnahmephase präzise bestimmt werden konnte [34-38].

Während der Effekt des jodhaltigen Kontrastmittels beim CT auf der direkten, proportionalen Kontrastmittelkonzentration im Blut basiert, hängen die paramagnetischen Kontrastmitteleffekte bei den MRT-Untersuchungen von der Interaktion mit den Wassermolekülen in den verschiedenen Gewebetypen, einschließlich Interstitium und Zytoplasma, ab [34, 39, 40]. Deshalb sind kontrastmittelverstärkte Untersuchungen mittels CT und MRT nicht direkt vergleichbar.

Nichtsdestotrotz wird die MRT immer häufiger zur Erfassung perfusionsabhängiger Prozesse menschlicher Tumoren eingesetzt [41-45]. Zwecks der qualitativen Beurteilung der Angiogenese wird die kontrastverstärkte, dynamische MRT zunehmend als nichtinvasive Methode anerkannt [45-47]. So können z.B. „focal hotspots“ (Bereiche verstärkter Kontrastmittelaufnahme) und andere Muster dargestellt und beurteilt werden. In den Abbildungen 1 und 2 sind dazu Beispiele aus der hier vorliegenden Arbeit demonstriert.



Abbildungen 1a-c: Fall eines 69jährigen Mannes mit einem primären Adenokarzinom der Lunge von 32mm Durchmesser. Die Bilder a, b und c stellen sagittale Schnitte dynamischer MRT-Bilder dar. Nach einem Zeitintervall von  $t=0s$  (a) ist ein unregelmäßiger, schwach kontrastierter Herd zu sehen. Nach  $t=20s$  (b) ist ein sehr starker Anstieg der KM-Aufnahme mit einer Hypodensität im Zentrum sowie einzelnen, stärker kontrastierten Bereichen zu sehen. Nach  $t=90s$  (c) erscheint die KM-Aufnahme weniger stark.



Abbildungen 2a, b: Sagittale Schnitte der dynamischen MRT-Untersuchung eines 59-jährigen Mannes mit einem Hamartom. Vor der Kontrastmittelapplikation zeigt das linke Bild (a) einen hypointensen Lungenrundherd mit unregelmäßigem Randsaum. 30 Sekunden nach Kontrastmittelapplikation zeigt sich im rechten Bild (b) eine ringförmige Anreicherung des Lungenrundherdes (Pfeil: anliegendes Gefäß).

Darüber hinaus wurde in jüngsten Publikationen darauf hingewiesen, dass mittels der funktionellen MRT nicht nur die Kapillardichte, sondern auch die Kapillarpermeabilität abgeschätzt werden kann [48]. Dem Radiologen stünde somit eine Methode mit einem breiten klinischen Anwendungsgebiet zur Verfügung. Trotz dieses klinischen Potentials liegen bisher nur sehr wenige detaillierte Ergebnisse zu Vergleichen zwischen funktionellen MRT-Parametern und histomorphologischen Markern der Kapillardichte und Kapillarpermeabilität bei menschlichen Tumoren vor. Arbeiten dazu finden sich vor allem im gynäkologischen Fachgebiet, zum Beispiel beim Zervix- [47, 49] sowie beim Mammakarzinom [46, 50].

Aufbauend auf der am Radiologischen Universitätsklinikum Tübingen durchgeführten Studie von Schaefer et al. [51] (gefördert durch das fortune-Programm des Universitätsklinikums Tübingen) über das Kontrastmittelaufnahmeverhalten solitärer Lungenrundherde im MRT, wurden in dieser Arbeit bei einem Teilkollektiv der Patienten ergänzend die Zusammenhänge zwischen dynamischer, kontrastverstärkter MRT-Untersuchungen und der Tumorphistologie (Kapillardichte, VEGF-Expression, Zellproliferationsrate, morphologische Kapillarverteilung) untersucht.

In der von Dr. med. J. F. Schaefer, Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. F. Schick sowie J. Vollmar geleiteten Studie wurde untersucht, ob es möglich ist, mittels dynamischer, kontrastmittelverstärkter MRT relevante Unterschiede zwischen benignen und malignen Lungenrundherden zu finden. Dazu wurden die kinetischen sowie morphologischen Parameter der Kontrastmittelaufnahme bei 51 Patienten analysiert [51]. Einschlusskriterien waren ein mittels Computertomographie neu entdeckter, solitärer Lungenrundherd von 5-40mm Größe ohne Zeichen der Verkalkung sowie ohne Fetteinlagerungen. Die Datenerhebung wurde unter Zuhilfenahme einer dynamischen MRT-Untersuchung nach schneller Bolus-Injektion einer Standarddosis Gadolinium-DTPA durchgeführt. Das Messintervall betrug 10s über einen Messzeitraum von 4 Minuten.

Zur Unterscheidung der benignen sowie malignen Lungenrundherde wurden Schwellenwerte für die Parameter der Kontrastmittelaufnahme gesetzt. Parameter waren die Kontrastmittelaufnahme der Lungenrundherde nach  $t=30s$  ( $E_{early}$ ), die maximale Kontrastmittelaufnahme ( $E_{max}$ ) sowie deren Mittelwert während des gesamten Messzeitraumes ( $E_{mean}$ ), die Anflutungsgeschwindigkeit des Kontrastmittels (Slope) und das wash-out-Phänomen („Auswaschen“ des Kontrastmittels).

In der Studie waren 53% (27 von 51) der gemessenen Lungenrundherde maligner Natur. Die Parameter der Kontrastmittelaufnahme ( $E_{early}$ ,  $E_{max}$ ,  $E_{mean}$ , Slope und wash-out) zeigten bei malignen Lungenrundherden signifikant höhere Werte als bei benignen ( $p<0,0001$ ). Ein signifikantes wash-out-Phänomen ( $> 0.1 SI\%/s$ ) wurde nur in malignen Lungenrundherden (14 von 27 Fälle) gefunden.

Ferner wurden die Profile der Signalintensitätskurven (Aufnahmecharakteristik des Kontrastmittels während des gesamten Messzeitraumes), welche in bisherigen Studien noch nicht berücksichtigt wurden, ermittelt. Des Weiteren erfolgte eine Einteilung in 5 Gruppen nach der morphologischen Verteilung der Kontrastmittelaufnahme der Lungenrundherde.

Die Sensitivität, Spezifität sowie die Zielgenauigkeit bei der Unterscheidung von benignen und malignen Rundherden betragen für die maximale Kontrastmittelaufnahme 96%, 88%, 92%, für die Anflutungsgeschwindigkeit 96%, 75%, 86% und für das wash-out-Phänomen 52%, 100%, 75%. Bei der Kombination der Ergebnisse der Profile der Signalintensitätskurven mit den Ergebnissen der morphologischen Verteilung des Kontrastmittels lagen diese bei 100%, 79% und 90% [51].

Es wurde gezeigt, dass die dynamische, kontrastmittelverstärkte MRT signifikante Unterschiede zwischen kinetischen sowie morphologischen Parametern bei benignen sowie malignen Lungenrundherden darstellen kann. Das wash-out-Phänomen scheint hochspezifisch für maligne Lungenrundherde zu sein.

Unserem Wissen nach gibt es bis jetzt noch keine Studie, die sich mit dem Zusammenhang zwischen der Kontrastmittelaufnahme im MRT und den in dieser Studie untersuchten histologischen Parametern bei Lungenrundherden befasst hat. Dabei ist die Untersuchung dieser Zusammenhänge unter Berücksichtigung der immer mehr an Bedeutung zunehmenden MRT-Untersuchung von Lungenrundherden entscheidend. Damit ließe sich eventuell auch die höhere Genauigkeit der MRT-Untersuchungen im Gegensatz zur Computertomographie bei der Unterscheidung von benignen und malignen Befunden erklären.

## **1.2. Die Tumorangiogenese und Tumorproliferation als wichtige Faktoren der aktuellen klinischen Forschungen**

Die Tumorangiogenese stellt derzeit einen der Schwerpunkte in der radiologischen sowie in der onkologischen Forschung zur Klassifizierung und Behandlung maligner Tumoren dar. Diese läuft zumeist nach einem charakteristischen Muster ab. Nachdem ein neu gebildeter Tumor eine Größe von wenigen Millimetern im Durchmesser (ca.  $10^6$  Zellen) erreicht hat, benötigt er für weiteres Wachstum die Einsprossung neuer Blutkapillaren, um die Versorgung mit Nährstoffen sicherzustellen [52, 53].

Diese Kapillarneubildung erreichen Tumorzellen dadurch, indem sie angiogene Faktoren exprimieren und sezernieren. Dies führt, wenn die Blutversorgung des Tumors sichergestellt ist, zu einem ausgeprägten Wachstumsschub [54]. Gerade die Kapillardichte eines Tumors gilt hierbei als wichtiger Parameter für dessen Einteilung. Eine hohe Kapillardichte ist zum Beispiel häufig mit einer hohen Metastasierungsrate und/oder schlechten Überlebensrate verknüpft. Dies wurde schon bei Tumoren der Mamma [53, 55], der Lunge [56, 57], oder auch der Zervix [58, 59] gezeigt.

Zur Ermittlung der quantitativen Kapillardichte eignet sich sehr gut die immunhistochemische Färbung zur Darstellung der Expression von Faktor VIII (auch von Willebrand Faktor genannt) in den Kapillarendothelien [60]. Die Endothelzellen werden mit Hilfe von monoklonalen Mausantikörpern (Anti-Faktor VIII) immunhistochemisch markiert und so sichtbar gemacht. Danach ist es möglich, mittels verschiedener Methoden der Quantifizierung zum Beispiel die Anzahl der Mikrokapillaren genau zu bestimmen [40, 53, 61-63].

Ki-67 ist ein nukleäres Protein, von dem zwei Isotypen mit 345 sowie 395 kDA Größe identifiziert wurden [64, 65]. Das Ki-67-Antigen wird während aller Zellteilungsphasen einer Zelle ( $G_1$ , S,  $G_2$  sowie M-Phasen) im Zellkern exprimiert, aber es fehlt in sich nicht in der Zellteilung befindlichen Zellen ( $G_0$ -Phase) [64, 66]. Das Ki-67-Antigen wird sehr schnell abgebaut, wenn die Zelle in die  $G_0$ -

Phase eintritt. Es scheint auch während DNA-Reparatur-Prozessen nicht zur vermehrten Expression des Antigens zu kommen [67].

Somit steht hier ein wichtiger, selektiver Zellzyklus- und Tumorwachstumsmarker zu Verfügung, welcher bereits bei verschiedenen Tumorarten, wie zum Beispiel der Lunge [68-70], der Prostata [71] oder der Mamma [72] zur Analyse und Klassifizierung verwendet wurde. Ki-67 quantifiziert zwar nicht direkt die Angiogenese, ist aber als Marker für die allgemeine Proliferationsaktivität von zentraler Bedeutung [66].

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) als Marker der Kapillarpermeabilität ist ein weiterer wichtiger Faktor des komplexen Prozesses der Tumorangiogenese.

VEGF ist ein Heparin-bindendes Zytokin, welches von Tumorzellen unterschiedlichster Kategorien exprimiert wird [73]. VEGF ist an dem komplizierten Prozess der Angiogenese beteiligt, indem es unter anderem in der Lage ist, selektiv die Mitoserate der Kapillarendothelzellen anzuregen [74]. VEGF ist ein 46 kDa Dimer, bestehend aus zwei identischen, mittels Disulfid-Brücken verbundenen Untereinheiten, welche in vier Einheiten vorkommen und jeweils 121, 165, 189 oder 206 Aminosäureketten lang sind. Seine wichtige Funktion wurde bereits in früheren Studien über das primäre Lungenkarzinom hervorgehoben, in denen unter anderem signifikante Zusammenhänge mit histologischen Parametern oder den Metastastierungsraten festgestellt wurden [75-79].

Obwohl histomorphologische Quantifizierungen z.B. der Kapillardichte oder der Kapillarpermeabilität als „Goldstandard“ zur Erfassung der Tumorangiogenese gelten [55, 80], sind diese Methoden aus vielerlei Gründen nicht als ideal anzusehen. So handelt es sich grundsätzlich um eine invasive Methode, die oftmals nicht den gesamten Tumor erfasst. Wünschenswert wäre also eine nichtinvasive Methode zur Abschätzung der angiogenetischen Aktivität, die darüber hinaus nichtinvasiv und wiederholbar den gesamten Tumor erfasst. Um die Wertigkeit invasiver und nicht invasiver Methoden zu klassifizieren, ist

es wichtig, die gewonnenen Daten beider Methoden direkt miteinander zu vergleichen [49].

Als nichtinvasive Methode diene uns in dieser Arbeit die dynamische, kontrastmittelverstärkte MRT. Als invasive Methode die operative Resektion mit anschließender histologischer Klassifizierung sowie Analyse des jeweiligen Lungenrundherdes.

### **1.3. Fragestellungen und Ziele**

Im Rahmen dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob es Zusammenhänge zwischen der Angiogenese sowie der Zellproliferationsrate und der dynamischen, kontrastverstärkten MRT bei Lungenrundherden unter Einbeziehung von Kontrastmittelaufnahmeprofilen gibt.

Es wurde nach Zusammenhängen zwischen der histologischen Kapillardichte (MVD), der immunhistochemisch angefärbten Fläche (ISS%), der VEGF-Expression sowie der Zellproliferationsrate (Ki-67-Expression) mit der dynamischen, kontrastverstärkten MRT bei Lungenrundherden gesucht. Bei den MRT-Untersuchungen wurden die Kontrastmittelaufnahme der Lungenrundherde nach  $t=30s$  ( $E_{early}$ ), die maximale Kontrastmittelaufnahme ( $E_{max}$ ), der Mittelwert der Kontrastmittelaufnahme während des gesamten Messzeitraumes ( $E_{mean}$ ), die Anflutungsgeschwindigkeit des Kontrastmittels (Slope) und das wash-out-Phänomen (wash-out) ermittelt. Ferner wurden die Rundherde nach morphologischen Kriterien der Kontrastmittelaufnahme sowie der histologischen Kapillarverteilung eingruppiert. Die Ergebnisse der MRT-Untersuchung sowie der histologischen Analyse wurden miteinander korreliert.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Patientengut**

Die Patienten für diese Arbeit wurden aus drei verschiedenen thoraxchirurgischen Abteilungen ausgesucht. Dabei galten folgende Einschlusskriterien:

- a) Ein neu entdeckter Rundherd im Computertomogramm, welcher eine weitere Abklärung benötigte
- b) Keine Verkalkungen oder Fetteinlagerungen im Lungenrundherd
- c) Größe des Rundherdes zwischen 5 und 40 mm
- d) Keine Pneumonie oder bekannter Immundefekt in der Vorgeschichte
- e) Keine Kontraindikationen für die Kontrastmittelapplikation
- f) Kooperationsbereitschaft des Patienten während den Untersuchungen

Zusätzlich wurde für die vorliegende Arbeit eine Resektion des Lungenrundherdes mit Einbettung in Paraffin vorausgesetzt.

Von Januar bis Oktober 2000 wurden mittels Magnetresonanztomographie insgesamt 71 Patienten, nach Aufklärung mittels schriftlicher Einverständniserklärung über die MRT-Untersuchung sowie die histologische Analyse, untersucht.

Von den Patienten wurden zur Aufarbeitung der einzelnen Fälle die Krankenakten aus dem Robert-Bosch-Krankenhaus in Stuttgart, der Lungenfachklinik Schillerhöhe in Stuttgart sowie aus dem Universitätsklinikum Tübingen eingesehen, um die jeweiligen histologischen Befunde zu erhalten. In 54 Fällen wurde eine histologische Referenzdiagnose mittels Biopsie, Bronchiallavage oder operativer Resektion gestellt.

Die histologische Referenzdiagnose wurde entweder in der Pathologie des Katharinenhospitals in Stuttgart (Direktor Prof. Dr. med. A. Bosse), dem Pathologischen Institut des Robert-Bosch-Krankenhauses in Stuttgart (Direktor Dr.

med. F. Fritz) oder in der pathologischen Abteilung des Universitätsklinikums Tübingen (Direktor Prof. Dr. med. B. Bültmann) gestellt.

In 41 Fällen existierten Paraffinblöcke mit dem operativ entfernten Befund, welche in den Archiven der drei Institute zu finden waren. In Zusammenarbeit mit Professor Dr. M. Wehrmann vom pathologischen Institut der Universitätsklinik Tübingen wurden dann aus der Vielzahl der Paraffinblöcke die für die Studie geeigneten ausgesucht. Die restlichen 13 Patienten wurden nur mittels Feinnadel biopsiert oder der Befund wurde mittels Bronchiallavage gestellt. Der Lungenrundherd wurde also nicht als ganzes reseziert und es konnte damit keine genaue histologische Untersuchung vorgenommen werden. Zwei Patienten konnten nicht in diese Studie aufgenommen werden, da die Paraffinblöcke nicht auffindbar waren.

Am Ende erfüllten somit 39 Patienten (12 Frauen, 27 Männer) im Alter von 25 bis 77 Jahren (Durchschnittsalter 61 Jahre) die Einschlusskriterien für die weitere histologische Untersuchung. Das Durchschnittsalter der Frauen betrug 59 Jahre (25 bis 77 Jahre), das der Männer 62 Jahre (47 bis 75 Jahre) (Wilcoxon-Test,  $p=0,89$ ).

## **2.2. MRT-Protokoll**

Die MRT-Analyse wurde an einem Ganzkörper 1,0 Tesla Magnetresonanztomographen (Magnetom Expert, Siemens Erlangen, Germany) durchgeführt.

Nach Erstellen orientierender Tomogramme wurden zunächst schnelle, hochauflösende 3D-Gradientenechosequenzen in transversaler Schichtführung in Atemanhaltetechnik als Suchsequenz angewandt, um den gesamten Thorax lückenlos darstellen zu können (repetition time = 800 – 1000 ms, echo time = 6 ms, flip = 20°, Voxel-Größe 1.3 mm × 1.3 mm × 6 mm).

Die eigentlichen, kontrastmittelverstärkten Messungen wurden mit einer dynamischen T1w 2D-Gradientenechosequenz nach Bolus-Injektion der Standarddosis Gadolinium-DTPA (0.1 mmol/kg Körpergewicht) durchgeführt. Es wurde dabei ausschließlich die Kontrastmittelaufnahme im betreffenden Lungenrundherd beachtet. Alle 10s wurde über einen Zeitraum von 4 Minuten eine Messung durchgeführt (repetition time = 20 ms, echo time = 4.8 ms, flip = 70°, Voxel-Größe 1.4 mm × 1.4 mm × 8 mm). Für jede Messung musste der Patient nach dem Einatmen die Luft für vier Sekunden anhalten, um Atemartefakte zu vermeiden.

Gd-DTPA (Magnevist, Schering AG, Germany) wurde nach dem Start der zweiten Messung der dynamischen MRT-Serie in eine Armvene injiziert. Nach der Kontrastmittelinjektion wurden sofort 20ml physiologische Kochsalzlösung (0,9%) injiziert. Alle MRT-Untersuchungen waren inklusive der Platzierung der Venenverweilkanüle innerhalb von 25 Minuten beendet.

Die computerunterstützte Ermittlung der Signalintensitäten der Lungenrundherde wurde von in das Magnetom Expert eingewiesenen Mitarbeitern und von einem Radiologen mit fünfjähriger klinischer Erfahrung (Jochen Vollmar) durchgeführt. Dabei wurde mittels entsprechender Software die jeweilige Stelle in der Lunge (Region of Interest - ROI), die den Lungenrundherd umfasste, umrandet. Diese Prozedur wurde für jede der 24 Messungen pro Patient vorgenommen. Größere Lungengefäße in der unmittelbaren Nähe des Lungen-

rundherdes wurden aus dem Messbereich ausgeschlossen. In einem weiteren Arbeitsschritt wurde nun in dieser umrandeten Region die Signalintensität des anflutenden Kontrastmittels gemessen.

Ergänzend wurde noch ein kreisförmiger Referenzmesspunkt von 30mm im selben Lungenlappen gesetzt, um die Kontrastmittelaufnahme des Lungenparenchyms sowie der Lungenkapillaren zu quantifizieren. Alle Messungen wurden ohne Kenntnis der histologischen Diagnose durchgeführt.

Der Anstieg der Signalintensität des jeweiligen Lungenrundherdes in Prozent (SI%) wurde mittels folgender Formel ( $SI\%_t = ((SI_t - SI_{t0}) / SI_{t0}) * 100\%$ ) für jeden einzelnen Messzeitpunkt berechnet.

T=0s wurde als Zeitpunkt vor Sichtbarwerden des Kontrastmittels im Lungenrundherd gesetzt. Die Signalintensitätskurven wurden anschließend automatisch vom Messprogramm ausgegeben.

Aus den Signalintensitätskurven wurden die folgenden kinetischen Parameter ermittelt:

**1. Early peak ( $E_{early}$ ; SI%);** definiert als der höchste Wert der Signalintensität (SI%) in Prozent innerhalb der ersten 30 Sekunden.

**2. Maximum peak ( $E_{max}$ ; SI%);** definiert als der höchste Wert der Signalintensität (SI%) in Prozent während des gesamten Messzeitraumes.

**3.  $E_{mean}$  (SI%);** definiert als der Durchschnittswert der Signalintensität in Prozent (SI%) während der gesamten Messung.

**4. First transit slope (Slope; SI%/s);** stellt die mittlere Anflutungsgeschwindigkeit des Kontrastmittels von t=0s bis zu t=30s ( $E_{early}$ ) dar. Slope wurde mittels folgender Formel errechnet:

$$\text{slope (\%/s)} = \sum (SI\%_t - SI\%_{t-1}) / (t_{early} - t_0).$$

**5. Wash-out-Phase (wash-out; SI%/s);** stellt die Veränderungen der Signalintensität (SI%) in Prozent pro Sekunde (SI%/s) für ein Zeitintervall von t=60s nach  $E_{early}$  dar. Zur Berechnung wurde folgende Formel verwendet:

$$\text{wash-out (\%/s)} = \sum (SI\%_t - SI\%_{t-1}) / (t_{early}+60s - t_{early}).$$

Die Einteilung der Lungenrundherde in die verschiedenen Kurventypen wurde mittels Schwellenwerten realisiert:

- **Kurventyp 1** mit einem raschen Anstieg der Signalintensität (SI%) in den ersten 30 Sekunden sowie anschließendem Abfall nach der ersten, maximalen Kontrastmittelspitze. Einschlusskriterien waren: Slope > 1.5 SI%/s sowie ein wash-out < - 0.1 SI%/s.
- **Kurventyp 2** mit einem raschen Anstieg der Signalintensität (SI%) ohne darauf folgenden Abfall. (Slope > 1.5 SI%/s sowie wash-out  $\geq$  - 0.1 SI%/s).
- **Kurventyp 3** mit einem schwachen Anstieg der Signalintensität (Slope < 1.5 SI%/s).
- **Kurventyp 4** mit keinem signifikanten Anstieg über den gesamten Messzeitraum ( $E_{\text{mean}} < 10\%$  in SI).

Die Einteilung der Lungenrundherde nach morphologischen Gruppen wurde von zwei erfahrenen Radiologen (Dr. Jürgen F. Schäfer, 10 Jahre klinische Erfahrung in Thoraxradiologie; Jochen Vollmar, 5 Jahre klinische Erfahrung in Thoraxradiologie) durchgeführt. Dabei wurden die MRT-Bilder im sogenannten „Moviemode“ (Filmmodus) analysiert. Es wurden fünf verschiedene Arten von Kontrastmittelaufnahmeprofilen klassifiziert:

- 1. Keine Kontrastmittelaufnahme.** Der Lungenrundherd zeigte keine Anzeichen einer Kontrastmittelaufnahme.
- 2. Homogene Kontrastmittelaufnahme.** Der Lungenrundherd zeigte eine gleichmäßig verteilte Aufnahme des Kontrastmittels.
- 3. Inhomogene Kontrastmittelaufnahme.** Der Lungenrundherd nahm das Kontrastmittel eher unregelmäßig verteilt auf.
- 4. „Gefäßcluster“-Typ.** Die Kontrastmittelaufnahme erfolgte an einigen Punkten auffällig stark, sodass sich hier sogenannte „hotspots“ bei der Kontrastmittelaufnahme zeigten.
- 5. Randbetonte Kontrastmittelaufnahme.** Das Kontrastmittel reicherte sich hier fast ausschließlich im Randbereich an.

## **2.3. Immunhistochemische Methoden**

Die immunhistochemischen Analysen wurden in dieser Arbeit mit der Avidin-Biotin-Komplex-Methode realisiert. Es wurde zum einen das Kapillarendothel mittels Antikörpern gegen Faktor VIII immunhistochemisch markiert. Zum anderen wurde die Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) quantifiziert und es wurde Ki-67 in den Zellkernen als Marker der Zellproliferationsrate immunhistochemisch angefärbt.

### **2.3.1. Avidin-Biotin-Komplex-Methode**

Bei der Avidin-Biotin-Komplex-(ABC)-Methode nach Hsu et al. [81] wird die starke Affinität von Avidin für Biotin ausgenutzt, um humane zelluläre Antigene mit entsprechenden Antikörpern von der Maus (monoklonal) bzw. vom Kaninchen (polyklonal) darzustellen. Die Gewebeschnitte wurden zunächst in einer absteigenden Xylol-Alkohol-Tris-Puffer-Reihe entparaffiniert.

Danach wurde vor dem Auftragen der primären Antikörper die Aktivität der endogenen Peroxidase mit einer Wasserstoffperoxid-Methanol-Lösung unterdrückt sowie anschließend eventuell vorhandene unspezifische Bindungsstellen für den sekundären Antikörper mit 1:5 verdünntem Normalserum blockiert. Der sekundäre Antikörper ist an seinem Fc-Teil mit Biotinmolekülen konjugiert. Dieser biotinylierte Sekundärantikörper erkennt den Primärantikörper und bindet an diesen. In einem weiteren Schritt wurde nun ein Komplex aus Avidin und Biotin (ABC-Komplex; Dakopatts, Hamburg, BRD), an dem sich Meerrettichperoxidase befindet, dem Antikörper angeboten.

Der ABC-Komplex lagert sich mit seinen freien Bindungsstellen an den biotinylierten Sekundärantikörper und die Peroxidase kann mit einer Farbreaktion im Präparat sichtbar gemacht werden.

Hierfür wurden die Schnittpräparate kurz mit 3,3 Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB; Sigma GmbH Deisenhofen, BRD) in einer verdünnten Wasserstoffperoxid-Lösung inkubiert. Dabei setzt die Meerrettichperoxidase des

ABC-Komplexes das DAB zu einem braunen Farbstoff um. Zwischen den einzelnen Schritten wurden die Schnitte wiederholt mit Tris-Puffer gespült.

Die anschließende Kernfärbung mit Harris-Hämatoxylin erlaubte eine sichere Identifikation der Kernstrukturen und ermöglichte so die zelluläre Zuordnung der immunhistochemischen Anfärbung. Nach der Dehydrierung der Schnitte in einer aufsteigenden Alkohol-Xylol-Reihe erfolgte die Eindeckung in Eukitt (Kindler, Freiburg, BRD).

### **2.3.2. Verwendete Antikörper**

Die Primärantikörper wurden jeweils in der vom Hersteller empfohlenen bzw. in der Routinediagnostik üblichen Verdünnung eingesetzt. Die angewandten Antikörper, deren Spezifität, deren Klonalität, der verwendete Isotyp sowie die benutzten Verdünnungen sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Bei den monoklonalen Antikörpern gegen Faktor VIII sowie gegen Ki-67 wurde ein Maus-Anti-Mensch-Antikörper (Firma Dako Cytomation A/S, Glostrup, Denmark) verwendet. Bei dem polyklonalen Antikörper gegen Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) wurde ein Kaninchen-Anti-Mensch-Antikörper (Firma Oncogene Research Products, San Diego, Amerika) verwendet. Die Vorbehandlung erfolgte mit Protease (Typ 24, Sigma AG München, Deutschland) für 7 Minuten bei 37°C. Für die negativen Kontrollen wurden die primären Antikörper durch Tris-Puffer (pH 7,6) und durch normales Mäuseserum (Dako, Hamburg) in entsprechender Verdünnung ersetzt.

<b>Anti-körper</b>	<b>Klonalität</b>	<b>Isotyp</b>	<b>Verdünnung</b>	<b>Hauptspezifität</b>	<b>Vorbehandlung</b>
<b>Faktor VIII</b>	monoklonal	IgG1, Kappa	1:100	Faktor VIII(Von Willebrand Faktor) in Endothelzellen	Protease
<b>Ki-67</b>	monoklonal	IgG1, Kappa	1:200	Ki-67(nukleäres Antigen)	Protease
<b>VEGF</b>	polyklonal	-	1:20	Heparin-bindendes Zytokin, exprimiert von Tumorzellen	Protease

**Tabelle 3: Antikörper, die bei der immunhistochemischen Färbung verwendet wurden.**

## **2.4. Histologische Analyse der Lungenrundherde**

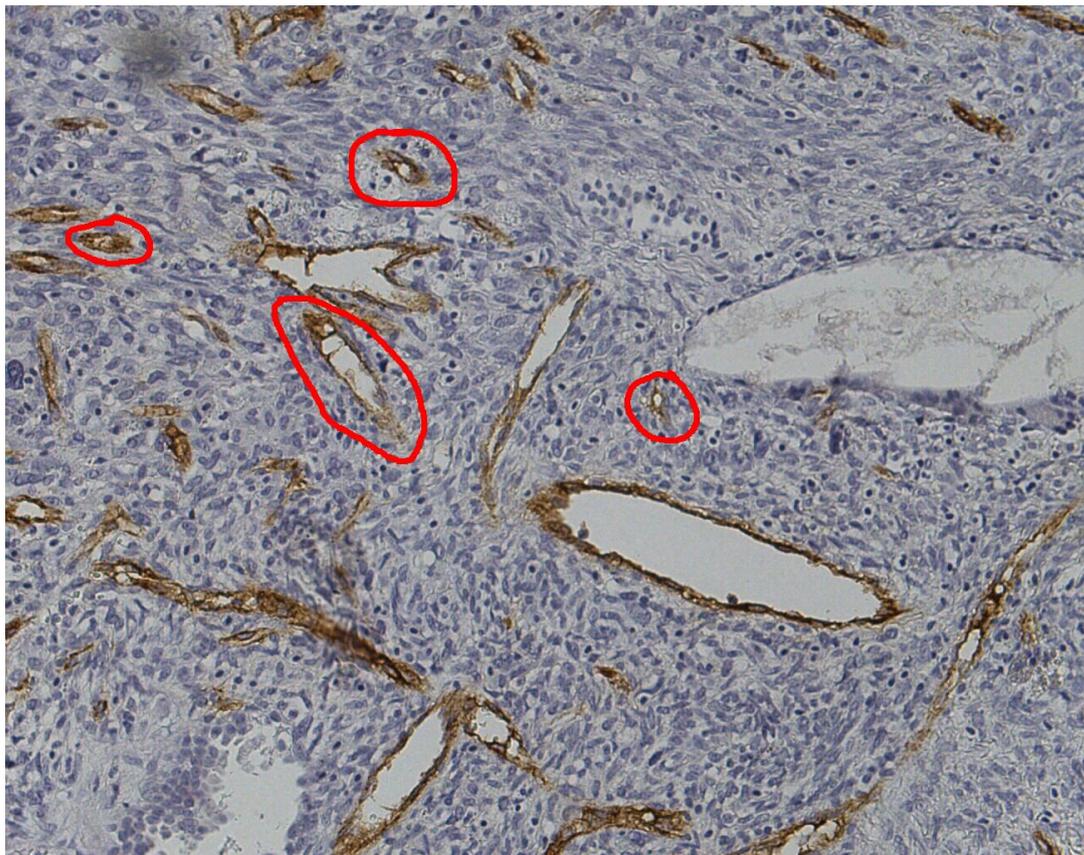
### **2.4.1. Bestimmung der histologischen Kapillarmorphologie der einzelnen Lungenrundherde**

Die Lungenrundherde wurden in Anlehnung an zwei Arbeiten von Buadu et al. [46, 50] aufgrund der Kapillarverteilung in vier Kategorien (homogen, inhomogen, Gefäßcluster, randbetont) eingeteilt. Die Gruppen wurden dabei so ausgewählt, dass sie später besser mit den MRT-Daten verglichen werden konnten. Dazu wurden die histologischen Schnitte (nur Präparate mit Färbung gegen Faktor VIII-Antigen) sorgfältig unter 50facher und 100facher Vergrößerung betrachtet und danach den einzelnen Kategorien zugeteilt.

Als homogen wurden Tumoren bezeichnet, bei denen die Kapillaren über den ganzen Tumor gleichmäßig verteilt waren. Bei Tumoren vom inhomogenen Typ waren an einzelnen Stellen des Tumors mehr Kapillaren oder sogenannte Kapillarinseln zu sehen. Tumoren, bei denen die Kapillaren auf einzelne Stellen des Tumors beschränkt waren und an anderer Stelle so gut wie keine Kapillaren auftraten, wurden in die Kategorie „Gefäßcluster“ eingeteilt. Tumoren, die praktisch nur am Rand (peripher) Kapillaren und im Zentrum nur sehr wenige oder gar keine Kapillaren aufwiesen, wurden in die Kategorie der randbetonten Rundherde eingeteilt.

#### **2.4.2. Quantitative Bestimmung der Kapillardichte mittels lichtmikroskopischer Kapillarzählung**

Um die Kapillardichte des jeweiligen Lungenrundherdes zu bestimmen, wurde die Anzahl der Kapillaren pro Sichtfeld lichtmikroskopisch ausgezählt. Diese Methode stellt den Goldstandard zur Quantifizierung dar [49, 53, 61, 63, 82]. Zuerst wurden die Lungenrundherde mit niedriger Vergrößerung abgesucht, um die Stellen mit der höchsten Kapillardichte am Rand sowie im Zentrum zu finden. Beim Auswählen der Zählfelder wurde darauf geachtet, dass sich diese im jeweiligen zu untersuchenden benignen Rundherd oder malignen Tumor befanden, um nicht die Kapillardichte in gesundem Lungengewebe auszuzählen. Das gesunde Lungengewebe um den Lungenrundherd herum diente aber als Kontrolle zu Beurteilung der Qualität der immunhistochemischen Färbung.



**Abbildung 3: Schnitt durch Tumorgewebe eines Ewing-Sarkoms (200fache Vergrößerung) mit markierten Kapillaren (rot umrandet).**

Danach wurden die mittels Antikörpern gegen Faktor VIII gefärbten Kapillaren mit 200facher Vergrößerung (entspricht einem Zählfeld von 0,74 mm<sup>2</sup>) mit Hilfe eines Leitz SM-Lux-Mikroskopes in 6 Messfeldern ausgezählt. Es wurden jeweils 3 Stellen am Rand sowie im Zentrum ausgezählt und deren Durchschnittswert gebildet [50].

Als einzelne, auszählbare Kapillare wurde jede braun gefärbte Endothel-Zelle oder jeder Endothel-Zell-Cluster angesehen. Ein eindeutig erkennbares Kapillarlumen oder das Vorhandensein von roten Blutkörperchen im Kapillarlumen wurden dabei nicht vorausgesetzt (siehe dazu auch Abbildung 3).

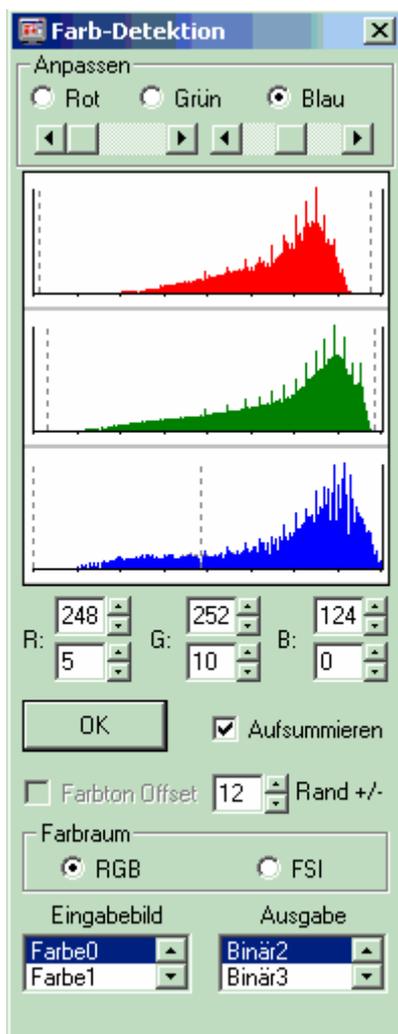
Fragmente von Endothel-Zellen oder Färbeartefakte wurden nicht mitgezählt. Um beim Zählen die Übersicht zu bewahren, wurde ein in das Zählfeld eingeblendetes Raster verwendet. Die folgenden histologischen Parameter wurden ermittelt:

<b>Histologische Parameter</b>	<b>Definition</b>
<b>MVD (Microvessel Density) Margin</b>	Durchschnittliche Kapillaranzahl am Rand des jeweiligen Lungenrundherdes pro mikroskopischem Sichtfeld von 0,74 mm <sup>2</sup> .
<b>MVD (Microvessel Density) Center</b>	Durchschnittliche Kapillaranzahl im Zentrum des jeweiligen Lungenrundherdes pro mikroskopischem Sichtfeld von 0,74 mm <sup>2</sup> .
<b>MVD (Microvessel Density) Mean</b>	Durchschnittswert der Kapillaranzahl des jeweiligen Lungenrundherdes. MVD Mean = ((MVD Margin + MVD Center)/2).
<b>MVD (Microvessel Density) Max</b>	Maximalwert der Kapillaranzahl des jeweiligen Lungenrundherdes. MVD Max=Höchste MVD in MVD Margin oder MVD Center.

**Tabelle 4: Ermittelte Parameter der histologischen Kapillardichte.**

### 2.4.3. Quantitative Bestimmung der mittels Faktor-VIII-Antikörpern immunhistochemisch angefärbten Fläche

Die immunhistochemisch gefärbte Fläche (eingefärbte Pixel pro Bildausschnitt) der jeweiligen Schnitte wurde mittels computerunterstützter Bildanalyse ermittelt. Die Auswertung wurde hierbei in Anlehnung an die Arbeiten von Fox et al. [63], Pavlopoulos et al. [83] sowie weiteren Studien [84, 85] vorgenommen. Ziel war, wie in diesen Arbeiten auch, die Ermittlung der immunhistochemisch



angefärbten Fläche pro Gesamtmessfläche in %. Für diese Arbeit wurde dazu das Bildverarbeitungssystem Quantimed q550 IW (Leica Microsystems Imaging Solutions Ltd), bestehend aus der Bildanalysesoftware QWinStandard V2.7.1 unter Windows 2000, sowie dem Leica DM RBE Mikroskop verwendet. Zur Aufnahme der Mikroskopbilder wurde eine 3CCD-Farb-Videokamera (DC300F) von Leica verwendet, die für die Digitalisierung des lichtmikroskopischen Bildes zu Bildpunkten (Pixeln) zuständig war. Der Ablauf war wie folgt: Zuerst wurden, wie bei der Kapillarzählung auch, bei dem jeweiligen histologischen Lungenpräparat die drei Areale am Rand und im Zentrum des Tumors mit der stärksten Vaskularisierung aufgesucht. Dazu wurde das Präparat mit niedriger Vergrößerung betrachtet, um diese zu finden.

**Abbildung 4: Farb-Detektionsfeld der Leica QWin-Software.**

Wiederum wurden die mittels Faktor VIII-Antigen immunhistochemisch gefärbten Präparate verwendet. Es wurden aus technischen Gründen neue Messareale festgelegt und nicht dieselben wie bei der lichtmikroskopischen Kapillarzählung verwendet.

Bei der Messung dieser 6 ausgewählten Areale wurde ebenfalls darauf geachtet, dass sich die Areale in Tumorgewebe und nicht in gesundem Lungengewebe befanden. Zur optimalen Aufbereitung des Ausgangsbildes für die Bildverarbeitungssoftware musste eine manuelle Einstellung der Belichtungszeit ( $t=26,9\text{ms}$ ) sowie der Blende (1,3x) erfolgen. Diese Einstellungen wurden für alle Präparate beibehalten. Anschließend wurde der für die Messung vorgesehene Bildausschnitt zwischengespeichert, um ein Verschieben des Messfeldes während der Analyse auszuschließen. Die Messung erfolgte bei 100-facher Vergrößerung.

Für die Messung wurde eine sogenannte QUIPS-Routine (Quantimed Interactive Programming System) ausgeführt, mit welcher es möglich war, den Messvorgang zu automatisieren. Diese Software-Routinen wurden bereits von der Firma Leica mitgeliefert, mussten allerdings noch in einigen wenigen Punkten an die Anforderungen dieser Studie angepasst werden.

Vor Beginn der Messung musste die Farbschwelle zur Erkennung des Kapillarendothels für jedes Präparat einzeln justiert werden (siehe Abbildung 4). Mit Hilfe der Regler für Rot, Grün und Blau (RGB-Farbspektrum) wurde für jedes Präparat der Farbschwellenwert eingestellt, welcher nur die immunhistochemisch braun markierte Fläche mit einschloss (siehe dazu Abbildung 5). Dies musste für jeden Schnitt einzeln erfolgen, da die Reaktion des Gewebes mit den Anti-Faktor-VIII-Antikörpern bei jedem Präparat in ihrer Farbstärke verschieden stark ausfiel.

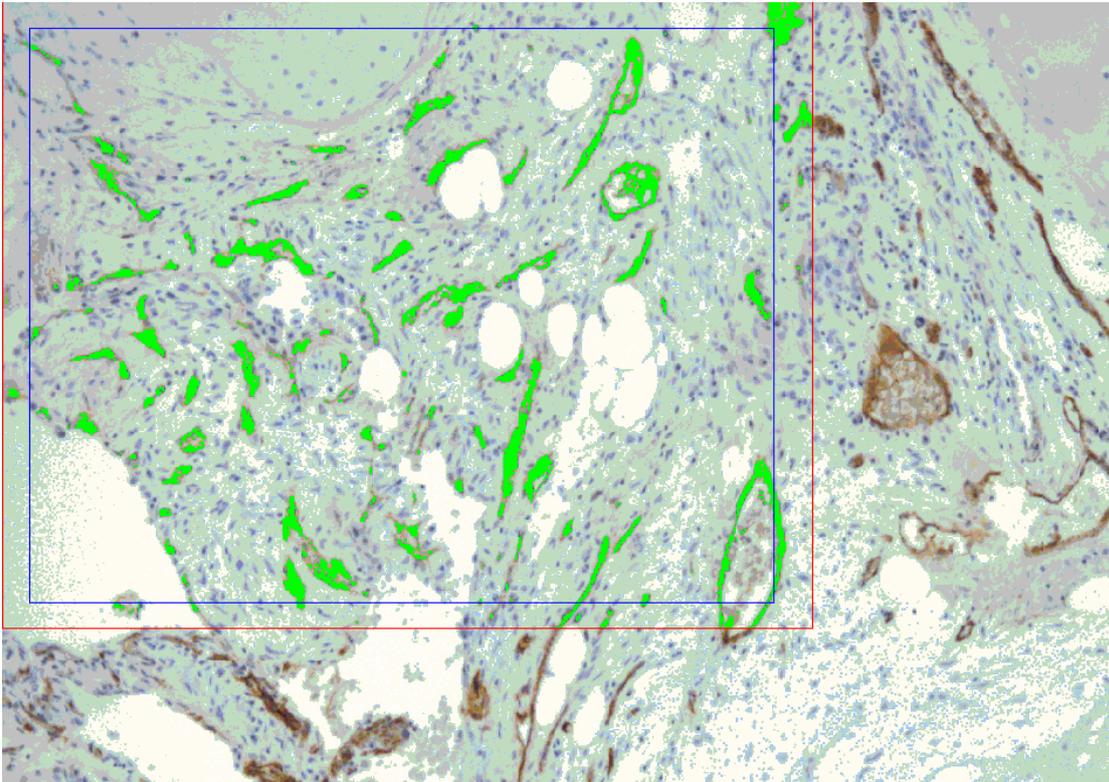
Um den roten Kalibrierungsrahmen sieht man auf Abbildung 5 als direkten Vergleich unmarkierte, immunhistochemisch gefärbte Blutkapillaren. Falls andere Strukturen wie Verschmutzungen oder Färbeartefakte im Messfeld eingeschlossen und markiert waren, wurden diese mit Hilfe eines Radiertools entfernt. Diese Stellen flossen dann nicht in die Messung mit ein.

Der eingestellte Farbschwellenwert wurde für das jeweilige Präparat für die 6 Messungen beibehalten. Die gemessene Fläche der jeweiligen 6 Messfelder entsprach dem blauen Messrahmen (Fläche 0,4 mm<sup>2</sup>), wie auf Abbildung 5 zu sehen. Alle Messungen wurden zunächst in Pixeln ausgeführt und anschließend über die Kalibrierung in physikalische Einheiten umgewandelt. Ein markierter Farbpixel entsprach hierbei einer Fläche von 1,06 x 1,06 µm. Für jedes Messfeld wurde dann von der Software der Prozentsatz der angefärbten Fläche in Bezug auf die Gesamtmessfläche errechnet und anschließend ausgegeben. Nach drei Messungen wurde zusätzlich noch automatisch der Durchschnittswert berechnet.

Folgende histologische Parameter wurden ermittelt:

<b>Histologische Parameter</b>	<b>Definition</b>
<b>ISS% (Immunostained Surface) Margin</b>	Immunhistochemisch gefärbte Fläche am Rand in Prozent (%) der Messfläche von 0,4 mm <sup>2</sup> .
<b>ISS% (Immunostained Surface) Center</b>	Immunhistochemisch gefärbte Fläche im Zentrum in % der Messfläche von 0,4 mm <sup>2</sup> .
<b>ISS% (Immunostained Surface) Mean</b>	Durchschnittswert der immunhistochemisch gefärbten Fläche in %. ISS% Mean = ((ISS% Margin + ISS% Center)/2)
<b>ISS% (Immunostained Surface) Max</b>	Maximalwert der immunhistochemisch gefärbten Fläche in %. ISS% Max= Höchste ISS% aus ISS% Margin oder ISS% Center.

**Tabelle 5: Ermittelte Parameter der immunhistochemisch angefärbten Fläche.**



**Abbildung 5: Detektierte, immunhistochemisch angefärbte Fläche (neongrün markiert) am Beispiel eines Adenokarzinoms.**

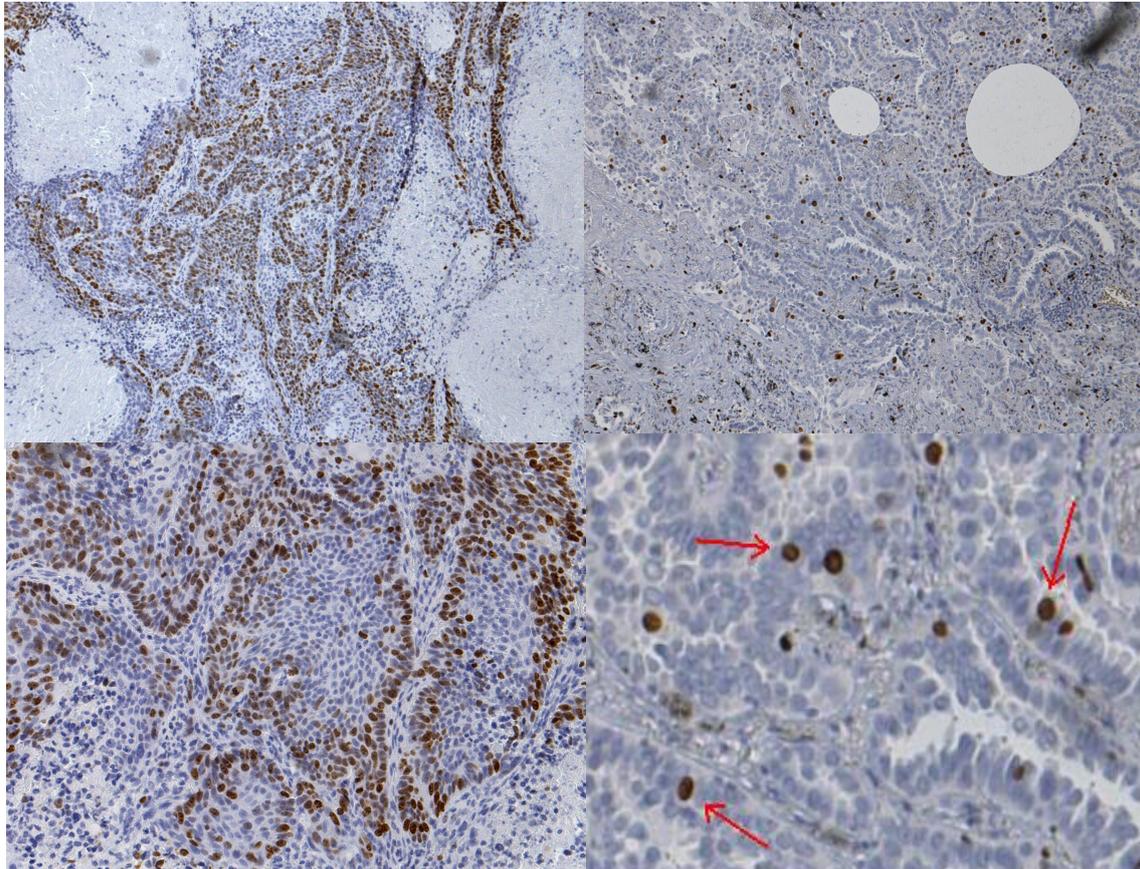
#### **2.4.4. Quantitative Bestimmung der Zellproliferationsrate mittels des immunhistochemischen Markers Ki-67**

Das Ki-67-Antigen ist ein Zellzyklus- und Tumorstadiumsmarker, welcher durch immunhistochemische Methoden spezifisch erfasst werden kann [66]. Um die Aktivität von Ki-67 in den einzelnen Lungenrundherden zu bestimmen, wurden die histologischen Schnitte zuerst mit niedriger Auflösung nach der Stelle im Tumorgewebe mit der höchsten Zellteilungsrate abgesucht.

Zellen mit braun gefärbtem Zellkern wurden dabei definitionsgemäß als gerade in der Zellteilung befindlich erachtet. Der Zellteilungsindex wurde errechnet, indem 500 Tumorzellkerne ausgezählt wurden und von diesen der Anteil der sich gerade teilenden Zellen (Zellkerne mit Reaktion auf die immunhistochemi-

sche Färbung) in Prozent bestimmt wurde. Auch Zellkerne mit nur schwacher Reaktion auf die Färbung wurden als positiv betrachtet.

Die Tumorzellen wurden bei 200facher Vergrößerung unter Zuhilfenahme eines Zählrasters ausgezählt (siehe Abbildung 6) [69, 70, 86, 87].



**Abbildung 6: Ausschnitt eines Ki-67 gefärbten primären Plattenepithelkarzinoms der Lunge eines 78jährigen Patienten (100fache Vergrößerung links oben, 200fache Vergrößerung links unten), sowie ein Ausschnitt eines Ki-67 gefärbten primären Adenokarzinoms der Lunge einer 66jährigen Patientin (100fache Vergrößerung rechts oben, Ausschnittvergrößerung (400x) rechts unten mit Markierung Ki-67 positiver Zellkerne).**

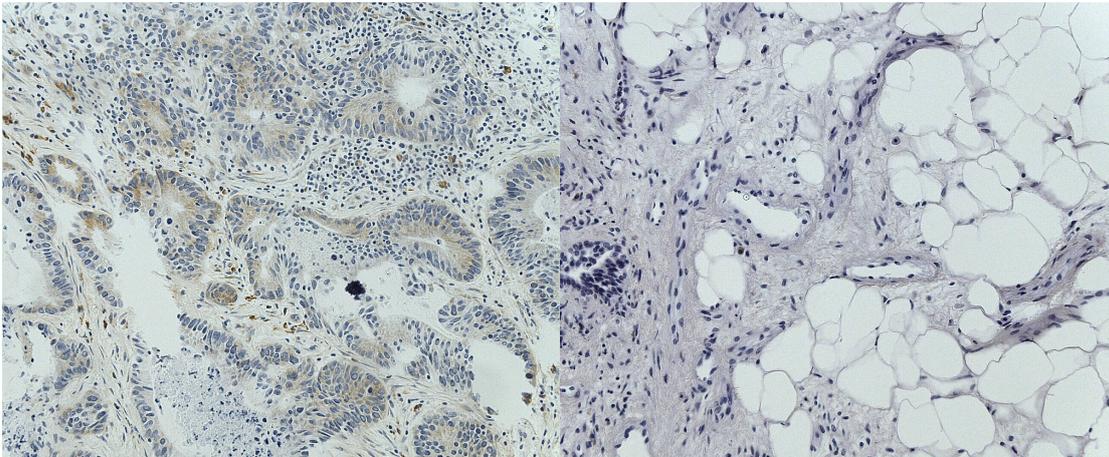
### 2.4.5. Bestimmung der Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) der einzelnen Lungenrundherde

Die immunhistochemische Expression von VEGF wurde nach dem Punktesystem von Mattern et al. [88] und Tateishi et al. [25] bestimmt. Es flossen hierbei sowohl die Färbeintensität (0=negativ, 1=schwach, 2=mittel, 3=stark) als auch der Prozentsatz VEGF-positiver Zellen (0=0% pos. Zellen, 1=<25% pos. Zellen, 2=26-50% pos. Zellen, 3=>50% pos. Zellen) in die Ermittlung des Ergebnisses mit ein (siehe dazu auch Tabelle 6). Die Summe aus Färbeintensität und Prozentsatz VEGF-positiver Zellen erreichte somit eine maximale Punktzahl von 6.

<b>Ermittlung der Expression von VEGF</b>					
<b>Punkte</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	
<b>Färbeintensität</b>	keine Färbung	schwache Färbung	mittlere Färbung	starke Färbung	<b>N1</b>
<b>Prozentsatz VEGF-positiver Zellen</b>	0% pos. Zellen	< 25% pos. Zellen	26-50% pos. Zellen	>50% pos. Zellen	<b>N2</b>
<b>Gesamtpunktzahl</b>					<b>NGesamt= N1+N2</b>

**Tabelle 6: Ermittlung der Expression von VEGF.**

Bei einer Punktzahl >3 wurde der Lungenrundherd definitionsgemäß als VEGF-positiv klassifiziert, während Lungenrundherde mit einer Punktzahl <=3 als VEGF-negativ klassifiziert wurden. In Abbildung 7 sind zur Veranschaulichung die mikroskopischen Aufnahmen eines Adenokarzinoms sowie eines Hamartochondroms dargestellt.



**Abbildung 7: Beispiele für VEGF-Expression bei der Metastase eines Adenokarzinoms (linkes Bild, 200fache Vergrößerung, VEGF-positiver Befund mit einem Punktwert von 4) sowie bei einem Hamartochondrom (rechte Abbildung, 200fache Vergrößerung, VEGF-negativer Befund mit einem Punktwert von 0).**

## **2.5. Aufstellung des Entscheidungsbaumes**

Aus den Ergebnissen der Analyse der Signalintensitätskurven sowie der Morphologie der Kontrastmittelaufnahme und der Kapillarverteilung wurde ein Entscheidungsbaum erstellt (siehe Abbildung 19) [51]. Es sollte untersucht werden, ob bereits damit eine genaue Zuordnung zu benignen oder malignen Befunden möglich war. Auch sollte untersucht werden, ob die histologische Kapillarverteilung Zusammenhänge mit der morphologischen Einteilung der Kontrastmittelaufnahme zeigt.

Lungenrundherde vom Kurventyp 2 und 3 wurden genauer betrachtet. Die Befunde aus Kurventyp 2 und 3 wurden zur Vereinfachung und in Anlehnung an die Studie von Schaefer et al. [51] in drei Gruppen (unspezifische KM-Verteilung, randbetonte KM-Verteilung und KM-Verteilung vom „Gefäßcluster“-Typ) eingeteilt. Die Gruppe der unspezifischen Kontrastmittelverteilung entsprach dabei den homogenen und inhomogen aufnehmenden Rundherden sowie den Befunden ohne Kontrastmittelaufnahme.

Aufbauend auf der Studie von Schaefer et al. [51] wurden Lungenrundherde vom Kurventyp 2 mit unspezifischer Kontrastmittelaufnahme und Aufnahme vom „Gefäßcluster“-Typ als maligne klassifiziert. Lungenrundherde mit randbetonter Kontrastmittelaufnahme wurden als benigne klassifiziert. Bei Kurventyp 3 wurden Befunde mit unspezifischer und randbetonter KM-Aufnahme als benigne klassifiziert, während welche mit Aufnahme vom „Gefäßcluster“-Typ als maligne angesehen wurden. Zusätzlich wurde die Übereinstimmung der MRT-Morphologie mit der histologischen Kapillarmorphologie angegeben.

Zur Veranschaulichung der Unterschiede bei der Kapillaranzahl zwischen den vier Kurventypen wurde am Anfang des Entscheidungsbaumes die mittlere Kapillardichte ( $MVD_{\text{Mean}}$ ) vorangestellt.

## **2.6. Statistische Methoden**

Die statistische Auswertung wurde mittels des Programms JMP Version 4.0.4 (SAS Institute Inc., USA, 2001) durchgeführt.

Für die Ergebnisse der MRT-Parameter ( $E_{\text{early}}$ ,  $E_{\text{max}}$ , Slope, wash-out und  $E_{\text{mean}}$ ) sowie der histologischen Parameter (MVD, ISS%, Ki-67 und VEGF) wurden jeweils der Median und die Interquartilsspanne IQS (25-75%) berechnet [89]. Um signifikante Unterschiede zwischen den benignen und malignen Lungenrundherden zu klassifizieren, wurde der Wilcoxon-Test verwendet. Ein deskriptiver p-Wert  $<0,05$  wurde hierbei als signifikant erachtet.

Die Zusammenhänge zwischen der morphologischen Kontrastmittelverteilung und der morphologischen Kapillarverteilung wurden mittels Kontingenztafeln berechnet. Die Sensibilität, Spezifität und Zielgenauigkeit wurden mit Hilfe der 4 Kurventypen sowie der morphologischen Klassifizierung berechnet. Die Zusammenhänge zwischen den MRT-Parametern und den histologischen Ergebnissen sowie der Zusammenhang zwischen der Kapillardichte und der immunhistochemisch angefärbten Fläche wurden mittels Multivarianzanalyse unter Zuhilfenahme des Spearmanschen Rangkorrelationskoeffizienten  $r_S$  berechnet. Der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient  $r_S$  errechnet sich als:

$$r_S = 1 - \frac{6 \sum D_i^2}{n^3 - n}$$

wobei  $n$  die Anzahl der Wertpaare und  $D_i$  die Rangdifferenz des einzelnen Wertepaares ist. Fallen zwei oder mehrere Werte auf denselben Rangplatz, werden mittlere Ränge zugeordnet.

Bei einem  $r_S$ -Wert  $>0,6$  wurde ein relevanter Zusammenhang zwischen den jeweiligen Parametern angenommen. Zusätzlich wurde der p-Wert berechnet, wobei wiederum ein deskriptiver p-Wert  $<0,05$  als signifikant erachtet wurde.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. MRT-Parameter**

##### **3.1.1. Intensität der Kontrastmittelaufnahme sowie Kontrastmittelanflutungsgeschwindigkeit und wash-out**

Die Ergebnisse der MRT-Parameter sind in den Tabellen 7, 8 und 28 aufgelistet. Tabelle 7 beinhaltet die Medianwerte der gesamten MRT-Parameter und Tabelle 8 die Ergebnisse, gruppiert nach benignen und malignen Befunden.

<b>Eearly (SI%)</b>	
Median	<b>82</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>30-122</b>
<b>E<sub>max</sub> (SI%)</b>	
Median	<b>106,06</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>66,67-130,43</b>
<b>E<sub>mean</sub> (SI%)</b>	
Median	<b>75,4</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>41,9-101,4</b>
<b>Slope (SI%/s)</b>	
Median	<b>27,3</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>9,9-44</b>
<b>wash-out (%/s)</b>	
Median	<b>0,44</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>-2,54+2,78</b>

**Tabelle 7: Medianwerte der magnetresonanztomographischen Analyse.**

Die Medianwerte von  $E_{\text{early}}$ ,  $E_{\text{max}}$  sowie bei  $E_{\text{mean}}$  waren bei den malignen Lungenrundherden signifikant größer als bei den benignen Rundherden (Wilcoxon-Test,  $p < 0,0001$ ). Auch bei der Kontrastmittelanflutungsgeschwindigkeit wurden bei malignen Befunden höhere Werte gemessen (Wilcoxon-Test;  $p < 0,0001$ ). Beim wash-out fanden sich bei malignen Tumoren signifikant niedrigere Werte als bei benignen Befunden (Wilcoxon-Test,  $p < 0,0020$ ).

MRT-Parameter	Benigne Lungenrundherde	Maligne Lungenrundherde
<b>Eearly (SI%)</b>		
Median	25	117
Interquartilsspanne (25-75%)	6,8-58	82-133
Wilcoxon-Test		p<0,0001
<b>Emax (SI%)</b>		
Median	53,02	121,84
Interquartilsspanne (25-75%)	27,13-81,82	106,06-144
Wilcoxon-Test		p<0,0001
<b>Emean (SI%)</b>		
Median	34,7	91,26
Interquartilsspanne (25-75%)	12,7-59,7	75,38-110,54
Wilcoxon-Test		p<0,0001
<b>Slope (SI%/s)</b>		
Median	8,29	40,61
Interquartilsspanne (25-75%)	2,91-16,88	27,27-53,79
Wilcoxon-Test		p<0,0001
<b>wash-out (%/s)</b>		
Median	1,81	-1,98
Interquartilsspanne (25-75%)	0,45-4,59	-5,3-+1,52
Wilcoxon-Test		p=0,0020

Tabelle 8: Ergebnisse der MRT-Untersuchungen, gruppiert in benigne und maligne Lungenrundherde.

### 3.1.2. Analyse der Signalintensitätskurven der Kontrastmittelaufnahme

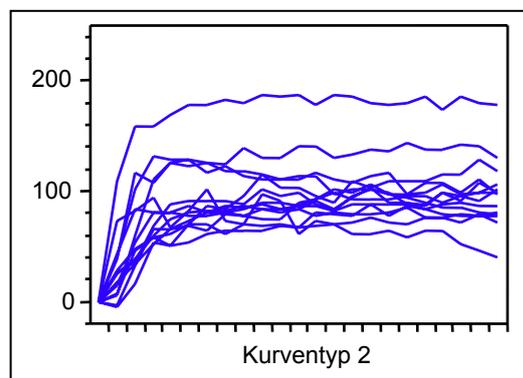
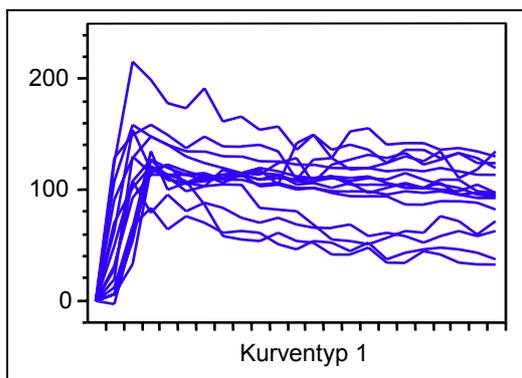
In den Abbildungen 8a-d sind die verschiedenen Typen der Signalintensitätskurven grafisch dargestellt. Diese stellen die Intensität der Kontrastmittelaufnahme der Lungenrundherde über den Zeitverlauf von t=250s dar. Es wurden 4 verschiedene Profile (Kurvtypen) der Kontrastmittelaufnahme gefunden. In den Diagrammen sind die Ergebnisse der Lungenrundherde aus der jeweiligen Gruppe zusammengefasst.

Kurvtyp 1 war durch einen schnellen Anstieg der Kontrastmittelaufnahme mit anschließendem, leichtem Abfall nach 30s gekennzeichnet. Dieser Kurvtyp wurde nur in 13 malignen Lungenrundherden gefunden.

Kurventyp 2 zeigte keinen Abfall der Signalintensität nach 30s, sondern einen leichten Anstieg der Kontrastmittelaufnahme. Dieser Kurventyp wurde bei 10 malignen sowie bei 4 benignen Lungenrundherden gefunden.

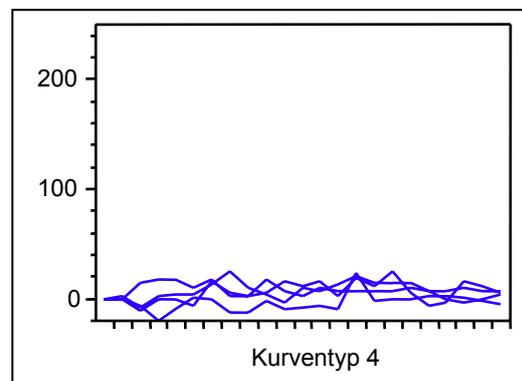
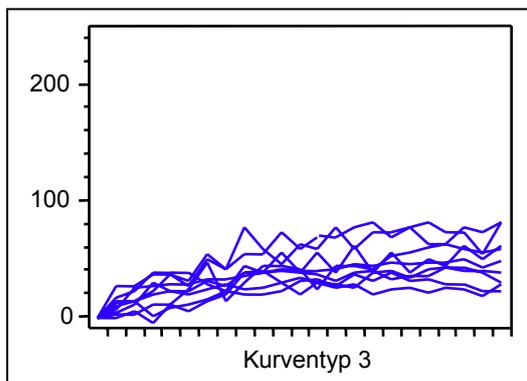
Kurventyp 3 zeigte eine langsame, kontinuierliche Kontrastmittelaufnahme und wurde bei 8 benignen Lungenrundherden gefunden.

Kurventyp 4 zeigte keine signifikante Kontrastmittelaufnahme und wurde bei 4 benignen Rundherden gefunden.



a

b



c

d

**Abbildungen 8a-d: Aufgrund des Kontrastmittelaufnahmeprofils ermittelte Kurventypen. Darstellung von Signalintensitätskurven der Kontrastmittelaufnahme des jeweiligen Kurventyps. Die vertikale Achse steht für die Intensitätsänderung der Kontrastmittelaufnahme, während die horizontale Achse für die Zeit (t=0-250s) steht.**

### **3.1.3. Morphologische Analyse der MRT-Daten**

Lungenrundherde mit Gefäßcluster-Morphologie wurden am häufigsten gefunden (13 von 39 Fälle). Lungenrundherde mit inhomogener Kontrastmittelaufnahme wurden in 10 Fällen und Lungenrundherde mit homogener Aufnahme in 8 Fällen gefunden. Keine oder eine randbetonte KM-Aufnahme zeigte sich bei 4 Lungenrundherden.

Maligne Lungenrundherde zeigten im MRT am häufigsten ein Kontrastmittelaufnahme-Profil vom „Gefäßcluster“-Typ (11 Fälle). Dieses Aufnahmeprofil wurde nur bei 2 benignen Rundherden gefunden. Zu keiner Kontrastmittelaufnahme oder zu einer ausschließlich randbetonten Aufnahme kam es nur bei 4 benignen Läsionen. Eine homogene Aufnahme fand sich in 5 malignen und 3 benignen Lungenrundherden. Eine inhomogene Aufnahme in 7 malignen und 3 benignen Rundherden. Die Kontrastmittelverteilungsprofile sind, nach histologischen Diagnosen geordnet, in Tabelle 9 aufgelistet.

Lungenrundherde vom Kurventyp 1 zeigten in 7 von 13 Fällen eine Verteilung vom Gefäßcluster-Typ. In jeweils 3 Fällen eine homogene und inhomogene Verteilung.

Lungenrundherde vom Kurventyp 2 zeigten dagegen ein uneinheitliches Bild (4xGefäßcluster-Typ, 2xrandbetonte KM-Aufnahme, 3xhomogene und 5xinhomogene Aufnahme).

Bei Lungenrundherden vom Kurventyp 3 fanden sich bei jeweils 2 Läsionen eine Verteilung vom Gefäßcluster-, randbetonten, homogenen und inhomogenen Typ.

Kurventyp 4 war bei 4 Läsionen im MRT zu finden. Diese nahmen allesamt kein Kontrastmittel auf.

	Profil der Kontrastmittelaufnahme im MRT				
	Gefäß-cluster	Keine Aufnahme	randbetont	homogen	inhomogen
<b>Maligne Läsionen</b>					
Adenokarzinom	<b>6</b>	0	0	<b>2</b>	<b>1</b>
Plattenepithelkarzinom	<b>1</b>	0	0	<b>2</b>	<b>2</b>
Metastase (Adenokarzinom)	<b>4</b>	0	0	<b>1</b>	0
Metastase (Plattenepithelkarz.)	0	0	0	0	<b>2</b>
Metastase (Ewing-Sarkom)	0	0	0	0	<b>1</b>
Karzinoid	0	0	0	0	<b>1</b>
<b>Benigne Läsionen</b>					
Hamartochondrom	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	0	<b>2</b>
entzündlich	0	0	0	<b>2</b>	<b>1</b>
Tuberkulom	0	<b>1</b>	0	0	0
Lymphknoten	0	0	0	<b>1</b>	0

Tabelle 9: Ergebnisse der morphologischen Analyse der MRT-Bilder, gruppiert nach histologischen Diagnosen der Lungenrundherde.

## 3.2. Histologische Analyse

### 3.2.1. Histologische Diagnosen der Lungenrundherde

Die histologischen Diagnosen und deren Verteilung sind in Abbildung 9 dargestellt. Von den 39 untersuchten Lungenrundherden wurden 16 als benigne und 23 als maligne klassifiziert. Hamartochondrome waren mit einer Gesamtzahl von 11 (28%) Lungenrundherden am häufigsten vertreten. Danach folgten die primären Adenokarzinome der Lunge mit 9 (23%) Lungenrundherden. Die primären Plattenepithelkarzinome der Lunge sowie die Metastasen der Adenokarzinome waren jeweils 5mal (13%) vertreten.

Des Weiteren waren 3 (8%) entzündlich bedingte Läsionen, 2 (5%) Metastasen von Plattenepithelkarzinomen, 1 (3%) Lymphknoten, 1 (3%) Tuberkulom, eine (3%) Metastase eines Ewing-Sarkoms sowie 1 (3%) Karzinoid als histologische Diagnose vertreten. Die Zahlen in Klammern geben den Anteil in Prozent an der gesamten Untersuchungsgruppe von 39 Patienten (100%) an.

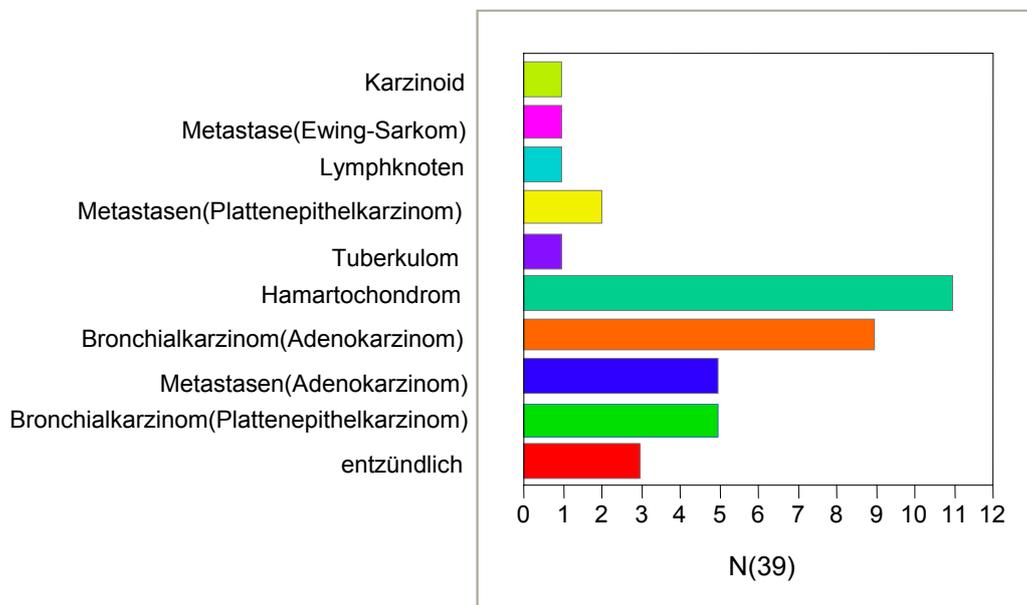


Abbildung 9: Referenzdiagnosen der Lungenrundherde.

In Tabelle 10 sind die histologischen Diagnosen nach den 4 ermittelten Kurventypen gruppiert. Zu sehen ist, dass maligne Lungenrundherde (z.B. Adenokarzinome, Plattenepithelkarzinome und Metastasen) nur bei Kurventyp 1 und 2 vertreten waren. Bis auf 3 Hamartochondrome und 1 Lymphknoten mit Kurventyp 2 waren benigne Lungenrundherde nur bei Kurventyp 3 und 4 zu finden.

Kurventyp 1 wurde bei insgesamt 13 malignen Tumoren gefunden. Bei Kurventyp 2 zeigte sich eine gewisse Überlappung zwischen malignen (n=10) und benignen (n=4) Rundherden. Kurventyp 3 wurde bei 8 und Kurventyp 4 bei 4 benignen Läsionen gefunden.

	Kurventyp 1	Kurventyp 2	Kurventyp 3	Kurventyp 4
<b>Maligne Läsionen</b>				
<b>Adenokarzinom</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	0	0
<b>Plattenepithelkarzinom</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	0	0
<b>Metastase (Adenokarzinom)</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	0	0
<b>Metastase (Plattenepithelkarzinom)</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	0	0
<b>Metastase (Ewing-Sarkom)</b>	0	<b>1</b>	0	0
<b>Karzinoid</b>	<b>1</b>	0	0	0
<b>Benigne Läsionen</b>				
<b>Hamartochondrom</b>	0	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>3</b>
<b>entzündlich</b>	0	0	<b>3</b>	0
<b>Lymphknoten</b>	0	<b>1</b>	0	0
<b>Tuberkulom</b>	0	0	0	<b>1</b>

Tabelle 10: Histologische Diagnosen der Rundherde, gruppiert nach Kurventypen.

### 3.2.2. Bestimmung der Kapillardichte

In den Tabellen 11, 12 und 28 sind die Ergebnisse der Analyse aufgelistet. Tabelle 11 zeigt die Medianwerte der gesamten Parameter. In Tabelle 12 sind die Ergebnisse, gruppiert nach benignen und malignen Befunden, dargestellt.

<b>MVD Margin (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>	
Median	<b>30</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>24-38</b>
<b>MVD Center (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>	
Median	<b>20</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>13-32</b>
<b>MVD Mean (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>	
Median	<b>26,5</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>20-34,5</b>
<b>MVD Max (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>	
Median	<b>35</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>27-44</b>

**Tabelle 11: Medianwerte der Parameter der Kapillardichte.**

Die Kapillardichte am Rand ( $MVD_{\text{Margin}}$ ) unterschied sich zwischen den benignen (Median: 27 MV/0,74mm<sup>2</sup>) und malignen (Median: 31 MV/0,74mm<sup>2</sup>) Lungenrundherden nicht signifikant voneinander (Wilcoxon-Test; p=0,34). Dagegen unterschied sich die Kapillardichte im Zentrum ( $MVD_{\text{Center}}$ ) signifikant (Wilcoxon-Test; p=0,001). Es wurden 14 Mikrokapillaren bei den benignen und 27 Mikrokapillaren bei den malignen Lungenrundherden ausgezählt. Der Median der maximalen Kapillardichte ( $MVD_{\text{Max}}$ ) lag bei den benignen (Median: 29,5 MV/0,74mm<sup>2</sup>) Lungenrundherden ebenfalls signifikant (Wilcoxon-Test; p=0,05) niedriger als bei den malignen (Median: 38 MV/0,74mm<sup>2</sup>). Bei der durchschnittlichen Kapillardichte ( $MVD_{\text{Mean}}$ ) waren ebenfalls signifikante Unterschiede zu finden (Wilcoxon-Test; p=0,005).

Histologische Parameter	Benigne Lungenrundherde	Maligne Lungenrundherde
<b>MVD Margin (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>		
Median	27	31
Interquartilsspanne (25-75%)	22,75-36,5	24-40
Wilcoxon-Test		p=0,34
<b>MVD Center (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>		
Median	14	27
Interquartilsspanne (25-75%)	8,25-18	16-42
Wilcoxon-Test		p=0,001
<b>MVD Mean (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>		
Median	21,25	33
Interquartilsspanne (25-75%)	16,75-21,18	25,5-38
Wilcoxon-Test		p=0,005
<b>MVD Max (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>		
Median	29,5	38
Interquartilsspanne (25-75%)	25-37	30-49
Wilcoxon-Test		p=0,05

**Tabelle 12: Ergebnisse der Kapillardichte, gruppiert nach benignen und malignen Befunden.**

### **3.2.3. Bestimmung der immunhistochemisch angefärbten Fläche**

In den Tabellen 13, 14 und 28 sind die Ergebnisse der Analyse aufgelistet. Tabelle 13 zeigt die Medianwerte der gesamten Parameter, während in Tabelle 14 die Ergebnisse, eingeteilt in benigne und maligne Befunde, aufgelistet sind.

<b>ISS% Margin (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>	
Median	<b>3,58</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>2,80-4,42</b>
<b>ISS% Center (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>	
Median	<b>1,68</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>0,97-3,07</b>
<b>ISS% Mean (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>	
Median	<b>2,37</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>2,10-3,37</b>
<b>ISS% Max (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>	
Median	<b>3,65</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>2,94-4,52</b>

**Tabelle 13: Medianwerte der Analyse der immunhistochemisch angefärbten Fläche.**

Am Rand (ISS%<sub>Margin</sub>) betrug die durchschnittliche immunhistochemisch angefärbte Fläche bei den benignen Lungenrundherden 3,65 ISS% pro 0,4 mm<sup>2</sup>. Die malignen Rundherde unterschieden sich hier nicht signifikant von den benignen Lungenrundherden. Der Wert lag für diese bei 3,49 ISS% pro 0,4 mm<sup>2</sup> (Wilcoxon-Test; p=0,71).

Im Zentrum (ISS%<sub>Center</sub>) war der Unterschied bei den Medianwerten dagegen signifikant (Wilcoxon-Test; p<0,0001). Er betrug bei den benignen Lungenrundherden 0,92 ISS% pro 0,4 mm<sup>2</sup>. Die malignen Lungenrundherde lagen mit 2,56 ISS% pro 0,4 mm<sup>2</sup> deutlich höher.

Die Maximal- und Durchschnittswerte bei den benignen und malignen Lungenrundherden unterschieden sich nicht signifikant voneinander (Wilcoxon-Test; Maximalwert (ISS%<sub>Max</sub>, p=0,69), Durchschnittswert (ISS%<sub>Mean</sub>, p=0,07)).

<b>Histologische Parameter</b>	<b>Benigne Lungenrundherde</b>	<b>Maligne Lungenrundherde</b>
<b>ISS% Margin (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>		
Median	<b>3,65</b>	<b>3,49</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>2,90-4,33</b>	<b>2,58-4,52</b>
Wilcoxon-Test		<b>p=0,71</b>
<b>ISS% Center (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>		
Median	<b>0,92</b>	<b>2,56</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>0,53-1,33</b>	<b>1,62-3,63</b>
Wilcoxon-Test		<b>p&lt;0,0001</b>
<b>ISS% Mean (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>		
Median	<b>2,15</b>	<b>3,07</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>1,92-2,89</b>	<b>2,33-3,8</b>
Wilcoxon-Test		<b>p=0,07</b>
<b>ISS% Max (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>		
Median	<b>3,65</b>	<b>3,58</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>2,90-4,33</b>	<b>2,96-4,95</b>
Wilcoxon-Test		<b>p=0,69</b>

**Tabelle 14: Ergebnisse der Analyse der immunhistochemisch angefärbten Fläche, gruppiert nach benignen und malignen Lungenrundherden.**

### 3.2.4. Bestimmung der Zellproliferationsrate

Die Ergebnisse der Analyse sind in den Tabellen 15 und 28 aufgelistet. Der Median der Zellproliferationsrate aller gemessenen Lungenrundherde betrug 16%. Die benignen Lungenrundherde wiesen einen Median von 3% positiven Zellen auf, wohingegen bei malignen Lungenrundherden ein signifikant höherer Medianwert von 23,6% positiver Zellen ausgezählt wurde ( $p < 0,0001$ ).

<b>Ki-67 (pos. cells %)</b>	<b>Gesamtwert (benigne+maligne)</b>	
Median	<b>16</b>	
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>3-45</b>	
<b>Ki-67 (pos. cells %)</b>	<b>Benigne Lungenrundherde</b>	<b>Maligne Lungenrundherde</b>
Median	<b>3</b>	<b>23,6</b>
Interquartilsspanne (25-75%)	<b>2-4,75</b>	<b>18-62</b>
Wilcoxon-Test		<b>p&lt;0,0001</b>

**Tabelle 15: Ergebnisse der Bestimmung der Zellproliferationsrate (Ki-67).**

### **3.2.5. Bestimmung der Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)**

Der Score für die Expression von VEGF rangierte von 0-5 Punkten (siehe Tab. 28). Der Median für maligne Tumoren war 2 (IQS 2-4). Bis auf eine Ausnahme (Hamartochondrom) fand sich keine VEGF-Expression bei benignen Herden. Die immunhistochemische Färbung auf Vascular Endothelial Growth Factor war nur bei malignen Lungenrundherden ausreichend stark, um diese definitionsgemäß als VEGF-positiv zu klassifizieren.

VEGF-positiv waren 4 von 9 (44,4%) primäre Adenokarzinome der Lunge, ein Karzinoid sowie 3 von 5 (60%) Metastasen von Adenokarzinomen. Somit ergaben sich bei 39 untersuchten Lungenrundherden 8 VEGF-positive Befunde (20,5%). Die Metastasen von Plattenepithelkarzinomen und die Plattenepithelkarzinome selbst zeigten nur in geringem Maße eine Reaktion auf die immunhistochemische Färbung und wurden somit als VEGF-negativ eingeordnet (Punktwert war stets  $\leq 3$ ).

### **3.2.6. Analyse der morphologischen Verteilung der Kapillaren**

Von den 39 Lungenrundherden wiesen bei der Auswertung 6 ein homogenes sowie inhomogenes Kapillarmuster auf. 13 zeichneten sich durch eine Verteilung vom „Gefäßcluster-Typ“ aus, während 14 der Kategorie „randbetont“ zugeordnet wurden.

Eine Kapillarverteilung vom „Gefäßcluster“-Typ wurde nur bei malignen Lungenrundherden, und zwar in 13 Fällen, gefunden. Eine randbetonte Kapillarverteilung wurde bei 12 benignen aber nur bei 2 malignen Rundherden gefunden. Eine homogene Kapillarverteilung fand sich bei jeweils 3 benignen und malignen Läsionen. Eine inhomogene Verteilung der Kapillaren wurde bei nur 1 benignen und 5 malignen Rundherden gefunden.

Gutartige Tumoren zeigten somit am häufigsten eine Kapillarverteilung vom homogenen oder vom randbetonten Typ, während die Kapillarverteilung bei malignen Tumoren meist inhomogen oder in Form von Gefäßclustern zu finden war.

Bei zusätzlicher Einteilung in die vier ermittelten Kurventypen fanden sich bei Kurventyp 1 acht Läsionen mit einer morphologischen Kapillarverteilung vom „Gefäßcluster-Typ“. Einmal wurden eine homogene sowie zweimal eine randbetonte sowie inhomogene Verteilung gefunden.

Bei Kurventyp 2 wurde 5mal eine Verteilung vom „Gefäßcluster-Typ“ ermittelt. Jeweils 3mal eine randbetonte, inhomogene und homogene Verteilung.

Bei Kurventyp 3 fanden sich 5mal eine randbetonte Verteilung der Kapillaren sowie 2mal eine homogene und 1mal eine inhomogene Verteilung.

Bei Kurventyp 4 fand sich als einziges 4mal eine randbetonte Kapillarverteilung.

Die Ergebnisse der morphologischen Analyse der histologischen Präparate sind in Tabelle 16, nach Diagnosen geordnet, aufgelistet.

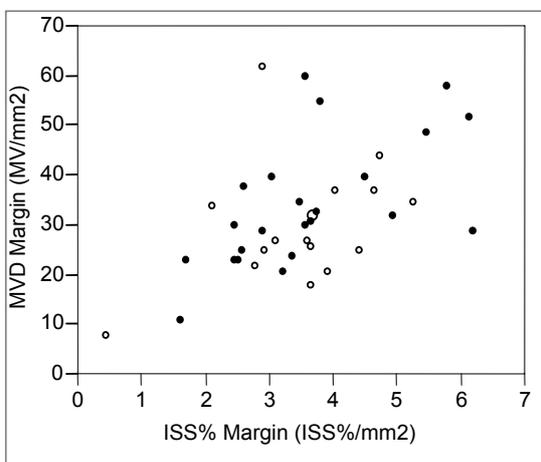
	<b>Morphologische Kapillarverteilung in der Histologie</b>			
	<b>Gefäßcluster</b>	<b>randbetont</b>	<b>homogen</b>	<b>inhomogen</b>
<b>Maligne Läsionen</b>				
<b>Adenokarzinom</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	0	<b>2</b>
<b>Plattenepithelkarzinom</b>	<b>3</b>	0	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>Metastase (Adenokarzinom)</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	0
<b>Metastase (Ewing-Sarkom)</b>	0	0	0	<b>1</b>
<b>Metastase (Plattenepithelkarz.)</b>	<b>1</b>	0	0	<b>1</b>
<b>Karzinoid</b>	<b>1</b>	0	0	0
<b>Benigne Läsionen</b>				
<b>Hamartochondrom</b>	0	<b>10</b>	0	<b>1</b>
<b>entzündlich</b>	0	<b>1</b>	<b>2</b>	0
<b>Lymphknoten</b>	0	0	<b>1</b>	0
<b>Tuberkulom</b>	0	<b>1</b>	0	0

**Tabelle 16: Korrelation der histologischen Morphologie mit der histolog. Diagnose.**

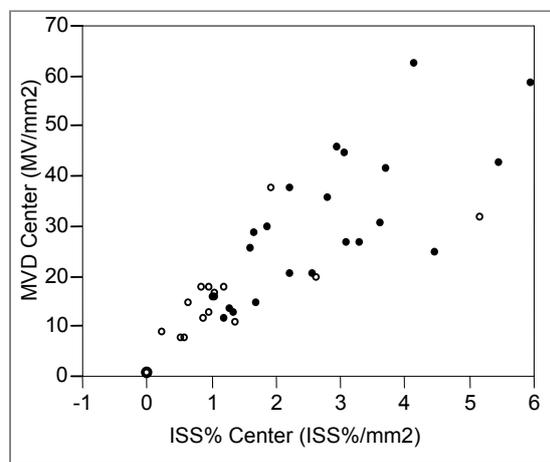
### **3.2.7. Korrelation der lichtmikroskopischen Kapillarzählung mit der Bestimmung der immunhistochemisch angefärbten Fläche**

Die lichtmikroskopische Auszählung der Kapillaren und die Bestimmung der immunhistochemisch angefärbten Kapillarfläche stellen zwei unterschiedliche Möglichkeiten zur Messung der Kapillardichte dar.

Um eventuelle Zusammenhänge zu finden, wurden aus beiden Gruppen die Messwerte am Rand und im Zentrum sowie die Mittel- und Maximalwerte mittels Spearmanschem Rangkorrelationskoeffizienten miteinander verglichen. Die Kapillardichte am Rand zeigte einen nur mäßig positiven Zusammenhang mit der immunhistochemisch gefärbten Fläche am Rand ( $r_s=0,49$ ,  $p=0,0016$ ). Die Werte im Zentrum dagegen zeigten einen deutlichen, signifikanten Zusammenhang ( $r_s=0,86$ ,  $p<0,0001$ ). Die Mittelwerte wiesen ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang ( $r_s=0,64$ ,  $p<0,0001$ ) auf, während bei den Maximalwerten kein Zusammenhang ( $r_s=0,33$ ,  $p=0,04$ ) zu finden war (siehe dazu auch Abbildungen 10 und 11).



a

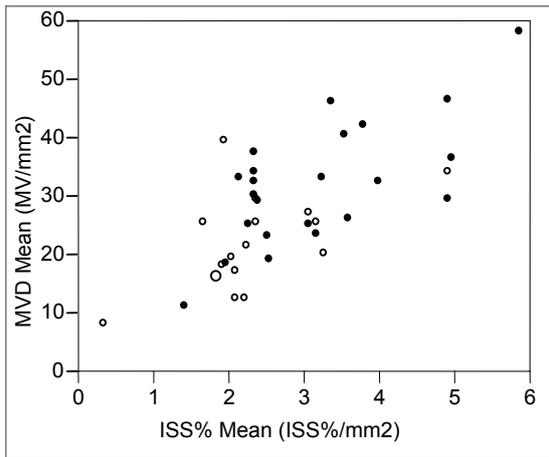


b

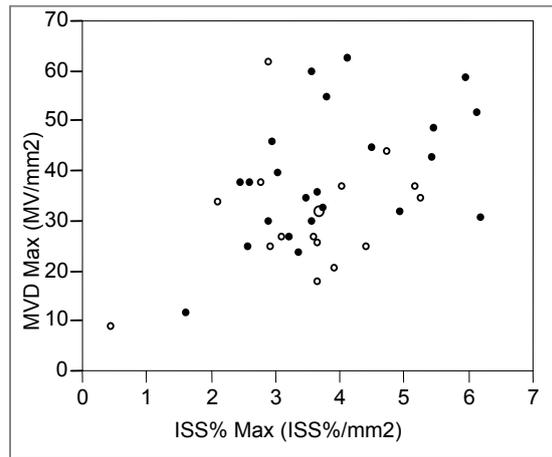
**Abbildungen 10a, b: Korrelation der lichtmikroskopischen Kapillarzählung mit der immunhistochemisch angefärbten Fläche**

**a) Korrelation der Werte am Rand (MVD Margin/ISS% Margin;  $r_s=0,49$ ,  $p=0,002$ )**

**b) Korrelation der Werte im Zentrum (MVD Center/ISS% Center;  $r_s=0,86$ ,  $p<0,0001$ )**



a



b

**Abbildungen 11a, b: Korrelation der lichtmikroskopischen Kapillarzählung mit der immunhistochemisch angefärbten Fläche**

**a) Korrelation der Mittelwerte (MVD Mean/ISS% Mean;  $r_s=0,64$ ,  $p<0,001$ )**

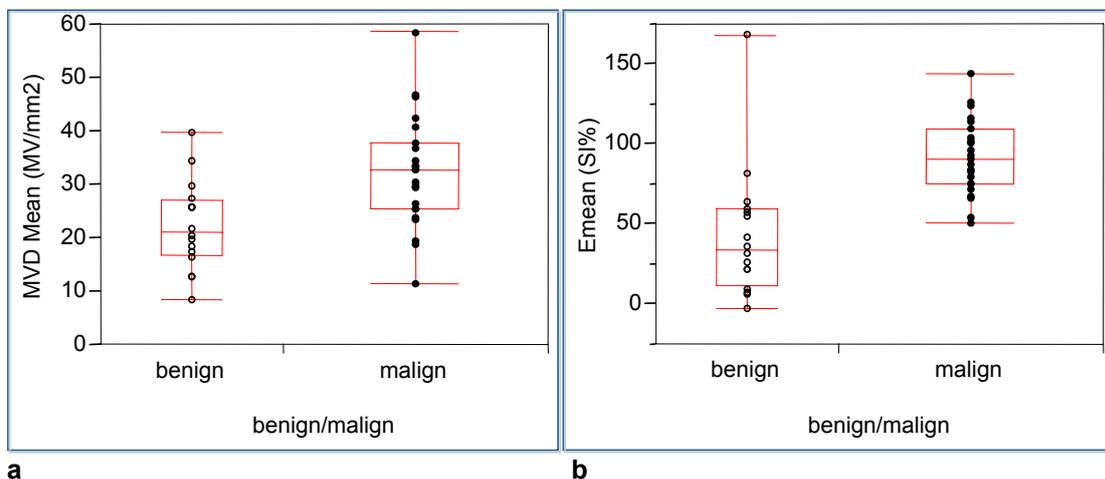
**b) Korrelation der Maximalwerte (MVD Max/ISS% Max;  $r_s=0,33$ ,  $p=0,04$ )**

### 3.3. Korrelation der histologischen Ergebnisse mit den ermittelten MRT-Parametern

#### 3.3.1. Gegenüberstellung mittlere Kapillardichte und mittlere Kontrastmittelaufnahme

Zur Veranschaulichung sind in Abbildung 12 jeweils ein Parameter aus der MRT-Untersuchung (mittlere Kontrastmittelaufnahme ( $E_{\text{mean}}$ )) und histologischen Analyse (mittlere Kapillardichte ( $MVD_{\text{Mean}}$ )) gegenübergestellt.

In beiden Gruppen gab es zwischen benignen und malignen Rundherden signifikante Unterschiede (Wilcoxon-Test:  $E_{\text{mean}}$   $p < 0,001$ ;  $MVD_{\text{Mean}}$   $p = 0,005$ ). Der Median für  $E_{\text{mean}}$  lag für die benignen Rundherde bei 34,66 SI% und bei 91,26 SI% für die malignen Rundherde. Bei der mittleren Kapillardichte wurde ein Medianwert von 21,25 MV für die benignen und 33 MV für die malignen Lungenrundherde gemessen. Die weiteren Parameter sind in den Tabellen 8 und 12 aufgelistet.



Abbildungen 12a, b: Mittlere Kontrastmittelaufnahme ( $E_{\text{mean}}$ ) und mittlere Kapillardichte ( $MVD_{\text{Mean}}$ ) im direkten Vergleich.

### 3.3.2. Einteilung der histologischen Ergebnisse und MRT-Ergebnisse nach Kurventypen

Insgesamt wurden, wie zu Beginn erwähnt, vier unterschiedliche Kontrastmittelaufnahmeprofile im MRT gefunden. Die MRT-Ergebnisse sowie die Daten der histologischen Auswertung wiesen bei Einteilung in diese Kurventypen zum Teil signifikante Unterschiede auf.

Ein signifikanter Unterschied wurde unter anderem bei allen 5 Kontrastmittelparametern ( $E_{\text{early}}$ ,  $E_{\text{mean}}$ ,  $E_{\text{max}}$ , Slope, wash-out) gefunden ((Wilcoxon-Test;  $p < 0,0001$ ). Die Ergebnisse der Einteilung sind in Tabelle 17 aufgelistet.

MRT-Parameter	Kurventyp 1	Kurventyp 2	Kurventyp 3	Kurventyp 4
<b>Eearly (SI%)</b>				
Median	<b>128</b>	<b>75,5</b>	<b>25</b>	<b>1,5</b>
IQS (25-75%)	118-157	58-113,25	12,5-45	-14,25-+15
<b>E<sub>max</sub> (SI%)</b>				
Median	<b>130,43</b>	<b>107,03</b>	<b>53,02</b>	<b>24,94</b>
IQS (25-75%)	117,76-157,19	90,17-129,49	39,62-78,03	19,91-26,19
<b>E<sub>mean</sub> (SI%)</b>				
Median	<b>101,39</b>	<b>82,91</b>	<b>34,66</b>	<b>6,94</b>
IQS (25-75%)	69,49-115,76	73,52-96,27	23,32-52,07	0,19-9,07
<b>Slope (SI%/s)</b>				
Median	<b>45,29</b>	<b>25,17</b>	<b>8,29</b>	<b>0,44</b>
IQS (25-75%)	40,39-71,11	19,38-42,36	4,64-11,56	-4,63-+4,85
<b>wash-out (%/s)</b>				
Median	<b>-3,7</b>	<b>1,69</b>	<b>2,42</b>	<b>0,76</b>
IQS (25-75%)	-7,76- -2,32	0,25-4,93	0,26-5,45	0,11-2,35

Tabelle 17: Ergebnisse der Parameter der Kontrastmittelaufnahme, gruppiert nach Kurventypen.

Die Ergebnisse der histologischen Analyse wurden ebenfalls nach Kurventypen gruppiert. Bei der Kapillardichte im Zentrum sowie der mittleren Kapillardichte fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den 4 Kurventypen (Wilcoxon-Test;  $MVD_{Center}$ :  $p=0,02$ ;  $MVD_{Mean}$ :  $p=0,04$ ). Diese ließen sich bei Kapillardichte am Rand sowie bei der maximalen Kapillardichte nicht feststellen (Wilcoxon-Test;  $MVD_{Margin}$ :  $p=0,42$ ;  $MVD_{Max}$ :  $p=0,21$ ). Die Ergebnisse der Einteilung sind in Tabelle 18 aufgelistet.

Kapillardichte	Kurventyp 1	Kurventyp 2	Kurventyp 3	Kurventyp 4
<b>MVD Margin (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>				
Median	<b>31</b>	<b>31,5</b>	<b>26,5</b>	<b>30</b>
IQS (25-75%)	23-44,5	26,5-43,75	21,25-33,5	12,25-41,75
Wilcoxon-Test	<b>p=0,42</b>			
<b>MVD Center (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>				
Median	<b>25</b>	<b>28</b>	<b>16,5</b>	<b>10</b>
IQS (25-75%)	16-40	13,75-35,25	9,25-19,5	3-15,5
Wilcoxon-Test	<b>p=0,02</b>			
<b>MVD Mean (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>				
Median	<b>33</b>	<b>31,75</b>	<b>21,25</b>	<b>19,5</b>
IQS (25-75%)	25,5-35,75	22,38-41,38	17,38-26	9,63-27,13
Wilcoxon-Test	<b>p=0,04</b>			
<b>MVD Max (MV/0,74mm<sup>2</sup>)</b>				
Median	<b>38</b>	<b>35</b>	<b>29,5</b>	<b>30</b>
IQS (25-75%)	31-47,5	27-56	22,25-36,25	13-41,75
Wilcoxon-Test	<b>p=0,21</b>			

**Tabelle 18: Ergebnisse der histologischen Kapillardichte, gruppiert nach Kurventypen.**

Weiterhin bestanden bei der immunhistochemisch angefärbten Fläche im Zentrum signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Kurventypen (Wilcoxon-Test;  $p=0,007$ ). Bei der mittleren und maximalen Fläche sowie der Fläche am Rand ließen sich keine signifikanten Unterschiede feststellen ( $ISS\%_{Mean}$ :  $p=0,18$ ,  $ISS\%_{Margin}$ :  $p=0,79$ ,  $ISS\%_{Max}$ :  $p=0,85$ ). Die Ergebnisse der Einteilung sind in Tabelle 19 nachzulesen.

<b>Immunhistochemisch angefärbte Fläche</b>	<b>Kurventyp 1</b>	<b>Kurventyp 2</b>	<b>Kurventyp 3</b>	<b>Kurventyp 4</b>
<b>ISS% Margin (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>				
Median	<b>3,49</b>	<b>3,42</b>	<b>3,65</b>	<b>4,59</b>
IQS (25-75%)	2,5-4,3	2,82-4,55	2,88-3,86	1,44-5,13
Wilcoxon-Test	<b>p=0,79</b>			
<b>ISS% Center (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>				
Median	<b>2,23</b>	<b>2,47</b>	<b>0,91</b>	<b>0,65</b>
IQS (25-75%)	1,41-3,34	1,21-3,76	0,56-1,76	0,06-1,29
Wilcoxon-Test	<b>p=0,007</b>			
<b>ISS% Mean (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>				
Median	<b>2,54</b>	<b>2,84</b>	<b>2,17</b>	<b>2,64</b>
IQS (25-75%)	2,33-3,79	2,06-4,08	1,9-2,37	0,81-3,14
Wilcoxon-Test	<b>p=0,18</b>			
<b>ISS% Max (ISS%/0,4mm<sup>2</sup>)</b>				
Median	<b>3,58</b>	<b>3,68</b>	<b>3,65</b>	<b>4,59</b>
IQS (25-75%)	3,01-5,2	2,91-4,69	2,88-3,86	1,44-5,13
Wilcoxon-Test	<b>p=0,85</b>			

**Tabelle 19: Ergebnisse der immunhistochemisch angefärbten Fläche, gruppiert nach Kurventypen.**

Wenn man die Ergebnisse der Analyse der Zellproliferationsrate in die verschiedenen Kurventypen einteilt, finden sich die in Tabelle 20 dargestellten Ergebnisse. Zwischen den einzelnen Kurventypen gab es auch hier signifikante Unterschiede (Wilcoxon-Test; p=0,0004).

<b>Zellproliferationsrate</b>	<b>Kurventyp 1</b>	<b>Kurventyp 2</b>	<b>Kurventyp 3</b>	<b>Kurventyp 4</b>
<b>Ki-67 (pos. cells %)</b>				
Median	<b>25</b>	<b>23,5</b>	<b>3,5</b>	<b>2</b>
IQS (25-75%)	18-64	4,25-54,5	2-6,25	1-3
Wilcoxon-Test	<b>p=0,0004</b>			

**Tabelle 20: Ergebnisse der Zellproliferationsrate, gruppiert nach Kurventypen.**



### **3.3.3. Korrelation der Kapillardichte und der immunhistochemisch angefärbten Kapillarfläche mit der Kontrastmittel-Signalintensität**

Beim Vergleich der Gesamtergebnisse der Kapillardichte (MVD) und der immunhistochemisch angefärbten Fläche (ISS%) mit den Parametern der Kontrastmittelaufnahme ( $E_{\text{early}}$ ,  $E_{\text{max}}$ ,  $E_{\text{mean}}$ ) ergaben sich keine relevanten Zusammenhänge (siehe Tabelle 21). Mäßig positive Zusammenhänge wurden zwischen dem Mittel- ( $rS=0,40$ ,  $p=0,01$ ) und Maximalwert ( $rS=0,41$ ,  $p=0,01$ ) der Kontrastmittelaufnahme und der mittleren Kapillardichte gefunden.

Auch bei zusätzlicher Einteilung in maligne und benigne Lungenrundherde ergaben sich keine relevanten Zusammenhänge. Hier fanden sich bei malignen Tumoren nur zwischen der mittleren ( $rS=0,46$ ,  $p=0,03$ ) und maximalen ( $rS=0,49$ ,  $p=0,03$ ) Kontrastmittelaufnahme und der Kapillardichte am Rand mäßig positive Zusammenhänge. Bei den benignen Läsionen waren nur zwischen der Kapillardichte im Zentrum und der mittleren ( $rS=0,44$ ,  $p=0,09$ ) sowie maximalen ( $rS=0,39$ ,  $p=0,13$ ) Kontrastmittelaufnahme mäßig positive Zusammenhänge zu finden, wobei diese wegen des p-Wertes ( $>0,05$ ) nicht signifikant waren. Erwähnenswerte relevante Zusammenhänge zwischen den MRT-Ergebnissen und der immunhistochemisch angefärbten Fläche wurden nicht gefunden.

<b>Kapillardichte</b>			
<b>Variablen MRT</b>	<b>Variablen Histologie</b>	<b>Spearman Rho (rS)</b>	<b>p-Wert</b>
Eearly (SI%)	MVD Margin (MV/mm <sup>2</sup> )	0,14	0,39
Eearly (SI%)	MVD Center (MV/mm <sup>2</sup> )	<b>0,35</b>	<b>0,03</b>
Eearly (SI%)	MVD Mean (MV/mm <sup>2</sup> )	<b>0,32</b>	<b>0,04</b>
Eearly (SI%)	MVD Max (MV/mm <sup>2</sup> )	0,27	0,09
Emax (SI%)	MVD Margin (MV/mm <sup>2</sup> )	0,27	0,10
Emax (SI%)	MVD Center (MV/mm <sup>2</sup> )	<b>0,38</b>	<b>0,02</b>
Emax (SI%)	MVD Mean (MV/mm <sup>2</sup> )	<b>0,41</b>	<b>0,01</b>
Emax (SI%)	MVD Max (MV/mm <sup>2</sup> )	<b>0,34</b>	<b>0,03</b>
Emean (SI%)	MVD Margin (MV/mm <sup>2</sup> )	0,28	0,08
Emean (SI%)	MVD Center (MV/mm <sup>2</sup> )	<b>0,35</b>	<b>0,03</b>
Emean (SI%)	MVD Mean (MV/mm <sup>2</sup> )	<b>0,40</b>	<b>0,01</b>
Emean (SI%)	MVD Max (MV/mm <sup>2</sup> )	<b>0,34</b>	<b>0,03</b>
<b>Immunhistochemisch angefärbte Fläche</b>			
<b>Variablen MRT</b>	<b>Variablen Histologie</b>	<b>Spearman Rho (rS)</b>	<b>p-Wert</b>
Eearly (SI%)	ISS% Margin (ISS%/mm <sup>2</sup> )	-0,07	0,67
Eearly (SI%)	ISS% Center (ISS%/mm <sup>2</sup> )	<b>0,46</b>	<b>0,003</b>
Eearly (SI%)	ISS% Mean (ISS%/mm <sup>2</sup> )	<b>0,32</b>	<b>0,05</b>
Eearly (SI%)	ISS% Max (ISS%/mm <sup>2</sup> )	0,03	0,86
Emax (SI%)	ISS% Margin (ISS%/mm <sup>2</sup> )	-0,001	0,10
Emax (SI%)	ISS% Center (ISS%/mm <sup>2</sup> )	<b>0,49</b>	<b>0,002</b>
Emax (SI%)	ISS% Mean (ISS%/mm <sup>2</sup> )	<b>0,35</b>	<b>0,03</b>
Emax (SI%)	ISS% Max (ISS%/mm <sup>2</sup> )	0,08	0,61
Emean (SI%)	ISS% Margin (ISS%/mm <sup>2</sup> )	-0,05	0,75
Emean (SI%)	ISS% Center (ISS%/mm <sup>2</sup> )	<b>0,41</b>	<b>0,01</b>
Emean (SI%)	ISS% Mean (ISS%/mm <sup>2</sup> )	0,26	0,11
Emean (SI%)	ISS% Max (ISS%/mm <sup>2</sup> )	-0,02	0,90
<b>Fett gedruckt: Korrelationen mit p &lt;= 0,05</b>			

**Tabelle 21: Korrelation der Gesamtmesswerte der Kapillardichte (MVD) sowie der immunhistochemisch angefärbten Fläche (ISS%) mit den MRT-Parametern der Kontrastmittelaufnahme (Eearly, Emax, Emean).**

Wurden die Ergebnisse dagegen in die jeweiligen Typen der Signalintensitätskurven (Kurventyp 1-4) eingruppiert, fanden sich relevante, und zum Teil signifikante Übereinstimmungen (siehe Tabelle 22).

Bei Lungenrundherden vom Kurventyp 1 zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Kapillardichte am Rand (MVD<sub>Margin</sub>) und der maximalen Kontrastmittelaufnahme (E<sub>max</sub>) (rS=0,66, p=0,01). Es zeigte sich auch ein Zusammenhang zwischen der maximalen Kontrastmittelaufnahme (E<sub>max</sub>) und der

maximalen Kapillardichte ( $rS=0,6$ ,  $p=0,03$ ) sowie zwischen dem Mittelwert der KM-Aufnahme ( $E_{\text{mean}}$ ) und der Kapillardichte am Rand ( $MVD_{\text{Margin}}$ ) ( $rS=0,66$ ,  $p=0,01$ ).

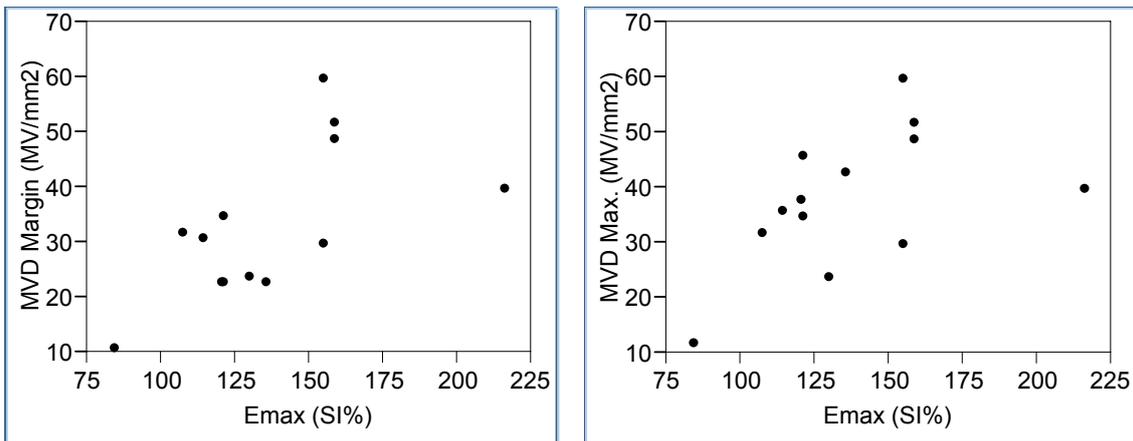
Lungenrundherde, die zum Kurventyp 2 gehören, zeigten keine relevanten Zusammenhänge zwischen histologischen und radiologischen Parametern.

Bei Lungenrundherden vom Kurventyp 3 waren dagegen in der statistischen Analyse relevante und zum Teil signifikante Zusammenhänge zu finden. Es fanden sich unter anderem Zusammenhänge zwischen  $MVD_{\text{Center}}$  und  $E_{\text{max}}$  ( $rS=0,67$ ,  $p=0,07$ ) sowie  $MVD_{\text{Max}}$  und  $E_{\text{max}}$  ( $rS=0,69$ ,  $p=0,06$ ). Weiterhin zeigte sich ein Zusammenhang zwischen  $ISS\%_{\text{Center}}$  und  $E_{\text{max}}$  ( $rS=0,66$ ,  $p=0,08$ ). Auch zeigte sich ein recht hoher Zusammenhang zwischen  $MVD_{\text{mean}}$  und  $E_{\text{mean}}$  ( $rS=0,87$ ,  $p=0,005$ ). Die weiteren, relevanten Ergebnisse sind in Tabelle 22 aufgelistet.

Variablen Histologie-MRT	Spearman Rho (rS)	p-Wert
<b>Korrelationen (<math>rS&gt;0,6</math>) bei Lungenrundherden des Kurventyps 1</b>		
MVD Margin – Emax	<b>rS=0,66</b>	<b>p=0,01</b>
MVD Max – Emax	<b>rS=0,60</b>	<b>p=0,03</b>
MVD Margin – Emean	<b>rS=0,66</b>	<b>p=0,01</b>
<b>Korrelationen (<math>rS&gt;0,6</math>) bei Lungenrundherden des Kurventyps 3</b>		
MVD Center – Emax	rS=0,67	p=0,07
MVD Mean – Emax	<b>rS=0,86</b>	<b>p=0,006</b>
MVD Max – Emax	rS=0,69	p=0,06
ISS% Center – Emax	rS=0,66	p=0,08
ISS% Center – Emean	rS=0,67	p=0,07
MVD Center – Emean	rS=0,69	p=0,06
MVD Mean – Emean	<b>rS=0,87</b>	<b>p=0,005</b>
MVD Max – Emean	<b>rS=0,71</b>	<b>p=0,05</b>
MVD Max – Slope	rS=0,67	p=0,07
MVD Max - Eearly	rS=0,69	p=0,06
<b>Fett gedruckt: Korrelationen mit <math>p \leq 0,05</math></b>		

Tabelle 22: Relevante Zusammenhänge bei der zusätzlichen Eingruppierung in die 4 Kurventypen.

Bei Lungenrundherden mit dem Kurventyp 4 war aufgrund der geringen Fallzahl (n=4) ein Vergleich zwischen den histologischen und MRT-Parametern nicht sinnvoll. Zur Veranschaulichung sind die wichtigsten Ergebnisse in den Abbildungen 14-17 grafisch dargestellt.



Abbildungen 14a, b: Korrelation der maximalen Kontrastmittelaufnahme mit der durchschnittlichen Kapillardichte am Rand ( $r_s=0,66$ ,  $p=0,01$ ) und der maximalen Kapillardichte ( $r_s=0,60$ ;  $p=0,03$ ) bei Lungenrundherden des Kurventyps 1.

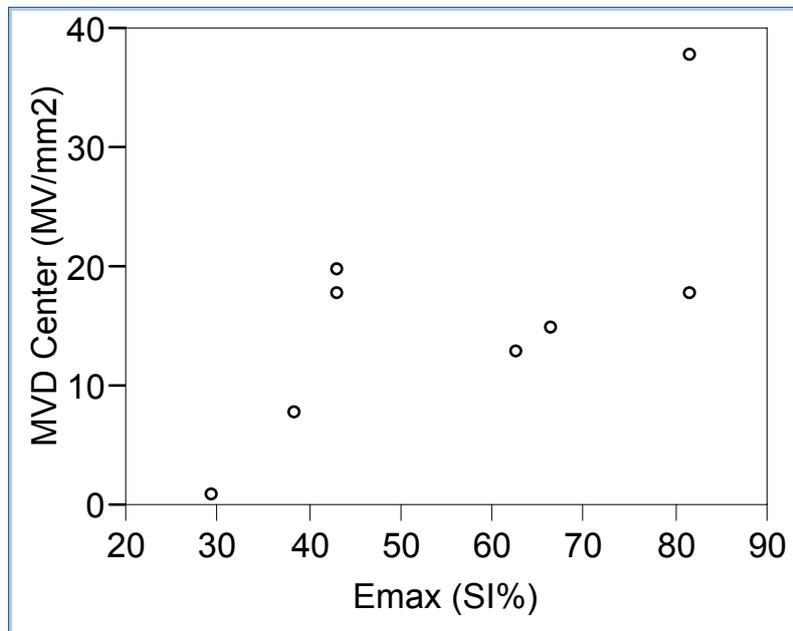


Abbildung 15: Korrelation der maximalen Kontrastmittelaufnahme mit der durchschnittlichen Kapillardichte im Zentrum bei Rundherden des Kurventyps 3 ( $r_s=0,67$ ,  $p=0,07$ ).

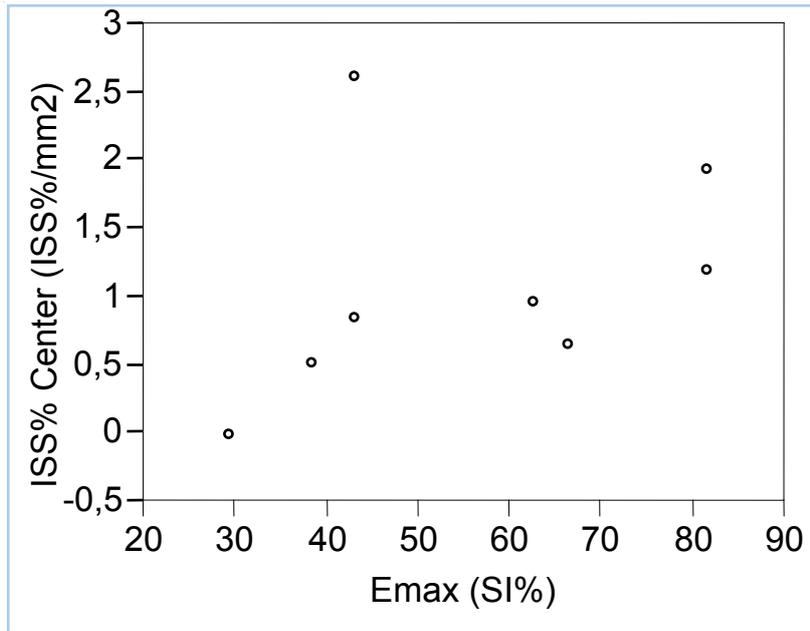
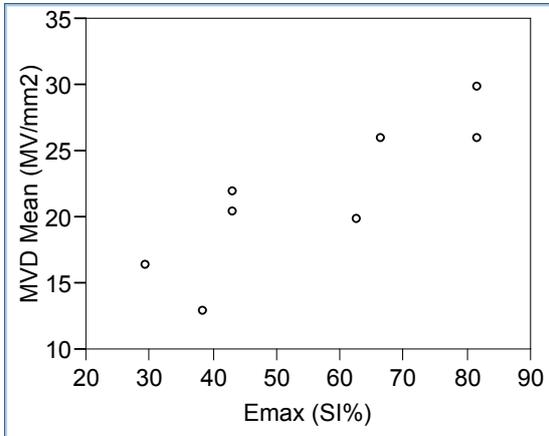
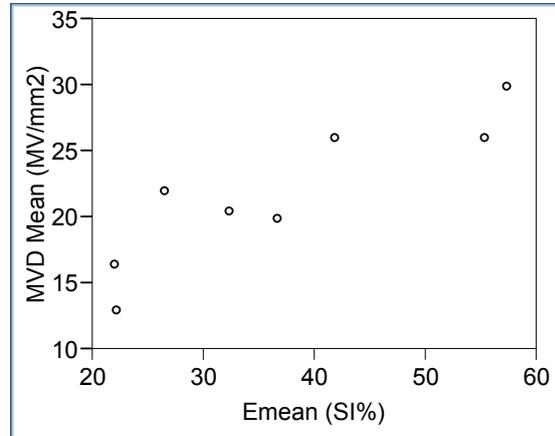


Abbildung 16: Korrelation der maximalen Kontrastmittelaufnahme mit der immunhistochemisch gefärbten Fläche bei Lungenrundherden des Kurventyps 3 ( $rS=0,66$ ,  $p=0,08$ ).



a



b

Abbildungen 17a, b: Korrelation der maximalen Kontrastmittelaufnahme ( $rS=0,86$ ,  $p=0,01$ ) sowie dem Mittelwert der Kontrastmittelaufnahme ( $rS=0,87$ ,  $p=0,005$ ) mit der durchschnittlichen Kapillardichte bei Lungenrundherden des Kurventyps 3.

### 3.3.4. Korrelation der Kapillardichte und der immunhistochemisch angefärbten Kapillarfläche mit der Kontrastmittelanflutungsgeschwindigkeit (Slope) und dem wash-out

Bei der Korrelation der Gesamtergebnisse von Slope und wash-out mit der Kapillardichte (MVD) und der immunhistochemisch angefärbten Kapillarfläche (ISS%) fanden sich keine relevanten Zusammenhänge (siehe Tab. 23). Mäßig positive Zusammenhänge wurden nur zwischen Slope und der immunhistochemisch gefärbten Fläche im Zentrum gefunden ( $r_S=0,46$ ,  $p=0,003$ ). Bei der zusätzlichen Einteilung in maligne und benigne Rundherde zeigten sich ebenfalls keine relevanten Zusammenhänge.

Gruppiert nach Kurventypen ergab sich in einem Fall ein relevanter, allerdings nicht signifikanter Zusammenhang. Dies war beim Vergleich zwischen Slope und der maximalen Kapillardichte der Fall ( $r_S=0,67$ ,  $p=0,07$ ). Dieser ist in Abbildung 18 grafisch dargestellt.

Variablen MRT	Variablen Histologie	Spearman Rho (rS)	p-Wert
Slope (SI%/s)	MVD Margin (MV/mm <sup>2</sup> )	0,12	0,45
Slope (SI%/s)	MVD Center (MV/mm <sup>2</sup> )	0,30	0,06
Slope (SI%/s)	MVD Mean (MV/mm <sup>2</sup> )	0,27	0,10
Slope (SI%/s)	MVD Max (MV/mm <sup>2</sup> )	0,19	0,24
Slope (SI%/s)	ISS% Margin (ISS%/mm <sup>2</sup> )	-0,05	0,77
Slope (SI%/s)	ISS% Center (ISS%/mm <sup>2</sup> )	<b>0,46</b>	<b>0,003</b>
Slope (SI%/s)	ISS% Mean (ISS%/mm <sup>2</sup> )	<b>0,33</b>	<b>0,04</b>
Slope (SI%/s)	ISS% Max (ISS%/mm <sup>2</sup> )	0,03	0,88
wash-out (%/s)	MVD Margin (MV/mm <sup>2</sup> )	0,08	0,63
wash-out (%/s)	MVD Center (MV/mm <sup>2</sup> )	-0,08	0,64
wash-out (%/s)	MVD Mean (MV/mm <sup>2</sup> )	-0,03	0,87
wash-out (%/s)	MVD Max (MV/mm <sup>2</sup> )	-0,05	0,77
wash-out (%/s)	ISS% Margin (ISS%/mm <sup>2</sup> )	0,03	0,87
wash-out (%/s)	ISS% Center (ISS%/mm <sup>2</sup> )	-0,22	0,18
wash-out (%/s)	ISS% Mean (ISS%/mm <sup>2</sup> )	-0,21	0,19
wash-out (%/s)	ISS% Max (ISS%/mm <sup>2</sup> )	-0,08	0,61
<b>Fett gedruckt: Korrelationen mit p &lt;= 0,05</b>			

Tabelle 23: Korrelation der Kapillardichte und der immunhistochemisch angefärbten Kapillarfläche mit der Kontrastmittelanflutungsgeschwindigkeit (Slope (SI%/s)) und dem wash-out (%/s).

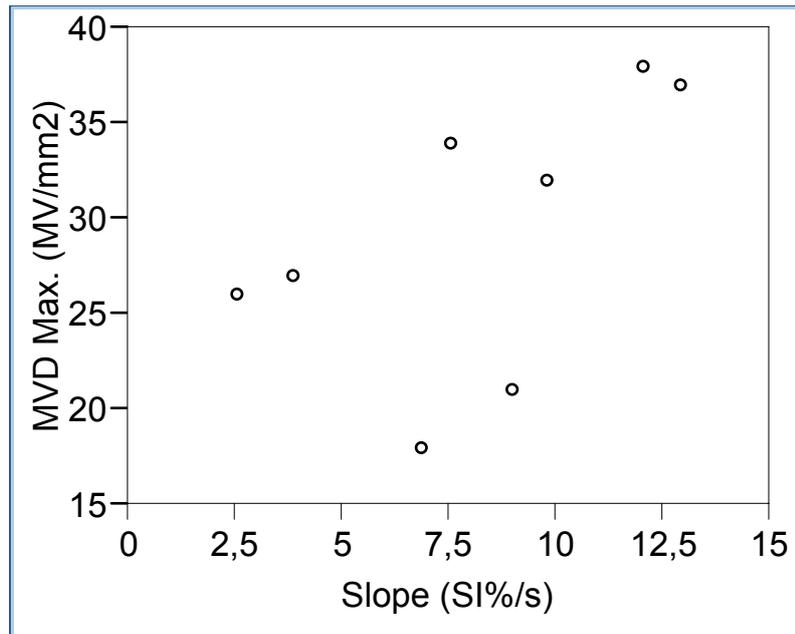


Abbildung 18: Korrelation der maximalen Kapillardichte mit der Kontrastmittelanflutungsgeschwindigkeit bei Lungenrundherden des Kurventyps 3 ( $r_S=0,67$ ,  $p=0,07$ ).

### 3.3.5. Korrelation des Zellproliferationsmarkers Ki-67 mit den Parametern der MRT-Untersuchung

Der Zellproliferationsmarker Ki-67 korrelierte beim Vergleich der Gesamtergebnisse signifikant mit 4 von 5 Parametern der Kontrastmittelaufnahme ( $r_S > 0,6$ ;  $p < 0,0001$  für alle 4 Parameter; siehe Tabelle 24). Bei der Korrelation von Ki-67 mit wash-out (%/s) zeigte sich kein Zusammenhang.

Variablen MRT	Variablen Histologie	Spearman Rho ( $r_S$ )	p-Wert
Eearly (SI %)	Ki-67 (pos. cells %)	<b>0,62</b>	<b>&lt;.0001</b>
E <sub>max</sub> (SI %)	Ki-67 (pos. cells %)	<b>0,64</b>	<b>&lt;.0001</b>
E <sub>mean</sub> (SI%)	Ki-67 (pos. cells %)	<b>0,61</b>	<b>&lt;.0001</b>
Slope (SI %/s)	Ki-67 (pos. cells %)	<b>0,61</b>	<b>&lt;.0001</b>
wash-out (%/s)	Ki-67 (pos. cells %)	<b>-0,33</b>	<b>0,04</b>

**Fett gedruckt: Korrelationen mit  $p \leq 0,05$**

Tabelle 24: Korrelation der Zellproliferationsrate (Ki-67) mit den MRT-Parametern.

<b>Benigne Lungenrundherde</b>			
<b>Variablen MRT</b>	<b>Variablen Histologie</b>	<b>Spearman Rho (rS)</b>	<b>p-Wert</b>
Eearly (SI%)	Ki-67 (pos. cells %)	0,44	0,09
E <sub>max</sub> (SI%)	Ki-67 (pos. cells %)	0,48	0,06
E <sub>mean</sub> (SI%)	Ki-67 (pos. cells %)	<b>0,49</b>	<b>0,05</b>
Slope (SI%/s)	Ki-67 (pos. cells %)	0,40	0,13
wash-out (%/s)	Ki-67 (pos. cells %)	0,23	0,39
<b>Maligne Lungenrundherde</b>			
<b>Variablen MRT</b>	<b>Variablen Histologie</b>	<b>Spearman Rho (rS)</b>	<b>p-Wert</b>
Eearly (SI%)	Ki-67 (pos. cells %)	-0,0005	0,10
E <sub>max</sub> (SI%)	Ki-67 (pos. cells %)	0,06	0,78
E <sub>mean</sub> (SI%)	Ki-67 (pos. cells %)	0,03	0,91
Slope (SI%/s)	Ki-67 (pos. cells %)	-0,13	0,54
wash-out (%/s)	Ki-67 (pos. cells %)	0,14	0,52
<b>Fett gedruckt: Korrelationen mit p &lt;= 0,05</b>			

**Tabelle 25: Korrelation der Zellproliferationsrate (Ki-67) mit den MRT-Parametern, gruppiert in benigne und maligne Lungenrundherde.**

Bei zusätzlicher Eingruppierung in benigne und maligne Befunde zeigten sich andere Ergebnisse. Es waren keine relevanten Zusammenhänge mehr zu finden. Mäßig positive Zusammenhänge zeigten sich bei benignen Rundherden aber zwischen Ki-67 und E<sub>early</sub>, E<sub>max</sub>, E<sub>mean</sub> und Slope, wie in Tabelle 25 zu sehen.

Zusätzlich wurden die Rundherde noch nach Kurventypen eingruppiert miteinander verglichen. Hier zeigte sich nur bei Rundherden vom Kurventyp 3 ein relevanter, allerdings nicht signifikanter Zusammenhang zwischen der Zellproliferationsrate sowie der maximalen (rS=0,62, p=0,10) und mittleren (rS=0,66, p=0,07) Kontrastmittelaufnahme. Bei Lungenrundherden vom Kurventyp 4 war aufgrund der geringen Fallzahl (n=4) ein Vergleich nicht sinnvoll.

### **3.3.6. Korrelation der Ergebnisse des VEGF-Scores mit den Ergebnissen der MRT-Untersuchung**

Zwischen dem VEGF-Score und den MRT-Parametern konnten teils signifikante Zusammenhänge gefunden werden.

<b>Variablen Histologie</b>	<b>Variablen MRT</b>	<b>Spearman Rho (rS)</b>	<b>p-Wert</b>
VEGF-Score	E <sub>early</sub> (SI%)	<b>0,57</b>	<b>0,0002</b>
VEGF-Score	E <sub>max</sub> (SI%)	<b>0,52</b>	<b>0,0007</b>
VEGF-Score	E <sub>mean</sub> (SI%)	<b>0,46</b>	<b>0,003</b>
VEGF-Score	Slope (SI%/s)	<b>0,61</b>	<b>&lt;,0001</b>
VEGF-Score	wash-out (%/s)	<b>-0,52</b>	<b>0,0006</b>
<b>Fett gedruckt: Korrelationen mit p ≤ 0,05</b>			

**Tabelle 26: Vergleich VEGF-Score und MRT-Parameter.**

Wie in Tabelle 26 zu sehen, war zwischen Slope und dem VEGF-Score ein relevanter Zusammenhang zu finden (rS=0,61, p<0,0001). Mäßig positive Zusammenhänge fanden sich bei E<sub>early</sub>, E<sub>max</sub>, E<sub>mean</sub>.

Zwischen dem wash-out und dem VEGF-Score gab es einen mäßig negativen Zusammenhang (rS=-0,52, p<0,0006).

Es konnte ebenfalls ein Zusammenhang zwischen den Kurvenprofilen und dem VEGF-Score gefunden werden. (rS = 0,65, p <0,001).

### **3.3.7. Korrelation der Morphologie-Parameter der histologischen und magnetresonanztomographischen Analyse**

Die Kapillarverteilung der Lungenrundherde (histologische Morphologie) zeigte zum Teil deutliche Übereinstimmungen mit der morphologischen Einteilung der MRT-Daten (siehe Tabelle 27).

Rundherde, die im MRT eine Kontrastmittelaufnahme vom „Gefäßcluster“-Typ aufwiesen (13 Fälle), zeigten dieses Muster auch in 7 Fällen (54%) bei der histologischen Einteilung.

Bei den 4 Lungenrundherden, die im MRT als randbetont klassifiziert wurden, fand sich dieses Muster auch in 4 Fällen bei der histologischen Analyse. Die 4 Lungenrundherde, die im MRT keine Kontrastmittelaufnahme zeigten, wurden in der histologischen Untersuchung alle als randbetont klassifiziert.

Bei der Einteilung in die Kategorien der homogenen und inhomogenen Lungenrundherde waren größere Abweichungen zu finden. Es fanden sich bei jeweils 4 homogenen und inhomogenen Lungenrundherden positive Übereinstimmungen mit den MRT-Ergebnissen.

Insgesamt fand sich in 25 von 39 Fällen (64%) eine Übereinstimmung bei Zusammenfassung der Lungenrundherde mit inhomogener/homogener und randbetonter/keiner Kontrastmittelaufnahme.

	<b>Gefäßcluster (Histologie)</b>	<b>randbetont (Histologie)</b>	<b>homogen (Histologie)</b>	<b>inhomogen (Histologie)</b>
<b>Gefäßcluster (MRT)</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>Keine Aufnahme (MRT)</b>	0	<b>4</b>	0	0
<b>randbetont (MRT)</b>	0	<b>4</b>	0	0
<b>homogen (MRT)</b>	<b>3</b>	0	<b>4</b>	<b>1</b>
<b>inhomogen (MRT)</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>4</b>

**Tabelle 27: Korrelation der Morphologie-Parameter der histologischen und radiologischen Analyse.**

### **3.4. Analyse des Entscheidungsbaumes**

Eine Zuordnung zu benignen oder malignen Befunden lies sich bei 25 von 39 (64%) Lungenrundherden nur mittels Einteilung nach Kurventypen erreichen. Dies war bei Lungenrundherden vom Kurventyp 1, 3 und 4 der Fall. In der Gruppe der Lungenrundherde mit Kurventyp 1 fanden sich, wie in der histologischen Untersuchung bestätigt wurde, nur maligne Befunde. In der Gruppe der Lungenrundherde vom Kurventyp 3 und 4 fanden sich, wie ebenfalls mittels der histologischen Untersuchung bestätigt, nur benigne Befunde. Lungenrundherde vom Kurventyp 1, 3 und 4 konnten somit bereits mittels Schwellenwerten bei der Kontrastmittelaufnahme im MRT zweifelsfrei in benigne und maligne Befunde unterteilt werden.

Bei den verbleibenden Rundherden vom Kurventyp 2 ließen sich mit zusätzlicher Einteilung in die Kontrastmittel-Morphologie 12 Befunde klar als benigne und maligne zuordnen. Somit konnten insgesamt 37 der 39 (94,8%) Lungenrundherde mit Hilfe des Entscheidungsbaumes korrekt als benigne oder maligne klassifiziert werden (siehe auch Abbildung 19).

Insgesamt ergaben sich bei der Einteilung in benigne und maligne Befunde eine Sensitivität, Spezifität und Zielgenauigkeit von 100% (23/23), 75% (12/16) und 94,8% (37/39).

Ergänzend wurde die Übereinstimmung mit den Ergebnissen der morphologischen Kapillarverteilung bei den Lungenrundherden vom Kurventyp 2 und 3 berechnet. Diese betrug insgesamt 68% (71% bei Kurventyp 2 und 62% bei Kurventyp 3) bei Zusammenfassen der Gruppe der homogenen und inhomogenen Befunde.



#### **4. Diskussion**

Unter Angiogenese versteht man die Neubildung von Blutgefäßen und Kapillaren im Rahmen eines physiologischen oder pathologischen Prozesses. Sie ist auch ein natürlicher Prozess während der Wundheilungsphase der die Blutzufuhr steigert, und somit eine Erhöhung der Konzentration an Nährstoffen für den Heilungsprozess bewirkt [90]. Die Angiogenese ist deshalb nicht zwangsläufig mit malignen Prozessen verknüpft und tritt auch bei benignen (z.B. entzündliche Reaktionen) sowie präkanzerösen Prozessen auf [91].

Seit den Studien von Folkman et al. [54] ist bekannt, dass Tumoren eine Größe von 1-2mm durch alleinige Diffusion der Nährstoffe erreichen können. Dies ist die sogenannte prävasculäre Phase. Um dem Tumor weiteres Wachstum zu ermöglichen, müssen die Endothelzellen angiogenetische Faktoren (z.B. CD34, Faktor VIII, VEGF) produzieren, um eine „Aussprossung“ neuer Kapillaren zu bewirken [54, 92, 93]. Dieser Prozess wird auch als vaskuläre Phase bezeichnet. Es ist noch nicht genau entschlüsselt, wie der Prozess der Angiogenese bei den verschiedenen Tumorarten, ob benigne oder maligne, genau abläuft. Ziel dieser Arbeit ist daher auch zu versuchen Teilaspekte, die bei der Angiogenese eine Rolle spielen, mit Hilfe der Magnetresonanztomographie besser zu verstehen.

Die Angiogenese spielt eine wichtige Rolle beim Tumorgrading und hat auch eine prognostische Bedeutung [94-97]. Die mittlere Kapillardichte bei Patienten mit einem Rezidiv bei Adenokarzinomen der Lunge war in der Studie von Yamazaki et al. signifikant höher als bei denjenigen ohne Rezidiv [95]. Auch zeigte sich in anderen Studien, dass das Ausmaß der Kontrastmittelanreicherung ein prädiktiver Faktor für einen Lymphknotenbefall bei primären Lungenkarzinomen sein kann [98, 99].

Kleinzellige Karzinome, welche mit einem Anteil von ca. 20% bei den malignen Lungenrundherden zu finden sind, waren in dieser Studie nicht vertreten. Dies liegt daran, dass die kleinzelligen Bronchialkarzinome eine sehr rasche Prolife-

ration und frühe Metastasierung aufweisen. Auch beim Vorliegen einer klinisch noch begrenzten Erkrankung ist bereits eine Mikrometastasierung in verschiedenen Organen anzunehmen [100]. Kleinzellige Bronchialkarzinome sind deshalb meist eine Indikation zur systemischen Chemotherapie. Diese wird in Abhängigkeit von der Tumorausbreitung durch eine Radiotherapie [101, 102] und/oder seltener eine chirurgische Therapie [103] ergänzt. Bei den drei in die MRT-Studie eingeschlossenen Patienten mit einem kleinzelligen Karzinom erfolgte nur eine Biopsie zur Diagnosesicherung und keine operative Resektion, da die Erkrankungen bereits zu weit fortgeschritten waren. Somit waren diese Patienten für die histologische Analyse nicht geeignet.

Bei der Auswertung der histologischen Ergebnisse der Kapillardichte, immunhistochemisch angefärbten Fläche, VEGF-Expression sowie Zellproliferationsrate zeigten sich bei den meisten Parametern signifikante Unterschiede zwischen malignen und benignen Lungenrundherden, wobei die malignen Befunde stets höhere Werte aufwiesen. Unterschiede fanden sich bei der Kapillardichte im Zentrum (Wilcoxon-Test;  $p=0,001$ ) sowie bei der immunhistochemisch angefärbten Fläche im Zentrum ( $p<0,0001$ ). Des Weiteren wurden signifikante Unterschiede bei der durchschnittlichen ( $p=0,005$ ) und maximalen Kapillardichte ( $p=0,05$ ) sowie der durchschnittlichen immunhistochemisch angefärbten Fläche ( $p=0,007$ ) gefunden. Die Expression von Ki-67 ( $p<0,0001$ ) und der VEGF-Score ( $p=0,0005$ ) unterschieden sich ebenfalls signifikant zwischen benignen und malignen Lungenrundherden. Als VEGF-positiv wurden nur maligne Tumoren klassifiziert.

Die im Gegensatz zu benignen Prozessen stärkere Vaskularisation, die sich zum Beispiel in einer höheren Kapillardichte niederschlagen kann, ermöglicht malignen Tumoren ein schnelleres Wachstum. Maligne Tumorzellen schütten in großem Umfang angiogenetische Faktoren aus, die ihnen ein rasches Wachstum, und, bedingt durch die oft frühzeitige und ausgeprägte Metastasierung, eine schnelle Ausbreitung im gesamten Organismus ermöglichen können [54, 93, 104].

Die Kapillardichte am Rand war in dieser Studie bei den meisten Lungenrundherden höher als im Zentrum, was schon in einer früheren Studie beim Mammakarzinom festgestellt wurde [53]. Dies kann unter anderem damit zusammenhängen, dass maligne Tumoren Kapillaren am Rand ausbilden, um die Sicherstellung mit Nährstoffen, sowie weiteres Wachstum zu ermöglichen [54]. Auch bei benignen Lungenrundherden fand sich zumeist eine höhere Kapillardichte am Rand als im Zentrum. Dies kann durch entzündliche Veränderungen bedingt sein, wie sie z.B. bei Fremdkörpergranulomen auftreten. Bei Tuberkulomen kommt es zu einer Abkapselung mit zentraler Verkäsung. Hamartochondrome weisen eine fibrotische Umwandlung des Zentrums auf, sodass nur noch die Peripheriebezirke durchblutet werden und Kapillaren in großer Zahl aufweisen [3].

Obwohl die meisten malignen Tumoren eine höhere Kapillarzahl am Rand als im Zentrum aufwiesen, gab es auch Tumoren, bei denen sich eine Kapillarverteilung in Form eines oder mehrerer „focal hot spots“ fand. Dies zeigte sich bei der histologischen Auswertung unter anderem bei 6 von 9 primären Adenokarzinomen und bei 3 von 5 primären Plattenepithelkarzinomen der Lunge. Die „focal hot spots“, als typisches Charakteristikum maligner Tumoren, wurden bereits in vorherigen Studien beschrieben [63, 83, 105]. Die Kapillarverteilung ist bei malignen Lungenrundherden häufig inhomogen. Als Extremform zeigen sich sogenannte fokale angiogenetische Areale, während der Rest des Tumors gefäßarm sein kann. Dies findet sich eher selten bei benignen Läsionen. Dieses morphologische Profil („Gefäßcluster-Typ“) zeigte sich in der magnetresonanztomographischen Analyse bei 13 malignen und in der histologischen Analyse bei 12 malignen Lungenrundherden. Bei benignen Rundherden trat diese Form der Kapillarverteilung nur bei 2 Hamartochondromen bei der morphologischen Klassifizierung mittels MRT, nicht aber bei der lichtmikroskopischen Auswertung, auf.

Bei der Ermittlung der immunhistochemisch angefärbten Fläche zeigte sich ebenfalls ein klarer Unterschied zwischen malignen und benignen Befunden.

Diese Methode stellt eine andere Möglichkeit dar, die Angiogenese zu quantifizieren und korrelierte daher in unserer Studie auch nur teilweise signifikant mit der Kapillardichte. Dies war im Zentrum ( $r_S=0,86$ ,  $p<0,0001$ ) sowie bei der mittleren Kapillardichte ( $r_S=0,64$ ,  $p<0,0001$ ) der Fall. Zusammenhänge zwischen diesen beiden Methoden wurden davor schon in anderen Arbeiten, die sich mit unterschiedlichen Quantifizierungsmethoden der Angiogenese („manuelle, lichtmikroskopische“ versus „automatisierte, computerunterstützte“ Analyse) beschäftigt haben, gefunden [63, 85, 106, 107].

Bei der histologischen Auswertung zeigte sich zudem, dass die Streubreite der Ergebnisse bei Lungenrundherden mit der gleichen histologischen Diagnose zum Teil sehr groß war. Dies traf für die lichtmikroskopische Auszählung sowie für die Analyse der immunhistochemisch angefärbten Fläche zu. Diese Ergebnisse zeigten sich schon in anderen Studien [46, 53, 61]. Die Angiogenese wird von vielen Faktoren wie zum Beispiel Tumortyp, histologischer Differenzierung oder auch der Durchblutungssituation beeinflusst und kann somit intra- und interindividuell sehr variabel sein. Gründe hierfür können auch ein unterschiedlicher Differenzierungsgrad bei malignen Rundherden oder eine unterschiedlich stark ausgeprägte entzündliche Reaktion bei benignen Prozessen sein [40, 46, 51, 63].

Zusätzlich zur Angiogenese wurde die Zellproliferationsrate bestimmt, welche sich durch einen Antikörper gegen das Ki-67-Antigen in Zellkernen bestimmen lässt. Ki-67 ist ein monoklonaler Antikörper, welcher selektiv das Ki-67-Protein markieren kann. Er stellt spezifisch diejenigen Zellen dar, die sich gerade in der Teilungsphase ( $G_1$ , S,  $G_2$  sowie M-Phasen) befinden. Bei verschiedensten menschlichen Tumoren, wie z.B. dem Mammakarzinom, wurde die Bedeutung dieses Markers in der histologischen Klassifizierung (Tumorart, Tumordifferenzierungsgrad) genutzt [66, 70, 108-110].

Die Ergebnisse unserer Studie lagen in ähnlichen Größenordnungen wie die Ergebnisse anderer Forschungsgruppen [70, 87], was die Zellproliferationsrate bei malignen Lungentumoren betraf. Plattenepithelkarzinome zeigten durch-

gehend höhere Aktivitätsraten als Adenokarzinome oder Karzinoide. Bei Adenokarzinomen befanden sich 22 %, bei Plattenepithelkarzinomen 62 % aller Tumorzellen in der Teilungsphase. Eine Ausnahme, wie auch schon bei der Kapillardichte, zeigte hier das Karzinoid (7%). Von diesem malignen Tumortyp war leider nur ein Patient in der Studie vertreten, sodass hier keine eindeutige Erklärung für den niedrigen Wert gegeben werden kann. Es ist aber bekannt, dass sich Karzinoide durch niedrige Zellteilungsraten auszeichnen können [111]. Die Medianwerte der benignen Befunde waren aufgrund der anzunehmenden, niedrigeren Teilungsaktivität signifikant niedriger (Hamartochondrome 3 %, entzündlich bedingte Läsionen 2 %, Lymphknoten Einzelwert 14 %).

Weiterhin wurde die Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) bestimmt. VEGF als Heparin-bindendes Zytokin beeinflusst unter anderem die Kapillarpermeabilität, indem es in der Lage ist, selektiv die Mitoserate der Kapillarendothelien anzuregen [55]. Der Median des VEGF-Scores für maligne Tumoren lag bei 2 (IQS 2-4) Punkten. Bis auf eine Ausnahme (Hamartochondrom, 2 Punkte) fand sich keine Expression bei benignen Herden. Die immunhistochemische Färbung auf Vascular Endothelial Growth Factor reagierte nur bei malignen Lungenrundherden ausreichend stark, um diese als VEGF-positiv zu klassifizieren. Dies war bei 44,4% der primären Adenokarzinome, einem Karzinoid sowie 60 % der Adenokarzinometastasen der Fall. Somit ergaben sich bei 39 untersuchten Lungenrundherden 8 VEGF-positive Befunde (20,5%).

Dies deckt sich mit Ergebnissen aus anderen Studien, sowohl was den VEGF-positiven Anteil bei den Adenokarzinomen [25] als auch die Expression bei histologisch unterschiedlichen Lungentumoren anbelangt [112]. In der Studie von Tsao et al. [112] wurde festgestellt, dass Plattenepithelkarzinome, im Gegensatz zu Adenokarzinomen und Karzinoidtumoren, VEGF gar nicht oder nur sehr schwach exprimieren.

Bei Betrachtung der Ergebnisse der Kontrastmittelaufnahme im MRT zeigten sich, wie in der Histologie auch, signifikante Unterschiede zwischen den malignen und benignen Lungenrundherden. Die malignen Rundherde nahmen durchweg, das heißt in der Frühphase ( $E_{\text{early}}$ ), im Durchschnitt ( $E_{\text{mean}}$ ) sowie Maximal ( $E_{\text{max}}$ ) signifikant stärker Kontrastmittel auf als benigne Läsionen (Wilcoxon-Test;  $p < 0,0001$ ). Genauso verhielt es sich bei der Kontrastmittelanflutungsgeschwindigkeit (Slope, Wilcoxon-Test;  $p < 0,0001$ ). Maligne Tumoren zeigten zudem häufiger das wash-out-Phänomen (Wilcoxon-Test,  $p < 0,002$ ), das heißt ein Auswaschen des Kontrastmittels aus dem Rundherd, welches am Abfall der Signalintensitätskurve zu erkennen war. Diese Ergebnisse lagen in ähnlichen Größenordnungen wie bei früheren Studien mittels MRT oder CT [20, 21, 24, 35, 38].

Dennoch ist immer noch unklar, welche histologischen Parameter die Kontrastmittelaufnahme im MRT beeinflussen oder widerspiegeln. Die Kapillardichte oder die Kapillarpermeabilität sind, wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, nicht alleine für die Kontrastmittelaufnahme verantwortlich. Es ist bekannt, dass die Kontrastmittelaufnahme im MRT von vielen Faktoren beeinflusst werden kann [51]. Die Perfusion des Tumors, die histologische Kapillardichte, die Kapillarpermeabilität sowie die Verteilung des Kontrastmittels im Interstitium spielen dabei eine unterschiedlich große Rolle [40]. Auch die Funktionsweise des Kontrastmittels in der MRT (Interaktion mit Wassermolekülen), welche anderen Gesetzmäßigkeiten wie im CT folgt (direkte, quantitative Darstellung des Kontrastmittelflusses im Tumor), ist ein wichtiger Faktor. Bei malignen Lungenrundherden findet sich zum einen häufig eine starke Durchlässigkeit der Kapillarmembran. Zum anderen können nekrotische Areale, meist im Zentrum des Tumors auftreten, welche zu einem erhöhten Austritt des Kontrastmittels ins Interstitium führen können. Dies sind ähnliche Mechanismen die bei malignen Tumoren, bedingt durch geschädigtes Kapillarendothel, eine hohe Metastasierungsrate bedingen können [113]. Das Kapillarendothel ist bei malignen Tumoren zudem viel dünner und es können die stabilisierenden Pe-

rizyten fehlen [90]. Auch kann der biochemische Aufbau der Basalmembran bei malignen Tumoren zusätzlich noch deren Durchlässigkeit erhöhen [93].

Beim MRT scheint außerdem eine schnelle und starke Kontrastmittelaufnahme (entspricht in dieser Arbeit dem Kurventyp 1) mit einer hohen Kapillardichte oder auch starker interstitieller Akkumulation des Kontrastmittels einherzugehen. Maligne Tumoren zeigten bereits in vorherigen Studien dieses histologische Profil [77, 96, 97, 114-116].

Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang, dass maligne Tumoren nicht zwangsläufig eine hohe Zahl neuer Kapillaren bilden. Dies wurde in der Studie von Pezzella et al. gezeigt [117]. In dieser fand sich bei 80 von 500 (16%) untersuchten primären Lungenkarzinomen keine überdurchschnittliche Kapillarneubildung. Auch ist bekannt, dass entzündliche Rahmenbedingungen ebenfalls eine erhöhte Kapillardichte bei malignen Tumoren bewirken und Einfluss auf die Kontrastmittelaufnahme nehmen können [23, 38]. Aus diesem Grund ist auch eine gewisse Überschneidung beim Umfang der Kapillardichte zwischen benignen und malignen Rundherden nicht ungewöhnlich [21, 118]. Diese Ergebnisse könnten ferner die teils große Variabilität bei der Kontrastmittelaufnahme, auch desselben histologischen Typus, erklären. Ein weiterer Faktor, der die Aufnahme des Kontrastmittels beeinflussen kann, ist die arterielle Versorgung der Lungenrundherde. Diese kann durch die doppelte Blutversorgung der Lunge (A. pulmonalis und Aa. bronchiales) variieren. Auch spielt die Lokalisation des Tumors (zum Beispiel Hilusnah oder Hilusfern) eine entscheidende Rolle [115].

Die Auswertung der MRT-Ergebnisse zeigte, dass 13 maligne Lungenrundherde nach initial starkem Anstieg der Signalintensität kurz darauf einen deutlichen Abfall ( $>0,1$  SI%/s) dieser aufwiesen. Dieses als wash-out bekannte Phänomen wurde schon in früheren Studien bei einer Vielzahl von Tumoren mit Zeichen der Hypervaskularisation beobachtet [30, 119, 120]. Für die malignen Lungenrundherde ergab sich somit eine Spezifität von 100%, wenn man für den wash-out einen Grenzwert von  $0,1$  SI %/s setzte. Diesen Wert erreichte kein benigner Lungenrundherd. Der wash-out scheint somit ein wichtiger

Parameter zur Differenzierung von malignen und benignen Lungenrundherden zu sein.

Im Gegensatz zu computertomographischen Untersuchungen sind die Ergebnisse der Magnetresonanztomographie schwerer miteinander zu vergleichen. Vor allem, wenn unterschiedliche Geräte und Sequenzparameter eingesetzt werden, da die Höhe der Schwellenwerte zur Differenzierung unter anderem von der gewählten Feldstärke, dem Sequenztyp sowie anderer Parameter abhängt. Aus diesem Grund wurde in dieser Studie eine von Schwellenwerten unabhängige Analyse in Form von Aufnahmeprofilen, welche auch eine visuelle Beurteilung erlauben, vorgenommen.

Kurventyp 1 wurde nur in 13 malignen Lungenrundherden gefunden. Bei Adenokarzinomen sogar in 70% der Fälle. Bei Plattenepithelkarzinomen wurde dieses Profil nur in  $\frac{1}{3}$  der Fälle gefunden. Diese Ergebnisse könnten durch die Unterschiede bei der Kapillardichte oder anderen histologischen Faktoren dieser zwei Tumorarten erklärt werden, die sich bereits in anderen Studien zeigten [121, 122]. In der vorliegenden Studie wurde bei den Adenokarzinomen ein Median von  $46 \text{ MV/mm}^2$  der maximalen Kapillardichte errechnet. Bei den Plattenepithelkarzinomen betrug dieser  $35 \text{ MV/mm}^2$ .

Der Kurventyp 2 umfasste 10 maligne und 4 benigne Lungenrundherde. Dieser Kurventyp war, bis auf durch entzündliche Reaktionen bedingte Läsionen sowie Karzinoide, bei fast allen Diagnosen vertreten. Der Anstieg und Abfall der Kontrastmittelkurve war hier weniger stark als bei Kurventyp 1 und könnte für eine erhöhte Kapillarpermeabilität sowie ein erhöhtes interstitielles Zellvolumen sprechen.

Kurventyp 3 umfasste 8 benigne Läsionen. Hier zeigte sich eine kontinuierliche, langsame Kontrastmittelaufnahme.

Kurventyp 4 zeigte bei der Untersuchung keine Kontrastmittelaufnahme und wurde ebenfalls nur bei benignen Lungenrundherden (4 Befunde) gefunden.

Mit Hilfe der Einteilung der Signalkinetik in vier Kurvenprofile ist es somit möglich, den komplexen Prozess der Gewebedurchblutung beim MRT für die klinische Anwendung stark zu vereinfachen. Dies ist auch ein wichtiger Schritt, um

die Unterscheidung in benigne und maligne Läsionen der Lunge von der verwendeten MRT-Technik unabhängiger zu machen.

Zur Einteilung der Kontrastmittelaufnahme und Angiogeneseaktivität wurden die Rundherde zusätzlich in 5 Gruppen (Gefäßcluster, randbetont, homogen, inhomogen, keine Aufnahme) beim MRT sowie in 4 Gruppen (Gefäßcluster, randbetont, homogen, inhomogen) in der Histologie eingeteilt. Es erfolgte eine Einteilung der Kontrastmittelaufnahmecharakteristik und der Kapillarverteilung nach Augenmaß. Dies ist ein schon länger eingesetztes Verfahren [46, 123].

Weiter lies sich feststellen, dass die Differenz zwischen der Kapillardichte am Rand und im Zentrum bei gutartigen Lungenrundherden größer als bei malignen war. Die Kapillardichte pro Zählfeld betrug bei benignen Läsionen 27 MV am Rand und 14 MV im Zentrum. Bei malignen Tumoren wurden 31 MV am Rand und 27 MV im Zentrum gefunden. Dies könnte durch eine aktive Entzündungszone in der Peripherie erklärt werden. Eine periphere Kontrastmittelanreicherung im MRT bei benignen Läsionen wurde bereits in früheren Studien gefunden und als kapsuläre Anreicherung oder Randsaum bezeichnet [22, 35]. Inwiefern dieses Merkmal als spezifisches Zeichen für nicht maligne Prozesse gedeutet werden kann, wurde bis jetzt noch nicht endgültig geklärt [51, 124]. Theoretisch könnten die Peripherie sowie der zentrale Bereich gesondert in der MRT analysiert werden. Praktisch ergeben sich aber vor allem bei kleinen Lungentumoren Schwierigkeiten bei der Standardisierung sowie der Reliabilität, weshalb bei der vorliegenden Arbeit der gesamte Tumorbereich in die magnetresonanztomographische Messung einbezogen wurde.

Die Kontrastmittelverteilung vom "Gefäßcluster"-Typ war bei Lungenrundherden mit einzelnen Arealen erhöhter Kapillardichte und/oder erhöhter Durchblutung verknüpft. Durch die heutzutage mögliche hohe Auflösung der MRT-Bilder ist somit, trotz niedriger örtlicher, dafür aber hoher zeitlicher Auflösung, eine genaue Darstellung dieser sogenannten „focal hot spots“ möglich [45-47]. Dieses Aufnahmeverhalten im MRT wurde in 13 malignen, aber nur in 2 benignen Lungenrundherden gefunden. Nekrotische oder fibrotische Areale, wel-

che in benignen und malignen Befunden zu finden waren, könnten ferner das Kontrastmittelaufnahmeprofil vom inhomogenen Typ beim MRT erklären. Dieser Typ scheint eher unspezifisch zu sein. Lungenrundherde mit homogener Aufnahme fanden sich ebenfalls in benignen und malignen Rundherden wieder. Keine Aufnahme des Kontrastmittels im MRT zeigten nur gutartige Läsionen (3 Hamartochondrome und 1 Tuberkulom), wohl bedingt durch einen fibrotischen Umbau oder Abkapselungsprozesse.

Es zeigten sich eindeutige Zusammenhänge zwischen der Morphologie der Kapillarverteilung und Kontrastmittelaufnahme. Die mittels MRT in Form von „Gefäßclustern“ (Kapillarinseln) gesehene Kontrastmittelanreicherung wurde in 7 von 13 Fällen (54%) durch die histologische Analyse bestätigt. Bei Lungenrundherden, die im MRT als randbetont klassifiziert wurden, fand sich dieses Muster in 4 von 4 Fällen (100%) bei der histologischen Analyse. Bei der Einteilung in die Kategorien der homogenen und inhomogenen Lungenrundherde waren größere Abweichungen zu finden. Es fanden sich bei 4 von 8 homogenen (50%) und 4 von 9 (44,4%) inhomogenen Lungenrundherden positive Übereinstimmungen. Insgesamt fand sich in 25 von 39 Fällen (64%) eine Übereinstimmung bei Zusammenfassen der Lungenrundherde mit inhomogener/homogener und randbetonter/keiner Kontrastmittelaufnahme. Kontrastmittelverstärkte MRT-Sequenzen spiegeln somit zum Großteil die grobe, histologische Kapillarverteilung in den Lungenrundherden wider.

Der Vergleich diverser MRT-Parameter (vor allem der Kontrastmittelaufnahme) mit der Tumorphistologie war schon Ansatzpunkt vieler internationaler Studien [39, 40, 49]. Dabei wurden bei Tumoren wie z.B. der Cervix [40, 49], der Mamma [125] oder auch der Prostata [126] relevante Zusammenhänge gefunden. In dieser Arbeit fanden sich beim Vergleich der Gesamtwerte keine streng linearen Zusammenhänge zwischen der Kontrastmittelaufnahme im dynamischen MRT und der Angiogenese. Auch bei zusätzlicher Einteilung in benigne und maligne Befunde fanden sich keine relevanten Zusammenhänge. Mäßig positive Zusammenhänge wurden z.B. zwischen dem Maximalwert der Kon-

trastmittelaufnahme und der mittleren Kapillardichte gefunden ( $r_S=0,41$ ,  $p=0,01$ ). Ähnliche Ergebnisse mit nur mäßig positiver Korrelation zeigten sich bereits in Studien von anderen Forschungsgruppen mittels CT [118] oder MRT [127]. Im Gegensatz zu unserer Studie wurden bei der Kontrastmittelanflutungsgeschwindigkeit (Slope) deutliche Zusammenhänge gefunden. Aufgrund der in diesen Studien bei den Messungen verwendeten zeitlichen Auflösung von 1 Minute, welche bei unserer Studie dagegen 10 Sekunden betrug, sind die Ergebnisse allerdings nicht direkt vergleichbar. Bei der Studie von Tateishi et al. [25], in der Adenokarzinome mittels CT untersucht wurden, zeigte sich dagegen kein klarer Zusammenhang zwischen der maximalen Kontrastmittelaufnahme und der mittleren Kapillardichte. Diese unterschiedlichen Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die Kontrastmittelaufnahme stark von der Untersuchungstechnik sowie weiteren, teils unbekanntem Faktoren beeinflusst werden kann.

In der Computertomographie wird zudem im Vergleich zum MRT bei der Verwendung des mediastinalen Fensters im transversalen Schnitt nur ein Bereich von 50-80% des zu untersuchenden Lungenrundherdes erfasst [21, 23, 24, 118]. Gerade die Unterschätzung der Herdperfusion in der Peripherie könnte eine Ursache für die relevant geringere Spezifität des dynamischen CT im Vergleich zur MRT sein, da hier zur Vermeidung von starken Messfehlern weiche Faltungskerne verwendet wurden. Dies hat zur Konsequenz, dass aufgrund des Partialvolumeneffektes nur die zentralen Abschnitte des Herdes gemessen werden können und die Reproduzierbarkeit der Messung bei kleinen Herden stark abnimmt. Zukünftig sollen 3D-Verfahren hier eine bessere Reproduzierbarkeit erbringen. Umgekehrt lässt sich aufgrund des hohen Kontrastunterschiedes in der MRT der Befund komplett und genauer erfassen.

Eine Unterscheidung zwischen benignen und malignen Lungenrundherden anhand von Schwellenwerten bei der Kontrastmittelaufnahme wurde bereits von verschiedenen Forschungsgruppen im CT sowie im MRT durchgeführt [21, 24, 35, 38, 118, 128]. Unseres Wissens nach existiert bisher nur eine einzige Studie, welche CT und MRT miteinander verglichen hat [129]. Diese Stu-

die bestätigte frühere Forschungsergebnisse, welche die Magnetresonanztomographie in Bezug auf die Unterscheidung im Vorteil sahen.

Die Vorgehensweise bei dieser Studie unterschied sich von vorherigen Studien. Zur genaueren Charakterisierung der Tumorperfusion wurden, wie oben beschrieben, zusätzlich verschiedene Kontrastmittelaufnahmeprofile verwendet. Mit Hilfe dieser Kurventypen sowie der zusätzlichen morphologischen Klassifizierung konnte in dieser Studie eine Einteilung in maligne und benigne Befunde mit einer Sensibilität von 100%, einer Spezifität von 75% und einer Zielgenauigkeit von 94,8% erreicht werden.

Bei Mamma-Tumoren wurde erstmalig eine Beziehung zwischen dynamischen MRT-Untersuchungen und der Kapillardichte bei zusätzlicher Eingruppierung in Kurvenprofile (mittels Schwellenwerten) gezeigt [46, 50]. Eine Klassifizierung der Kontrastmittelaufnahme in Lungenrundherden mittels Einteilung in Kontrastmittelaufnahmeprofile wurde bisher von keiner Forschungsgruppe vorgenommen.

Dabei wurden in der vorliegenden Studie teilweise relevante Unterschiede bei zusätzlicher Eingruppierung in die vier Kurventypen gefunden. Diese zeigten sich bei malignen Lungenrundherden mit wash-out-Phänomen (Kurventyp 1) sowie bei benignen Lungenrundherden mit nur schwacher Kontrastmittelaufnahme (Kurventyp 3).

Tumoren vom Kurventyp 1 wiesen bei der Kapillardichte am Rand ( $MVD_{\text{Margin}}$ ) mit der maximalen ( $E_{\text{max}}$ ;  $rS=0,66$ ,  $p=0,01$ ) sowie durchschnittlichen ( $E_{\text{mean}}$ ;  $rS=0,66$ ,  $p=0,01$ ) Kontrastmittelaufnahme signifikante Zusammenhänge auf. Die histologischen Schnitte und ein Teil der MRT-Sequenzen von einem Lungenrundherd mit diesem Kurventyp sind in den Abbildung 20 und 23 abgebildet. Kurventyp 1 zeichnete sich durch eine rasche Kontrastmittelaufnahme mit anschließendem Abfall der Signalintensität aus. Dieser Typ beinhaltete nur maligne Tumoren. Die Zusammenhänge könnten mit dem deutlich höheren Grad an Gefäßneubildungen in der Peripherie im Gegensatz zum zentralen Bereich zusammenhängen. Dies kann zu einem raschen Abfluten des Kontrastmittels führen [95].

Bei malignen Lungenrundherden von Kurventyp 1 zeigten sich keine Zusammenhänge zwischen Kontrastmittelaufnahme und Kapillardichte im Zentrum. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass maligne Tumoren im Zentrum häufig nekrotische Anteile besitzen und dort nicht sehr gut durchblutet sind. Diese nekrotischen Anteile können u.a. die Diffusion des Kontrastmittels in den Interstitialraum des Tumors behindern und somit zu verfälschten Ergebnissen führen. Der Anteil an nekrotischem Tumorgewebe wurde für unsere Arbeit nicht evaluiert, da die meisten Lungenrundherde von geringer Ausdehnung waren und in diesen keine Nekrosen beobachtet wurden.

Lungenrundherde vom Kurventyp 2 zeigten keinen Abfall der Signalintensität nach 30s sondern einen weiteren, leichten Anstieg der Kontrastmittelaufnahme über den gesamten Messzeitraum. Bei diesem Typ wurden keine relevanten Zusammenhänge zwischen den MRT-Parametern sowie der Kapillardichte und der immunhistochemisch angefärbten Fläche gefunden. In den Abbildungen 21 und 23 sind histologische Schnitte sowie MRT-Befunde eines Patienten aus dieser Gruppe mit einem Plattenepithelkarzinom abgebildet. Dies zeigt, dass die Kontrastmittelaufnahme nicht zwingend mit der Vaskularisierung eines Tumors zusammenhängen muss. Stattdessen schienen hier Faktoren wie die Ausdehnung des Interstitiums oder eine erhöhte Kapillarpermeabilität eine entscheidende Rolle zu spielen. Maligne Tumoren weisen zudem eine unterschiedlich hohe Rate an durch Tumorphiliferation veränderten Ursprungsgefäßen im Gegensatz zu neu entstandenen Tumorgefäßen auf. Diese zwei Arten von Gefäßen weisen unterschiedliche Strömungsprofile auf und könnten eine entscheidende Rolle bei den Unterschieden in der Kontrastmittelaufnahme spielen. Allerdings sind diese zwei Gefäßarten nicht durch eine Färbung mittels Faktor-VIII-Antikörpern zu unterscheiden [95].

Lungenrundherde vom Kurventyp 3 zeichneten sich durch eine langsam ansteigende, kontinuierliche Kontrastmittelaufnahme aus. Bei der Korrelation der Kapillardichte im Zentrum mit  $E_{\max}$  ( $rS=0,69$ ,  $p=0,07$ ) und  $E_{\text{mean}}$  ( $rS=0,69$ ,  $p=0,06$ ) waren relevante, allerdings nicht signifikante Zusammenhänge zu finden. Beim Vergleich der durchschnittlichen Kapillardichte mit  $E_{\max}$  ( $rS=0,86$ ,

$p=0,006$ ) und  $E_{\text{mean}}$  ( $rS=0,87$ ,  $p=0,005$ ) fanden sich signifikante Zusammenhänge. Relevante Zusammenhänge zeigten sich auch zwischen der immunhistochemisch angefärbten Fläche im Zentrum ( $\text{ISS}\%_{\text{Center}}$ ) mit  $E_{\text{max}}$  ( $rS=0,66$ ,  $p=0,08$ ) sowie mit  $E_{\text{mean}}$  ( $rS=0,67$ ,  $p=0,07$ ).

Die Lungenrundherde des Kurventyps 3 waren ausschließlich benigne. Es ist anzunehmen, dass die Durchblutungsverhältnisse durch das langsamere und geregelte Wachstum klarer strukturiert sind und somit die Kontrastmittelaufnahme besser widerspiegeln.

Bei der Korrelation der maximalen Kapillardichte ( $\text{MVD}_{\text{Max}}$ ) mit der Kontrastmittelanflutungsgeschwindigkeit (Slope) zeigte sich bei Lungenrundherden vom Kurventyp 3 ebenfalls ein relevanter Zusammenhang ( $rS=0,67$ ;  $p=0,07$ ).

Dies könnte dadurch erklärt werden, dass eine hohe Anzahl an Kapillaren zu einer rascheren Anflutung des Kontrastmittels führen kann. Leider fand sich dieses Ergebnis nur bei Lungenrundherden vom Kurventyp 3 und wurde bei Lungenrundherden vom Kurventyp 1 nicht gefunden. Ein Grund könnten aber wiederum „strukturiere“ Durchblutungsverhältnisse sein.

Aufgrund der geringen Fallzahl ( $n=8$ ) bei den Lungenrundherden von Kurventyp 3 sind die Zusammenhänge insgesamt nur mit Einschränkungen zu sehen. Der  $p$ -Wert war in 9 von 10 Fällen größer als 0,05. Ergänzend sind in den Abbildungen 22 und 23 histologische Schnitte und MRT-Befunde einer Patientin mit Kurventyp 3 abgebildet.

Beim Vergleich des Zellproliferationsmarkers Ki-67 mit den MRT-Parametern zeigten sich signifikante Zusammenhänge mit  $E_{\text{early}}$ ,  $E_{\text{max}}$ , Slope sowie  $E_{\text{mean}}$ . Bei der Korrelation von Ki-67 mit wash-out (%/s) zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang. Es ist aber anzunehmen, dass die Zusammenhänge beim Vergleich der Gesamtparameter mit den ausgeprägten Unterschieden der Zellproliferationsrate bei malignen und benignen Rundherden zusammenhängen (Wilcoxon-Test,  $p<0,0001$ ). Bei zusätzlicher Eingruppierung in benigne und maligne Befunde fanden sich aus diesem Grund keine relevanten Zusammenhänge mehr. Bei weiterer Einteilung nach den vier Kurventypen fand sich bei Lungenrundherden vom Kurventyp 3 ein relevanter Zusammenhang

zwischen der maximalen ( $rS=0,62$ ,  $p=0,10$ ) und mittleren ( $rS=0,66$ ,  $p=0,07$ ) Kontrastmittelaufnahme und der Zellproliferationsrate. Wodurch dieser Zusammenhang bedingt ist, bleibt aber unklar. Zu bedenken ist, dass die Zusammenhänge aufgrund der geringen Fallzahl ( $n=8$ ) nicht signifikant sind. Ki-67 scheint somit ein guter Parameter zu sein, um benigne von malignen Läsionen zu trennen, wie bereits in der Studie von Greffe et al. [130] gezeigt wurde. Zusätzlich fanden sich in der vorliegenden Studie signifikante Unterschiede zwischen den vier Kurventypen bei der Ki-67-Expression (Wilcoxon-Test,  $p=0,0004$ ). Bisher lagen unseres Wissens nach keine Studien vor, die die Zellproliferationsrate mit den Parametern der Kontrastmittelaufnahme im MRT verglichen haben. Somit können keine Vergleiche zu anderen Studien erstellt werden.

Bei der Korrelation der Ergebnisse des Punktwertes der Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF-Score) mit den MRT-Parametern fanden sich beim Vergleich der Gesamtwerte teilweise relevante Zusammenhänge. Der VEGF-Score der einzelnen Lungenrundherde unterschied sich signifikant zwischen den 4 Kurventypen (Wilcoxon-Test;  $p=0,0005$ ). Zwischen Slope und dem VEGF-Score war ein relevanter und auch signifikanter Zusammenhang zu finden ( $rS=0,61$ ,  $p<0,0001$ ). Mäßig positive Zusammenhänge fanden sich bei  $E_{early}$ ,  $E_{max}$  und  $E_{mean}$ . Zwischen dem wash-out und dem VEGF-Score gab es einen mäßig negativen Zusammenhang ( $rS=-0,52$ ,  $p<0,0006$ ). Ein deutlicherer Zusammenhang wurde zwischen den Kurventypen und dem VEGF-Score gefunden ( $rS = 0,65$ ,  $p < 0,001$ ). Der Vergleich von VEGF mit den Parametern der Kontrastmittelaufnahme im MRT zeigte in anderen Studien keine Zusammenhänge. Allerdings wurde in diesen Arbeiten das Zervixkarzinom untersucht, sodass die Ergebnisse nicht direkt zu vergleichen sind [82, 131]. Unserem Wissen nach existiert bis jetzt noch keine Studie, die bei Lungenrundherden die VEGF-Expression mit MRT-Parametern der Kontrastmittelaufnahme verglichen hat. Somit ist der Zusammenhang zwischen VEGF und der Kontrastmittelaufnahme bisher nicht klar definiert. Es ist aber bekannt,

dass eine erhöhte Kapillarpermeabilität die Kontrastmittelaufnahme positiv beeinflussen kann [40, 49, 82].

Bei der CT-Studie von Tateishi et al., in der Adeno- mit Plattenepithelkarzinomen verglichen wurden, kam es bei zusätzlicher Einteilung in VEGF-positive Tumoren zu einer höhergradigen Korrelation [98]. Obwohl wir einen solchen Vergleich aufgrund der geringen Anzahl an VEGF-positiven Tumoren nicht durchgeführt haben, wurde ein höherer VEGF-Score bei Tumoren vom Kurventyp 1, im Gegensatz zu den anderen 3 Kurventypen, gefunden. Ähnliche Ergebnisse ließen sich davor bei Läsionen der Mamma finden [46].

Zur Einteilung in benigne und maligne Lungenrundherde wurde ein Entscheidungsbaum unter Einbeziehung der Kontrastmittelaufnahmemorphologie und der Kurventypen erstellt. Dabei konnte, wie bereits erwähnt, eine Unterscheidung von malignen und benignen Befunden mit einer Sensibilität von 100%, einer Spezifität von 75% und einer Zielgenauigkeit von 94,8% erreicht werden. Insgesamt wurden mit Hilfe des Entscheidungsbaumes 37 von 39 Lungenrundherden nur mittels der MRT-Untersuchung korrekt als benigne oder maligne klassifiziert. Zusätzlich wurde untersucht, ob Zusammenhänge zwischen der histologischen Kapillarverteilung und der Morphologie der Kontrastmittelaufnahme bestehen. Die Übereinstimmung der Morphologie-Daten aus der Analyse der MRT-Bilder und der histologischen Einteilung betrug bei Lungenrundherden vom Kurventyp 2 und 3 insgesamt 68%. Dies bei Zusammenfassen der homogenen und inhomogenen Gruppen. Somit spiegelt die morphologische Kapillarverteilung das Muster der Kontrastmittelaufnahme in den Lungenrundherden zum Großteil wider.

Die komplexen Zusammenhänge zwischen der Kontrastmittelaufnahme, den ausgewerteten Angiogenesefaktoren (Faktor VIII und VEGF) und der Zellproliferationsrate (Ki-67) werden zwar in der dynamischen MRT vereinfacht abgebildet. Dennoch scheint, wie in dieser Studie festgestellt, durch die Verwendung von Kontrastmittelaufnahmeprofilen eine detaillierte Betrachtung möglich. Zusätzlich ist dies im Vergleich zur Computertomographie auch ohne die Verwendung von ionisierender Strahlung durchführbar.

Einige Einschränkungen sind aber bei der Betrachtung der Ergebnisse zu beachten:

- (a) Obwohl die Datenakquisition in der vorliegenden Arbeit prospektiv stattgefunden hat, wurden die kinetische wie auch die morphologische Auswertung retrospektiv durchgeführt und sollten daher prospektiv weiter gesichert werden.
- (b) Die Auswertung der in dieser Form in der Literatur bisher noch nicht erwähnten unterschiedlichen Enhancementmuster erfolgte im Konsensus-Verfahren. Eine Angabe bezüglich einer evtl. Interobserver-Variabilität hierzu ist daher nicht möglich.
- (c) Man muss bei der Studienpopulation von einem gewissen Selektions-Bias ausgehen, da durch die zwei zuweisenden thoraxchirurgischen Abteilungen eine vergleichsweise hohe Anzahl von Hamartomen resiziert wurde.
- (d) Die Aussagekraft der Ergebnisse ist durch die relativ kleine Studienpopulation limitiert.

## **5. Zusammenfassung**

In dieser Studie wurde untersucht, ob es Zusammenhänge zwischen histologischen Parametern der Tumorangiogenese (Kapillardichte, immunhistochemisch angefärbte Fläche, VEGF-Expression) und der Zellproliferationsrate mit der kontrastverstärkten, dynamischen MRT bei Lungenrundherden gibt. Die vorliegende Arbeit umfasste Befunde von 39 Patienten. Der Anteil der malignen Tumore betrug 59% (23/39).

Die magnetresonanztomographischen Messungen wurden mit einer dynamischen T1w-2D-Gradientenechosequenz nach Bolus-Injektion der Standarddosis Gadolinium-DTPA (Kontrastmittel) durchgeführt. Dabei wurde alle 10 Sekunden über einen Zeitraum von 4 Minuten eine Messung durchgeführt. Es wurden die Kontrastmittelaufnahme der Rundherde nach  $t=30s$  ( $E_{early}$ ), der Maximal- und Mittelwert der Kontrastmittelaufnahme ( $E_{max}$ ,  $E_{mean}$ ), die Anflutungsgeschwindigkeit des Kontrastmittels (Slope) sowie das Vorliegen einer wash-out-Kinetik (wash-out) untersucht. Anhand der Signalintensitätskurven der Kontrastmittelaufnahme wurden die Lungenrundherde in vier Kurventypen eingeteilt. Ferner erfolgte eine Einteilung nach morphologischen Kriterien der Kontrastmittelaufnahme in 5 Gruppen.

Die Färbung der histologischen Schnitte erfolgte mit Hilfe eines immunhistochemischen Verfahrens (Avidin-Biotin-Komplex-Methode). Die Kapillarendothelien wurden mittels Antikörpern gegen Faktor-VIII markiert. Anschließend wurde die Kapillardichte lichtmikroskopisch ausgezählt sowie eine Auswertung der immunhistochemisch angefärbten Fläche mit Hilfe eines automatisierten Bildanalyse-Systems (Leica-Quantimed) vorgenommen. Es erfolgte jeweils eine Quantifizierung am Rand und im Zentrum. Daraus wurden zusätzlich die Mittel- und Maximalwerte berechnet. Außerdem wurden, ebenfalls mittels selektiver Antikörper, die Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) sowie die Zellproliferationsrate (Ki-67) bestimmt. Die histologischen Präparate wurden zusätzlich, je nach morphologischer Verteilung der Kapillaren, in 4 Gruppen eingeteilt.

Im MRT war bei allen Parametern der Kontrastmittelaufnahme ( $E_{\text{early}}$ ,  $E_{\text{max}}$ ,  $E_{\text{mean}}$ , Slope, wash-out) ein signifikanter Unterschied zwischen benignen sowie malignen Lungenrundherden ( $p < 0,0001$ , beim wash-out  $p = 0,002$ ) zu finden. Zudem wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den 4 Kurventypen bei allen 5 Parametern gefunden ( $p < 0,0001$ ). In der histologischen Analyse zeigten sich bei der Kapillardichte im Zentrum ( $p = 0,001$ ), der durchschnittlichen ( $p = 0,005$ ) und maximalen Kapillardichte ( $p = 0,05$ ), der durchschnittlichen immunhistochemisch angefärbten Fläche ( $p = 0,007$ ) sowie der Fläche im Zentrum ( $p < 0,0001$ ) signifikante Unterschiede zwischen benignen und malignen Rundherden. Auch wurde festgestellt, dass die Kapillardichte sowie die immunhistochemisch angefärbte Fläche am Rand bei den meisten Lungenrundherden (benigne und maligne) höher als im Zentrum waren.

Bei der Kapillardichte im Zentrum sowie der mittleren Kapillardichte fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den 4 Kurventypen ( $p = 0,04$ ). Weiterhin bestanden bei der immunhistochemisch angefärbten Fläche im Zentrum signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Kurventypen ( $p = 0,007$ ). Die weiteren histologischen Parameter der Kapillardichte sowie der immunhistochemisch angefärbten Fläche ließen keine signifikanten Unterschiede erkennen. Die Zellproliferationsrate (Ki-67) sowie die Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) unterschieden sich ebenfalls signifikant zwischen benignen und malignen Rundherden und den vier Kurventypen. Als VEGF-positiv wurden nur maligne Tumoren klassifiziert.

Nach Eingruppierung der Ergebnisse in die vier verschiedenen Kurventypen fanden sich relevante Zusammenhänge. Bei Kurventyp 1, der durch einen raschen Anstieg und Abfall der Kontrastmittelaufnahme mit wash-out-Phänomen gekennzeichnet war, fanden sich Zusammenhänge beim Vergleich zwischen der Kapillardichte am Rand ( $rS = 0,66$ ;  $p = 0,01$ ) und der maximalen Kapillardichte ( $rS = 0,60$ ;  $p = 0,03$ ) mit der maximalen Kontrastmittelaufnahme. Dies könnte mit dem durch den im Gegensatz zum Zentrum deutlich höheren Grad an Gefäßneubildungen am Rand zusammenhängen, was zu einem raschen Abfluten des Kontrastmittels führen kann. Auch besitzen maligne Tumoren im Zentrum häufig nekrotische Anteile.

Bei Kurventyp 2 (rascher Anstieg der Kontrastmittelaufnahme ohne darauf folgenden Abfall der Signalintensität (wash-out)) fanden sich keine relevanten Zusammenhänge. Dieser Kurventyp beinhaltete benigne und maligne Lungenrundherde und scheint eher unspezifisch zu sein. Die Kontrastmittelanreicherung könnte hier durch diverse Faktoren beeinflusst worden sein (u.a. Kapillarpermeabilität, Ausdehnung des Interstitiums, Durchblutungssituation, nekrotisch verändertes Gewebe).

Bei Kurventyp 3, der durch eine schwache Kontrastmittelaufnahme gekennzeichnet war, ergaben sich, mit Einschränkungen wegen der geringen Fallzahl (n=8), unter anderem relevante Zusammenhänge zwischen der Kapillardichte im Zentrum und der maximalen ( $rS=0,67$ ;  $p=0,07$ ) sowie durchschnittlichen ( $rS=0,69$ ;  $p=0,06$ ) Kontrastmittelaufnahme im MRT. Es zeigten sich hier zudem Zusammenhänge mit der durchschnittlichen Kapillardichte und der maximalen ( $rS=0,86$ ;  $p=0,01$ ) sowie der durchschnittlichen ( $rS=0,87$ ;  $p=0,005$ ) Kontrastmittelaufnahme. Ferner waren hier als einziges relevante Zusammenhänge zwischen der immunhistochemisch angefärbten Fläche und den MRT-Ergebnissen beim Vergleich zwischen der Fläche im Zentrum ( $rS=0,66$ ;  $p=0,08$ ) sowie der maximalen und durchschnittlichen Kapillardichte ( $rS=0,67$ ;  $p=0,07$ ) mit der maximalen Kontrastmittelaufnahme zu finden. Die 8 Lungenrundherde des Kurventyps 3 waren ausschließlich benignen Natur. Es ist anzunehmen, dass die Durchblungsverhältnisse durch das langsamere und geregelte Wachstum klarer strukturiert und geordneter sind, und andere, für maligne Tumoren spezifische Faktoren, die Kontrastmittelaufnahme weniger beeinflusst haben.

Die signifikanten Zusammenhänge zwischen der Zellproliferationsrate und  $E_{\text{early}}$ ,  $E_{\text{max}}$ , Slope sowie  $E_{\text{mean}}$  bei der Korrelation der Gesamtergebnisse lassen sich durch den ausgeprägten Unterschied zwischen malignen und benignen Rundherden erklären ( $p<0,0001$ ). Bei zusätzlicher Eingruppierung in benigne und maligne Befunde fanden sich aus diesem Grund keine relevanten Zusammenhänge mehr. Zwischen Slope und dem VEGF-Score und zwischen den Kurventypen und dem VEGF-Score waren relevante Zusammenhänge zu finden ( $rS=0,61$ ,  $p<0,0001$  und  $rS = 0,65$ ,  $p < 0,001$ ).

Mit Hilfe eines Entscheidungsbaumes, der auf den Kurventypen und dem morphologischen Profil der Kontrastmittelaufnahme basiert, ließen sich die Lungenrundherde mit einer Sensitivität, Spezifität und Zielgenauigkeit von 100%, 75% und 94,8% in benigne und maligne trennen.

Bei den Morphologie-Daten aus der Analyse der MRT-Bilder und der histologischen Einteilung betrug die Übereinstimmung bei Lungenrundherden vom Kurventyp 2 und 3 insgesamt 68%. Bei den Patienten aller 4 Kurventypen wurde eine Übereinstimmung von insgesamt 64% (25/39) ermittelt. Damit lässt sich festhalten, dass die kontrastmittelverstärkten MRT-Sequenzen in einem gewissen Maße die grobe, histologische Kapillarverteilung in den Lungenrundherden widerspiegeln. Der aufgestellte Entscheidungsbaum soll auch als Anregung für eine eventuelle klinische Nutzung dienen.

Insgesamt zeigt sich, dass die Verwendung von Kontrastmittelaufnahmeprofilen in der MRT ein hilfreiches Mittel bei der Unterscheidung von Lungenrundherden ist. Die Möglichkeit der visuellen Beurteilung erleichtert hierbei die Auswertung. Die komplexen Zusammenhänge zwischen der Kontrastmittelaufnahme, den ausgewerteten Angiogenesefaktoren und der Zellproliferationsrate scheinen durch die dynamische MRT, insbesondere durch die Analyse von Kontrastmittelaufnahmeprofilen, abgeschätzt werden zu können.

Es sind aber weitere Studien erforderlich, um die Zusammenhänge zwischen dem dynamischen, kontrastverstärkten MRT und der Histologie bei Lungenrundherden besser verstehen zu können.

## 6. Literaturliste

1. Schon, D., et al., [*Federal Cancer Reporting Unit. Surveillance program for cancer registration in Germany*]. 2004.
2. H.-J.Senn, et al., *Onkologie*. 4 ed. Checkliste Onkologie. 1998: Georg Thieme Verlag. 570.
3. Böcker, D., Heitz, *Pathologie*. 1 ed. 1997: Urban&Schwarzenberg. 1130.
4. Rosado-de-Christenson, M., *Tumors of the lung, pleura and chest wall*. Eur Radiol, 2001. **11**(2): p. 77-85.
5. Kaneko, M., et al., *Computed tomography screening for lung carcinoma in Japan*. Cancer, 2000. **89**(11 Suppl): p. 2485-8.
6. Kaneko, M., et al., *Peripheral lung cancer: screening and detection with low-dose spiral CT versus radiography*. Radiology, 1996. **201**(3): p. 798-802.
7. MacMahon, H., et al., *Guidelines for management of small pulmonary nodules detected on CT scans: a statement from the Fleischner Society [In Process Citation]*. Radiology, 2005. **237**(2): p. 395-400
8. Eibel, R., et al., [*Multidetector-row CT of the lungs: Multiplanar reconstructions and maximum intensity projections for the detection of pulmonary nodules*]. Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr, 2001. **173**(9): p. 815-21.
9. Diederich, S., et al., *Screening for asymptomatic early bronchogenic carcinoma with low dose CT of the chest*. Cancer, 2000. **89**(11 Suppl): p. 2483-4.
10. Henschke, C., et al., *Early Lung Cancer Action Project: overall design and findings from baseline screening*. Lancet, 1999. **354**(9173): p. 99-105.
11. Swensen, S., *CT screening for lung cancer*. AJR Am J Roentgenol, 2002. **179**(4): p. 833-6.
12. Aberle, D., et al., *A consensus statement of the Society of Thoracic Radiology: screening for lung cancer with helical computed tomography*. J Thorac Imaging, 2001. **16**(1): p. 65-8.
13. Yankelevitz, D., et al., *Small pulmonary nodules: evaluation with repeat CT--preliminary experience*. Radiology, 1999. **212**(2): p. 561-6.
14. Yankelevitz, D., et al., *Small pulmonary nodules: volumetrically determined growth rates based on CT evaluation*. Radiology, 2000. **217**(1): p. 251-6.
15. Diederich, S., et al., *Pulmonary nodules: experimental and clinical studies at low-dose CT*. Radiology, 1999. **213**(1): p. 289-98.
16. Greess, H., et al., [*Dose reduction in spiral-CT: detection of pulmonary coin lesions with and without anatomically adjusted modulation of tube current*]. Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr, 2001. **173**(5): p. 466-70.
17. Bernard, A., *Resection of pulmonary nodules using video-assisted thoracic surgery. The Thorax Group*. Ann Thorac Surg, 1996. **61**(1): p. 202-4; discussion 204-5.
18. Ginsberg, M., et al., *Pulmonary nodules resected at video-assisted thoracoscopic surgery: etiology in 426 patients*. Radiology, 1999. **213**(1): p. 277-82.
19. Decamp, M., *The solitary pulmonary nodule: aggressive excisional strategy*. Semin Thorac Cardiovasc Surg, 2002. **14**(3): p. 292-6.

20. Swensen, S., et al., *Solitary pulmonary nodule: CT evaluation of enhancement with iodinated contrast material--a preliminary report*. Radiology, 1992. **182**(2): p. 343-7.
21. Swensen, S., et al., *Pulmonary nodules: CT evaluation of enhancement with iodinated contrast material*. Radiology, 1995. **194**(2): p. 393-8.
22. Yamashita, K., et al., *Small peripheral lung carcinoma evaluated with incremental dynamic CT: radiologic-pathologic correlation*. Radiology, 1995. **196**(2): p. 401-8.
23. Zhang, M. and M. Kono, *Solitary pulmonary nodules: evaluation of blood flow patterns with dynamic CT*. Radiology, 1997. **205**(2): p. 471-8.
24. Swensen, S., et al., *Lung nodule enhancement at CT: multicenter study*. Radiology, 2000. **214**(1): p. 73-80.
25. Tateishi, U., et al., *Tumor angiogenesis and dynamic CT in lung adenocarcinoma: radiologic-pathologic correlation*. J Comput Assist Tomogr, 2001. **25**(1): p. 23-7.
26. Patz, E. and P. Goodman, *Positron emission tomography imaging of the thorax*. Radiol Clin North Am, 1994. **32**(4): p. 811-23.
27. Gupta, N., et al., *Solitary pulmonary nodules: detection of malignancy with PET with 2-[F-18]-fluoro-2-deoxy-D-glucose*. Radiology, 1992. **184**(2): p. 441-4.
28. Gould, M., et al., *Accuracy of positron emission tomography for diagnosis of pulmonary nodules and mass lesions: a meta-analysis*. JAMA, 2001. **285**(7): p. 914-24.
29. Semelka, R., et al., *Focal liver disease: comparison of dynamic contrast-enhanced CT and T2-weighted fat-suppressed, FLASH, and dynamic gadolinium-enhanced MR imaging at 1.5 T*. Radiology, 1992. **184**(3): p. 687-94.
30. Liberman, L., et al., *Breast lesions detected on MR imaging: features and positive predictive value*. AJR Am J Roentgenol, 2002. **179**(1): p. 171-8.
31. Kauczor, H. and K. Kreitner, *Contrast-enhanced MRI of the lung*. Eur J Radiol, 2000. **34**(3): p. 196-207.
32. Leutner, C. and H. Schild, *[MRI of the lung parenchyma]*. Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr, 2001. **173**(3): p. 168-75.
33. Schafer, J., et al., *[Imaging diagnosis of solitary pulmonary nodules on an open low-field MRI system--comparison of two MR sequences with spiral CT]*. Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr, 2002. **174**(9): p. 1107-14.
34. Kono, M., et al., *Clinical utility of Gd-DTPA-enhanced magnetic resonance imaging in lung cancer*. J Thorac Imaging, 1993. **8**(1): p. 18-26.
35. Guckel, C., et al., *Solitary pulmonary nodules: MR evaluation of enhancement patterns with contrast-enhanced dynamic snapshot gradient-echo imaging*. Radiology, 1996. **200**(3): p. 681-6.
36. Hunter, G., et al., *Dynamic T1-weighted magnetic resonance imaging and positron emission tomography in patients with lung cancer: correlating vascular physiology with glucose metabolism*. Clin Cancer Res, 1998. **4**(4): p. 949-55.
37. Li, F., et al., *Correlation between high-resolution computed tomographic, magnetic resonance and pathological findings in cases with non-cancerous but suspicious lung nodules*. Eur Radiol, 2000. **10**(11): p. 1782-91.

38. Ohno, Y., et al., *Solitary pulmonary nodules: potential role of dynamic MR imaging in management initial experience*. Radiology, 2002. **224**(2): p. 503-11.
39. Daldrup, H., et al., *Correlation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging with histologic tumor grade: comparison of macromolecular and small-molecular contrast media*. Pediatr Radiol, 1998. **28**(2): p. 67-78.
40. Hawighorst, H., et al., [*Angiogenesis of cervix carcinoma. Contrast enhanced dynamic MRI, histologic quantification of capillary density and lymphatic system infiltration*]. Radiologe, 1998. **38**(1): p. 50-7.
41. Fletcher, B., et al., *Pediatric musculoskeletal tumors: use of dynamic, contrast-enhanced MR imaging to monitor response to chemotherapy*. Radiology, 1992. **184**(1): p. 243-8.
42. Hawighorst, H., et al., *Pelvic lesions in patients with treated cervical carcinoma: efficacy of pharmacokinetic analysis of dynamic MR images in distinguishing recurrent tumors from benign conditions*. AJR Am J Roentgenol, 1996. **166**(2): p. 401-8.
43. Hawighorst, H., et al., *Cervical carcinoma: comparison of standard and pharmacokinetic MR imaging*. Radiology, 1996. **201**(2): p. 531-9.
44. Hoffmann, U., et al., *Pharmacokinetic mapping of the breast: a new method for dynamic MR mammography*. Magn Reson Med, 1995. **33**(4): p. 506-14.
45. Verstraete, K., et al., *Benign and malignant musculoskeletal lesions: dynamic contrast-enhanced MR imaging--parametric "first-pass" images depict tissue vascularization and perfusion*. Radiology, 1994. **192**(3): p. 835-43.
46. Buadu, L., et al., *Breast lesions: correlation of contrast medium enhancement patterns on MR images with histopathologic findings and tumor angiogenesis*. Radiology, 1996. **200**(3): p. 639-49.
47. Hawighorst, H., et al., *Angiogenesis of uterine cervical carcinoma: characterization by pharmacokinetic magnetic resonance parameters and histological microvessel density with correlation to lymphatic involvement*. Cancer Res, 1997. **57**(21): p. 4777-86.
48. Degani, H., et al., *Mapping pathophysiological features of breast tumors by MRI at high spatial resolution*. Nat Med, 1997. **3**(7): p. 780-2.
49. Hawighorst, H., et al., [*Detection of angiogenesis-dependent parameters by functional MRI: correlation with histomorphology and evaluation of clinical relevance as prognostic factor using cervix carcinoma as an example*]. Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr, 1998. **169**(5): p. 499-504.
50. Buadu, L., et al., *Patterns of peripheral enhancement in breast masses: correlation of findings on contrast medium enhanced MRI with histologic features and tumor angiogenesis*. J Comput Assist Tomogr, 1997. **21**(3): p. 421-30.
51. Schaefer, J., et al., *Solitary pulmonary nodules: dynamic contrast-enhanced MR imaging--perfusion differences in malignant and benign lesions*. Radiology, 2004. **232**(2): p. 544-53.
52. Liotta, L., J. Kleinerman, and G. Saidel, *Quantitative relationships of intravascular tumor cells, tumor vessels, and pulmonary metastases following tumor implantation*. Cancer Res, 1974. **34**(5): p. 997-1004.
53. Weidner, N., et al., *Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma*. N Engl J Med, 1991. **324**(1): p. 1-8.
54. Folkman, J. and M. Klagsbrun, *Angiogenic factors*. Science, 1987. **235**(4787): p. 442-7.

55. Brown, L., et al., *Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer*. Hum Pathol, 1995. **26**(1): p. 86-91.
56. Srivastava, A., et al., *The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate-thickness (0.76-4.0 mm thick) skin melanoma. A quantitative histologic study*. Am J Pathol, 1988. **133**(2): p. 419-23.
57. Herlyn, M., et al., *Biology of tumor progression in human melanocytes*. Lab Invest, 1987. **56**(5): p. 461-74.
58. Schlenger, K., et al., *Tumor vascularity--a novel prognostic factor in advanced cervical carcinoma*. Gynecol Oncol, 1995. **59**(1): p. 57-66.
59. Wiggins, D., et al., *Tumor angiogenesis as a prognostic factor in cervical carcinoma*. Gynecol Oncol, 1995. **56**(3): p. 353-6.
60. Naiem, M., et al., *The value of immunohistological screening in the production of monoclonal antibodies*. J Immunol Methods, 1982. **50**(2): p. 145-60.
61. Ogawa, Y., et al., *Microvessel quantitation in invasive breast cancer by staining for factor VIII-related antigen*. Br J Cancer, 1995. **71**(6): p. 1297-301.
62. Hawighorst, H., et al., *[Diagnosis of recurrence of cervix carcinoma using dynamic MRI: correlation of pharmacokinetic analysis and histopathology]*. Radiologie, 1995. **35**(12): p. 945-51.
63. Fox, S., et al., *Quantitation and prognostic value of breast cancer angiogenesis: comparison of microvessel density, Chalkley count, and computer image analysis*. J Pathol, 1995. **177**(3): p. 275-83.
64. Gerdes, J., et al., *Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67*. J Immunol, 1984. **133**(4): p. 1710-5.
65. Gerdes, J., et al., *Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67*. Am J Pathol, 1991. **138**(4): p. 867-73.
66. Seigneurin, D. and P. Guillaud, *[Ki-67 antigen, a cell cycle and tumor growth marker]*. Pathol Biol (Paris), 1991. **39**(10): p. 1020-8.
67. Scholzen, T. and J. Gerdes, *The Ki-67 protein: from the known and the unknown*. J Cell Physiol, 2000. **182**(3): p. 311-22.
68. Shiba, M., et al., *Prognostic implication of Ki-67 immunostaining in treating subclinical pleural cancer found at thoracotomy in lung cancer patients*. Ann Thorac Surg, 2001. **71**(6): p. 1765-71.
69. Mehdi, S., et al., *Prognostic significance of Ki-67 immunostaining and symptoms in resected stage I and II non-small cell lung cancer*. Lung Cancer, 1998. **20**(2): p. 99-108.
70. Haga, Y., et al., *Ki-67 expression and prognosis for smokers with resected stage I non-small cell lung cancer*. Ann Thorac Surg, 2003. **75**(6): p. 1727-32; discussion 1732-3.
71. Borre, M., et al., *Tumor cell proliferation and survival in patients with prostate cancer followed expectantly*. J Urol, 1998. **159**(5): p. 1609-14.
72. Seshadri, R., et al., *Relationship between p53 gene abnormalities and other tumour characteristics in breast-cancer prognosis*. Int J Cancer, 1996. **69**(2): p. 135-41.
73. Senger, D., et al., *Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology*. Cancer Metastasis Rev, 1993. **12**(3-4): p. 303-24.

74. Brown, L., et al., *Vascular permeability factor mRNA and protein expression in human kidney*. *Kidney Int*, 1992. **42**(6): p. 1457-61.
75. Folkman, J., *What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent?* *J Natl Cancer Inst*, 1990. **82**(1): p. 4-6.
76. Fontanini, G., et al., *Angiogenesis as a prognostic indicator of survival in non-small-cell lung carcinoma: a prospective study*. *J Natl Cancer Inst*, 1997. **89**(12): p. 881-6.
77. Fontanini, G., et al., *Vascular endothelial growth factor is associated with neovascularization and influences progression of non-small cell lung carcinoma*. *Clin Cancer Res*, 1997. **3**(6): p. 861-5.
78. Ohta, Y., et al., *Vascular endothelial growth factor and lymph node metastasis in primary lung cancer*. *Br J Cancer*, 1997. **76**(8): p. 1041-5.
79. Maniwa, Y., et al., *Vascular endothelial growth factor increased by pulmonary surgery accelerates the growth of micrometastases in metastatic lung cancer*. *Chest*, 1998. **114**(6): p. 1668-75.
80. Liotta, L., W. Stetler-Stevenson, and P. Steeg, *Cancer invasion and metastasis: positive and negative regulatory elements*. *Cancer Invest*, 1991. **9**(5): p. 543-51.
81. Hsu, S., L. Raine, and H. Fanger, *Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures*. *J Histochem Cytochem*, 1981. **29**(4): p. 577-80.
82. Hawighorst, H., et al., *Angiogenic activity of cervical carcinoma: assessment by functional magnetic resonance imaging-based parameters and a histomorphological approach in correlation with disease outcome*. *Clin Cancer Res*, 1998. **4**(10): p. 2305-12.
83. Pavlopoulos, P., et al., *A morphometric study of neovascularization in colorectal carcinoma*. *Cancer*, 1998. **83**(10): p. 2067-75.
84. Kohlberger, P., et al., *Quantitative immunohistochemistry of factor VIII-related antigen in breast carcinoma: a comparison of computer-assisted image analysis with established counting methods*. *Am J Clin Pathol*, 1996. **105**(6): p. 705-10.
85. Olewniczak, S., et al., *Angiogenesis as determined by computerised image analysis and the risk of early relapse in women with invasive ductal breast carcinoma*. *Pol J Pathol*, 2003. **54**(1): p. 53-9.
86. Bubb, R., et al., *Association of Ki-67, p53, and bcl-2 expression of the primary non-small-cell lung cancer lesion with brain metastatic lesion*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2002. **53**(5): p. 1216-24.
87. Tungekar, M., et al., *Ki-67 immunostaining and survival in operable lung cancer*. *Histopathology*, 1991. **19**(6): p. 545-50.
88. Mattern, J., R. Koomagi, and M. Volm, *Association of vascular endothelial growth factor expression with intratumoral microvessel density and tumour cell proliferation in human epidermoid lung carcinoma*. *Br J Cancer*, 1996. **73**(7): p. 931-4.
89. Harms, V., *Biomathematik, Statistik und Dokumentation*. 1998. **1**: p. 286.
90. Frouge, C., et al., *Correlation between contrast enhancement in dynamic magnetic resonance imaging of the breast and tumor angiogenesis*. *Invest Radiol*, 1994. **29**(12): p. 1043-9.

91. Obrenovitch, A. and M. Monsigny, [*Tumor angiogenesis*]. *Pathol Biol (Paris)*, 1986. **34**(3): p. 189-201.
92. Polverini, P. and S. Leibovich, *Induction of neovascularization in vivo and endothelial proliferation in vitro by tumor-associated macrophages*. *Lab Invest*, 1984. **51**(6): p. 635-42.
93. Blood, C. and B. Zetter, *Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis*. *Biochim Biophys Acta*, 1990. **1032**(1): p. 89-118.
94. Ohta, Y., et al., *Tumor angiogenesis and recurrence in stage I non-small cell lung cancer*. *Ann Thorac Surg*, 1999. **68**(3): p. 1034-8.
95. Yamazaki, K., et al., *Tumor angiogenesis in human lung adenocarcinoma*. *Cancer*, 1994. **74**(8): p. 2245-50.
96. Duarte, I., et al., *Angiogenesis as a predictor of survival after surgical resection for stage I non-small-cell lung cancer*. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1998. **115**(3): p. 652-8; discussion 658-9.
97. Cox, G., et al., *Angiogenesis and non-small cell lung cancer*. *Lung Cancer*, 2000. **27**(2): p. 81-100.
98. Tateishi, U., et al., *Contrast-enhanced dynamic computed tomography for the evaluation of tumor angiogenesis in patients with lung carcinoma*. *Cancer*, 2002. **95**(4): p. 835-42.
99. Ohno, Y., et al., *Dynamic MR imaging: value of differentiating subtypes of peripheral small adenocarcinoma of the lung*. *Eur J Radiol*, 2004. **52**(2): p. 144-50.
100. Lohr, M. and B. Keppler, *Innere Medizin - Kompendium für Studium und Klinik*. 1999. **2**: p. 795.
101. Kelly, K. and N. Mikhaeel-Kamel, *Medical treatment of lung cancer*. *J Thorac Imaging*, 1999. **14**(4): p. 257-65.
102. Szondy, K., [*Chemotherapy of small cell lung cancer*] [*Record Supplied By Publisher*]. *Magy Onkol*, 2000. **44**(3): p. 221-225
103. Puma, F., et al., [*The role of surgery in the treatment of small cell lung cancer*]. *Minerva Endocrinol*, 2001. **26**(4): p. 247-53.
104. Lopez-Graniel, C., et al., *Tumor angiogenesis as a prognostic factor in oral cavity carcinomas*. *J Exp Clin Cancer Res*, 2001. **20**(4): p. 463-8.
105. Schor, A., et al., *Heterogeneity in microvascular density in lung tumours: comparison with normal bronchus*. *Br J Cancer*, 1998. **77**(6): p. 946-51.
106. Simpson, J., et al., *Endothelial area as a prognostic indicator for invasive breast carcinoma*. *Cancer*, 1996. **77**(10): p. 2077-85.
107. Visscher, D., et al., *Prognostic significance of image morphometric microvessel enumeration in breast carcinoma*. *Anal Quant Cytol Histol*, 1993. **15**(2): p. 88-92.
108. Roberts, H., et al., *Correlation of microvascular permeability derived from dynamic contrast-enhanced MR imaging with histologic grade and tumor labeling index: a study in human brain tumors*. *Acad Radiol*, 2001. **8**(5): p. 384-91.
109. Tynninen, O., et al., *MRI enhancement and microvascular density in gliomas. Correlation with tumor cell proliferation*. *Invest Radiol*, 1999. **34**(6): p. 427-34.

110. Macdonald, C., et al., *Heterogeneity of immunostaining for tumour markers in non-small cell lung carcinoma [In Process Citation]*. Eur J Cancer, 2004. **40**(3): p. 461-6
111. Hayashi, Y., et al., *Cell-cycle analysis detecting endogenous nuclear antigens: comparison with BrdU-in vivo labeling and an application to lung tumors*. Acta Pathol Jpn, 1993. **43**(6): p. 313-9.
112. Tsao, M., et al., *Angiogenesis correlates with vascular endothelial growth factor expression but not with Ki-ras oncogene activation in non-small cell lung carcinoma*. Clin Cancer Res, 1997. **3**(10): p. 1807-14.
113. Nagy, J., et al., *Pathogenesis of tumor stroma generation: a critical role for leaky blood vessels and fibrin deposition*. Biochim Biophys Acta, 1989. **948**(3): p. 305-26.
114. Dean, P., et al., *Comparative pharmacokinetics of gadolinium DTPA and gadolinium chloride*. Invest Radiol, 1988. **23 Suppl 1**: p. S258-60.
115. Milne, E. and E. Zerhouni, *Blood supply of pulmonary metastases*. J Thorac Imaging, 1987. **2**(4): p. 15-23.
116. Chambers, J., *Angiogenesis in lung cancer*. Ann Thorac Surg, 1998. **66**(6): p. 2162-3.
117. Pezzella, F., et al., *Non-small-cell lung carcinoma tumor growth without morphological evidence of neo-angiogenesis*. Am J Pathol, 1997. **151**(5): p. 1417-23.
118. Yi, C., et al., *Solitary pulmonary nodules: dynamic enhanced multi-detector row CT study and comparison with vascular endothelial growth factor and microvessel density*. Radiology, 2004. **233**(1): p. 191-9.
119. Reimer, P., et al., *Enhancement characteristics of liver metastases, hepatocellular carcinomas, and hemangiomas with Gd-EOB-DTPA: preliminary results with dynamic MR imaging*. Eur Radiol, 1997. **7**(2): p. 275-80.
120. Sherif, H., et al., *Peripheral washout sign on contrast-enhanced MR images of the breast*. Radiology, 1997. **205**(1): p. 209-13.
121. Mattern, J., R. Koomagi, and M. Volm, *Biological characterization of subgroups of squamous cell lung carcinomas*. Clin Cancer Res, 1999. **5**(6): p. 1459-63.
122. Imoto, H., et al., *Vascular endothelial growth factor expression in non-small-cell lung cancer: prognostic significance in squamous cell carcinoma*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1998. **115**(5): p. 1007-14.
123. Orel, S., et al., *Suspicious breast lesions: MR imaging with radiologic-pathologic correlation*. Radiology, 1994. **190**(2): p. 485-93.
124. Tozaki, M., N. Ichiba, and K. Fukuda, *Dynamic magnetic resonance imaging of solitary pulmonary nodules: utility of kinetic patterns in differential diagnosis*. J Comput Assist Tomogr, 2005. **29**(1): p. 13-9.
125. Turetschek, K., et al., *MRI assessment of microvascular characteristics in experimental breast tumors using a new blood pool contrast agent (MS-325) with correlations to histopathology*. J Magn Reson Imaging, 2001. **14**(3): p. 237-42.
126. Bhujwala, Z., et al., *Vascular differences detected by MRI for metastatic versus nonmetastatic breast and prostate cancer xenografts*. Neoplasia, 2001. **3**(2): p. 143-53.

127. Fujimoto, K., et al., *Small peripheral pulmonary carcinomas evaluated with dynamic MR imaging: correlation with tumor vascularity and prognosis*. Radiology, 2003. **227**(3): p. 786-93.
128. Hittmair, K., et al., *Infratentorial brain maturation: a comparison of MRI at 0.5 and 1.5T*. Neuroradiology, 1996. **38**(4): p. 360-6.
129. Kim, J., et al., *Solitary pulmonary nodules: a comparative study evaluated with contrast-enhanced dynamic MR imaging and CT*. J Comput Assist Tomogr, 2004. **28**(6): p. 766-75.
130. Grefte, J., et al., *Quantitation of Ki-67 expression in the differential diagnosis of reserve cell hyperplasia vs. small cell lung carcinoma*. Acta Cytol, 2004. **48**(5): p. 608-12.
131. Hawighorst, H., et al., *Uterine cervical carcinoma: comparison of standard and pharmacokinetic analysis of time-intensity curves for assessment of tumor angiogenesis and patient survival*. Cancer Res, 1998. **58**(16): p. 3598-602.

## 7. Anhang

### 7.1. Tabellen

**Tabelle 28:**  
**Ergebnisse der histologischen sowie magnetresonanztomographischen Analysen**

Nr.	Patientennummer	Diagnose	benigne/maligne	Histo-Morphologie
1	38	entzündlich	benigne	homogen
2	37	Bronchialkarzinom (Plattenepithelkarzinom)	maligne	homogen
3	44	Metastase (Adenokarzinom)	maligne	homogen
4	21	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	maligne	randbetont
5	40	Bronchialkarzinom (Plattenepithelkarzinom)	maligne	inhomogen
6	10	entzündlich	benigne	randbetont
7	43	Hamartochondrom	benigne	randbetont
8	39	Tuberkulom	benigne	randbetont
9	15	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	maligne	Gefäßcluster
10	48	Hamartochondrom	benigne	randbetont
11	22	Bronchialkarzinom (Plattenepithelkarzinom)	maligne	Gefäßcluster
12	35	Metastase (Plattenepithelkarzinom)	maligne	inhomogen
13	46	Hamartochondrom	benigne	randbetont
14	4	Hamartochondrom	benigne	randbetont
15	47	Metastase (Adenokarzinom)	maligne	homogen
16	55	Lymphknoten	benigne	homogen
17	5	Hamartochondrom	benigne	randbetont
18	32	Metastase (Ewing-Sarkom)	maligne	inhomogen
19	62	Bronchialkarzinom (Plattenepithelkarzinom)	maligne	Gefäßcluster
20	34	Metastase (Plattenepithelkarzinom)	maligne	Gefäßcluster
21	6	Hamartochondrom	benigne	randbetont
22	51	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	maligne	inhomogen
23	16	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	maligne	Gefäßcluster
24	12	entzündlich	benigne	homogen
25	25	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	maligne	Gefäßcluster
26	23	Bronchialkarzinom (Plattenepithelkarzinom)	maligne	Gefäßcluster
27	33	Metastase (Adenokarzinom)	maligne	randbetont
28	18	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	maligne	Gefäßcluster
29	31	Metastase (Adenokarzinom)	maligne	Gefäßcluster
30	9	Hamartochondrom	benigne	randbetont
31	8	Hamartochondrom	benigne	randbetont
32	42	Hamartochondrom	benigne	randbetont
33	41	Hamartochondrom	benigne	inhomogen
34	20	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	maligne	Gefäßcluster
35	54	Metastase (Adenokarzinom)	maligne	Gefäßcluster
36	30	Karzinoid	maligne	Gefäßcluster
37	52	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	maligne	Gefäßcluster
38	61	Hamartochondrom	benigne	randbetont
39	19	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	maligne	inhomogen

**Tabelle 28:****Ergebnisse der histologischen sowie magnetresonanztomographischen Analysen**

<b>Nr.</b>	<b>MVD Margin (MV/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>MVD Center (MV/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>MVD Mean (MV/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>MVD Max (MV/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>ISS% Margin (ISS%/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>ISS% Center (ISS%/mm<sup>2</sup>)</b>
1	21	20	20,5	21	3,91	2,62
2	21	27	24	27	3,22	3,10
3	29	30	29,5	30	2,91	1,86
4	24	15	19,5	24	3,36	1,71
5	38	29	33,5	38	2,62	1,68
6	32	1	16,5	32	3,69	0
7	62	18	40	62	2,89	0,97
8	25	1	13	25	4,42	0
9	30	63	46,5	63	2,46	4,14
10	18	8	13	18	3,65	0,52
11	23	38	30,5	38	2,47	2,21
12	30	21	25,5	30	3,58	2,56
13	37	15	26	37	4,05	0,66
14	44	11	27,5	44	4,75	1,37
15	32	21	26,5	32	4,95	2,23
16	37	32	34,5	37	4,65	5,18
17	27	13	20	27	3,12	0,96
18	58	59	58,5	59	5,78	5,96
19	33	14	23,5	33	3,74	1,29
20	29	31	30	31	6,2	3,63
21	34	18	26	34	2,11	1,20
22	25	13	19	25	2,58	1,36
23	55	27	41	55	3,8	3,29
24	22	38	30	38	2,8	1,94
25	23	46	34,5	46	1,7	2,96
26	35	16	25,5	35	3,49	1,03
27	52	42	47	52	6,13	3,71
28	40	26	33	40	3,06	1,62
29	23	43	33	43	2,52	5,45
30	25	12	18,5	25	2,94	0,88
31	35	17	26	35	5,26	1,06
32	8	9	8,5	9	0,45	0,23
33	26	18	22	26	3,65	0,85
34	60	16	38	60	3,58	1,07
35	40	45	42,5	45	4,52	3,07
36	11	12	11,5	12	1,62	1,19
37	31	36	33,5	36	3,65	2,82
38	27	8	17,5	27	3,61	0,58
39	49	25	37	49	5,47	4,48

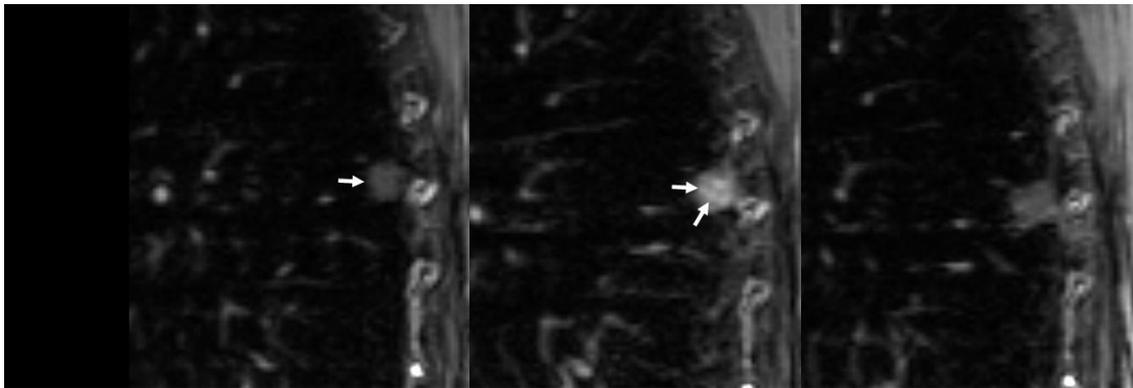
**Tabelle 28:****Ergebnisse der histologischen sowie magnetresonanztomographischen Analysen**

<b>Nr.</b>	<b>ISS% Mean (ISS%/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>ISS% Max (ISS%/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Ki-67 (pos.cells %)</b>	<b>VEGF Score</b>	<b>VEGF pos./neg.</b>	<b>Kontrastmittel- morphologie-MRT</b>
1	3,27	3,91	1	0	negativ	homogen MRT
2	3,16	3,22	56	2	negativ	inhomogen MRT
3	2,39	2,91	18	4	positiv	Gefäßcluster MRT
4	2,54	3,36	25	2	negativ	Gefäßcluster MRT
5	2,15	2,62	54	2	negativ	inhomogen MRT
6	1,85	3,69	2	0	negativ	inhomogen MRT
7	1,93	2,89	2	0	negativ	randbetont MRT
8	2,21	4,42	1	0	negativ	Keine Aufnahme MRT
9	3,37	4,14	2	2	negativ	homogen MRT
10	2,09	3,65	2	0	negativ	Gefäßcluster MRT
11	2,34	2,47	62	2	negativ	homogen MRT
12	3,07	3,58	45	2	negativ	inhomogen MRT
13	2,36	4,05	7	0	negativ	randbetont MRT
14	3,06	4,75	3	0	negativ	Keine Aufnahme MRT
15	3,59	4,95	21	2	negativ	homogen MRT
16	4,92	5,18	14	0	negativ	homogen MRT
17	2,04	3,12	4	0	negativ	Gefäßcluster MRT
18	5,87	5,96	44	2	negativ	inhomogen MRT
19	2,52	3,74	63	2	negativ	Gefäßcluster MRT
20	4,92	6,2	52	0	negativ	inhomogen MRT
21	1,66	2,11	3	0	negativ	randbetont MRT
22	1,97	2,58	16	4	positiv	homogen MRT
23	3,55	3,8	29	2	negativ	Gefäßcluster MRT
24	2,37	2,8	8	0	negativ	homogen MRT
25	2,33	2,96	17	3	negativ	Gefäßcluster MRT
26	2,26	3,49	73	0	negativ	homogen MRT
27	4,92	6,13	19	2	negativ	Gefäßcluster MRT
28	2,34	3,06	22	4	positiv	Gefäßcluster MRT
29	3,99	5,45	66	4	positiv	Gefäßcluster MRT
30	1,91	2,94	5	0	negativ	randbetont MRT
31	3,16	5,26	3	2	negativ	Keine Aufnahme MRT
32	0,34	0,45	1	0	negativ	Keine Aufnahme MRT
33	2,25	3,65	4	0	negativ	inhomogen MRT
34	2,33	3,58	70	2	negativ	inhomogen MRT
35	3,8	4,52	76	4	positiv	Gefäßcluster MRT
36	1,41	1,62	7	5	positiv	inhomogen MRT
37	3,24	3,65	29	4	positiv	Gefäßcluster MRT
38	2,1	3,61	2	0	negativ	inhomogen MRT
39	4,98	5,47	8	5	positiv	Gefäßcluster MRT

**Tabelle 28:****Ergebnisse der histologischen sowie magnetresonanztomographischen Analysen**

<b>Nr.</b>	<b>Eearly (SI%)</b>	<b>E<sub>max</sub> (SI%)</b>	<b>E<sub>mean</sub> (SI%)</b>	<b>Slope (SI%/s)</b>	<b>wash-out (%/s)</b>	<b>Kurventyp</b>
1	27	43,24	32,49	9,01	1,8	3
2	84	85,45	75,38	41,82	-0,91	2
3	58	89,09	67,95	19,39	1,81	2
4	130	130,43	101,81	65,22	-2,54	1
5	53	90,53	75,53	17,54	6,14	2
6	30	29,58	22,01	9,86	-0,7	3
7	55	80	60,53	18,18	1,82	2
8	0	25,81	6,32	0	1,08	4
9	82	106,06	84,12	27,27	1,52	2
10	14	38,46	22,24	6,92	1,03	3
11	121	120,93	87,67	40,31	-2,91	1
12	155	155	115	77	-6,44	1
13	50	66,67	41,9	12,96	2,96	3
14	-19	24,07	-1,85	-6,17	2,78	4
15	108	107,58	66,86	53,79	-5,3	1
16	94	102,94	64,1	31,37	0,49	2
17	12	62,79	36,82	3,88	5,43	3
18	58	132,26	91,26	19,35	9,68	2
19	133	144	124	44	-0,5	2
20	67	109	80	22,4	1,56	2
21	23	81,82	55,45	7,58	6,06	3
22	117	128,57	104,29	58,57	-0,48	2
23	112	125,58	93,6	37,21	0,78	2
24	59	81,82	57,39	12,12	3,03	3
25	121	121,43	101,39	40,48	-1,98	1
26	122	121,84	96,12	40,61	-2,11	1
27	159	159	126,7	53,03	-3,03	1
28	217	216,67	144,62	108,33	-8,33	1
29	136	135,87	72,13	45,29	-8,7	1
30	160	188,1	168,95	53,17	4,76	2
31	19	18,52	9,58	6,17	0	4
32	3	26,32	7,57	0,88	0,44	4
33	5	43,1	26,55	2,59	5,46	3
34	128	155,56	116,51	42,59	-1,54	1
35	69	101,92	83,73	23,08	5,45	2
36	85	84,72	50,87	28,24	-3,7	1
37	115	114,58	54,43	38,19	-10,07	1
38	60	108	82,08	20,13	4,09	2
39	159	158,82	110,54	79,41	-7,19	1

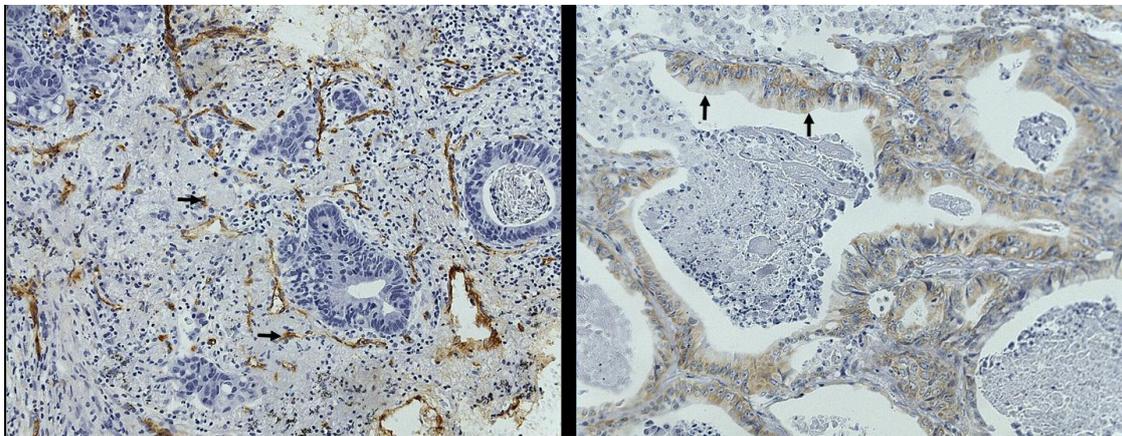
## 7.2. Abbildungen



a

b

c

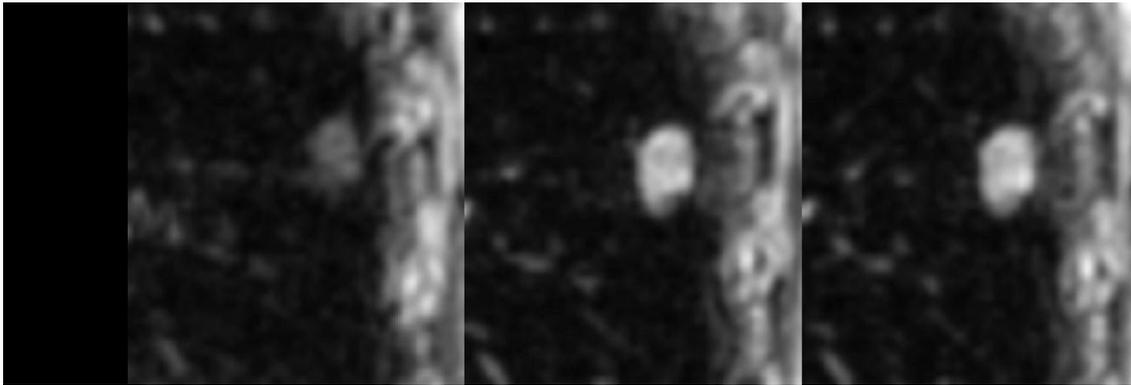


d

e

Abbildungen 20a-e: Fall eines 65-jährigen Mannes mit einem Adenokarzinom der Lunge. Dargestellt sind sagittale Schnitte (a, b, c) dynamischer MRT-Aufnahmen. Nach  $t=0s$  (a, siehe weißer Pfeil) stellte sich eine schwach kontrastierte Läsion mit undeutlich abgrenzbarem Randsaum dar. Nach  $t=30s$  (b) zeigte der Rundherd eine deutliche Kontrastmittelaufnahme. Nach  $t=90s$  (c) verlor der Befund an Intensität, erklärbar durch das wash-out Phänomen. Der Tumor wurde aufgrund des Profils der Kontrastmittelaufnahme Kurventyp 1 zugeordnet.

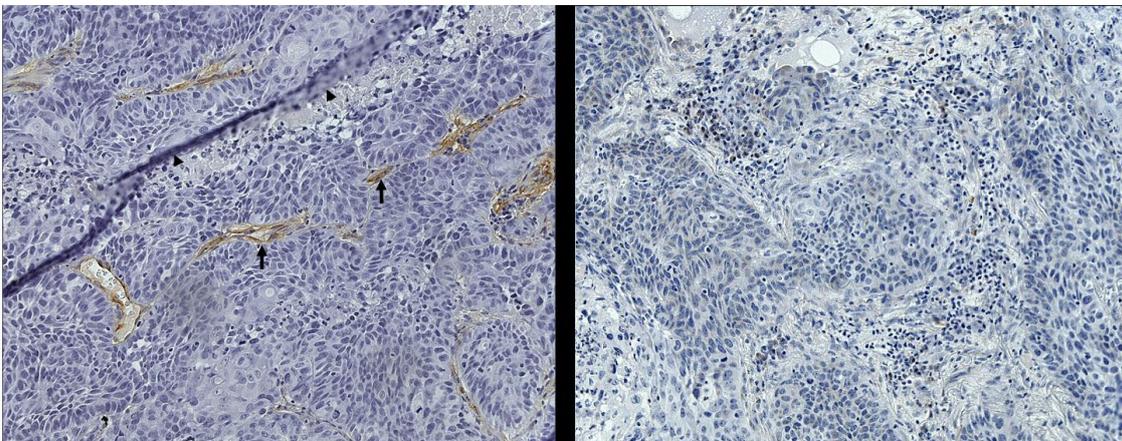
Die Bilder d und e zeigen repräsentative histologische Ausschnitte aus dem Tumor (200-fache Vergrößerung). Die Kapillardichte bei Faktor-VIII-Färbung betrug 33 am Rand und 36 im Zentrum. Die Kapillaren (Abbildung d) sind im Präparat braun gefärbt (2 Kapillaren sind durch Pfeile markiert). Es wurde ein VEGF-Score von 4 ermittelt (Abbildung e). Somit war der Befund VEGF-positiv. Zwei Pfeile markieren immunhistochemisch braun angefärbtes Zytoplasma.



a

b

c

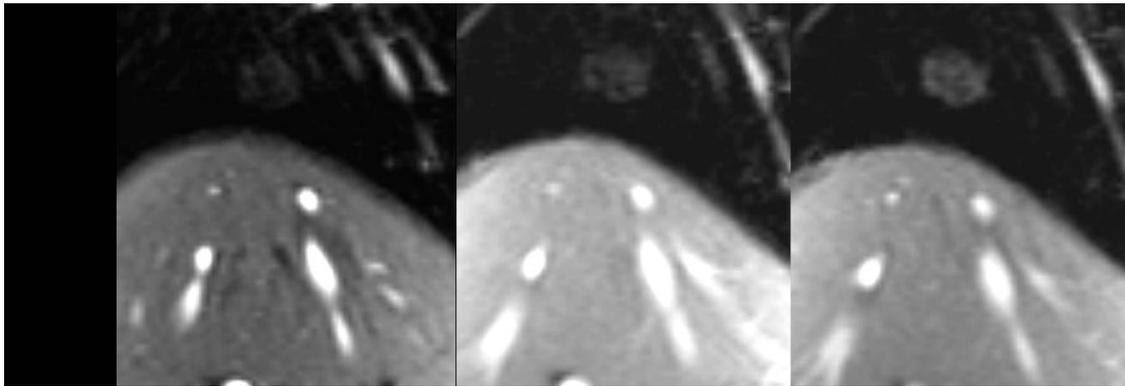


d

e

Abbildungen 21a-e: Fall eines 74-jährigen Mannes mit einem primären Plattenepithelkarzinom der Lunge. Wiederum sind sagittale Schnitte dynamischer MRT-Aufnahmen dargestellt (a, b, c). Nach  $t=0s$  (a) stellte sich eine schwach kontrastierte Läsion mit nur schlecht abgrenzbarem Randsaum dar. Nach  $t=30s$  (b) war eine starke KM-Aufnahme, verteilt über den gesamten Tumor, zu sehen. Der Befund war gut zur restlichen Lunge abzugrenzen. Nach  $t=90s$  (c) erschien die Kontrastmittelanreicherung relativ gleichförmig. Der Tumor wurde aufgrund der KM-Aufnahmecharakteristik Kurventyp 2 zugeteilt.

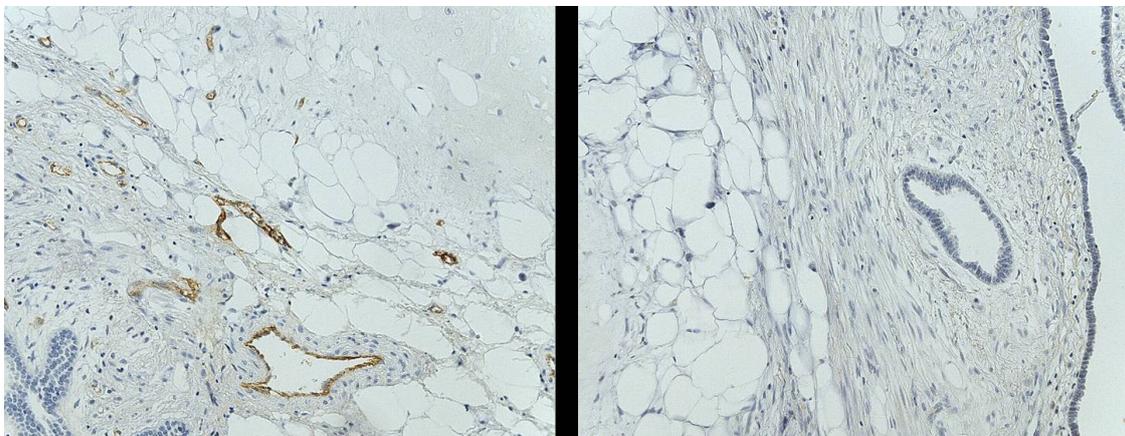
Die Bilder d und e stellen repräsentative histologische Ausschnitte aus dem Tumor (200-fache Vergrößerung) dar. Abbildung d zeigt ein mittels Faktor VIII-Antikörpern gefärbtes Präparat zur Bestimmung der Kapillardichte. Diese betrug im Zentrum hier 14. Mittels Pfeilen sind zwei braun gefärbte Kapillaren markiert. Die oberen zwei Pfeile zeigen Färbeartefakte. Der VEGF-Score betrug bei nur schwacher Reaktion auf die immunhistochemische Färbung (Abbildung e) zwei Punkte. Somit war der Befund VEGF-negativ.



a

b

c

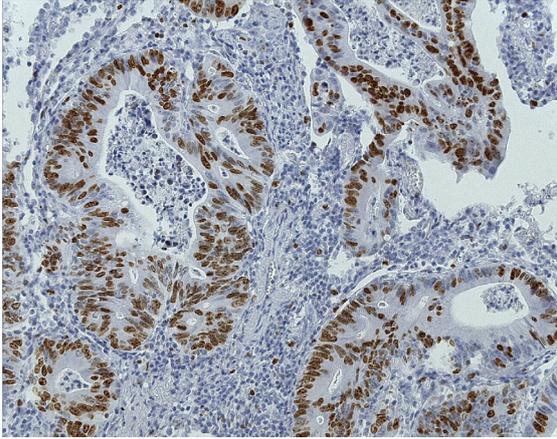


d

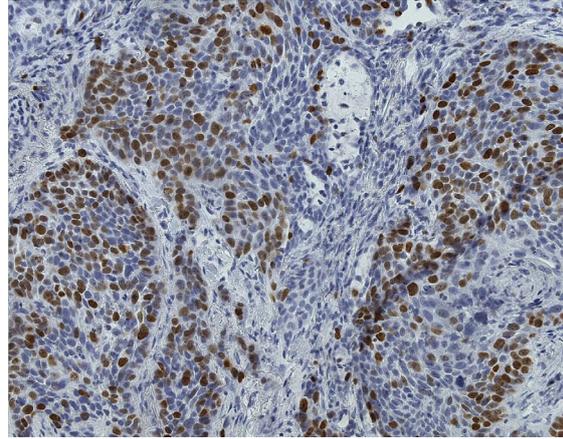
e

**Abbildungen 22a-e: Fall einer 38-jährigen Frau mit einem Hamartochondrom der Lunge. In den Abbildungen a-c sind sagittale Schnitte dynamischer MRT-Aufnahmen dargestellt. Nach  $t=0s$  (a) stellte sich eine schwach kontrastierte Läsion mit relativ gut abgrenzbarem Randsaum dar. Nach  $t=60s$  (b) war eine eher schwache und inhomogene Kontrastmittelaufnahme zu sehen. Nach  $t=210s$  (c) schien sich das Kontrastmittel gleichmäßiger verteilt zu haben. Auch war die Signalintensität geringfügig angestiegen. Der Tumor wurde aufgrund der KM-Aufnahmekarakteristik Kurventyp 3 zugeteilt.**

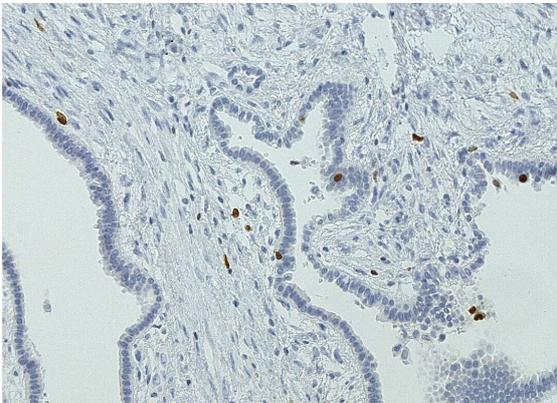
**Die Bilder d und e stellen repräsentative histologische Ausschnitte aus dem Tumor (200-fache Vergrößerung) dar. Abbildung d zeigt ein mittels Faktor VIII-Antikörpern gefärbtes Präparat zur Bestimmung der Kapillardichte. Diese betrug am Rand hier 27. Der VEGF-Score betrug bei negativer Reaktion auf die immunhistochemische Färbung null Punkte (Abbildung e). Somit war der Befund VEGF-negativ.**



a



b



c

**Abbildungen 23a-c: Ergänzende Darstellung der immunhistochemischen Färbungen zur Bestimmung der Zellproliferationsrate (Ki-67) zu den Abbildungen 18-20. Abbildung a stellt den Fall eines 65-jährigen Mannes mit einem Adenokarzinom der Lunge dar. Der Ki-67-Index betrug hier 62%. Abbildung b stellt den Fall eines 74-jährigen Mannes mit einem primären Plattenepithelkarzinom der Lunge dar. Der Ki-67-Index betrug hier 63%. Abbildung c stellt den Fall einer 38-jährigen Frau mit einem Hamartochondrom der Lunge dar. Der Ki-67-Index betrug hier 4%.**

## **8. Danksagung**

Herrn Professor Dr. med. Dr. rer. nat. F. Schick, Leiter der Sektion für Experimentelle Radiologie am Universitätsklinikum Tübingen, danke ich herzlich dafür, dass ich diese Arbeit durchführen konnte.

Herrn Dr. Jürgen Schäfer vom Radiologischen Institut der Universität Tübingen danke ich für die Einarbeitung in das Thema, die sachkundige Beratung und stets freundliche Unterstützung während der gesamten Arbeit.

Danken möchte ich auch Professor Dr. M. Wehrmann vom Pathologischen Institut der Universitätsklinik Tübingen und seinen Mitarbeitern für die Hilfe beim histologischen Teil dieser Arbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Jutta Hahne, Mitarbeiterin am Zentrum für Medizinische Forschung in Tübingen, für die Einarbeitung am Quanti-med-System zur Analyse der histologischen Präparate.

Herrn R. Vonthein vom Institut für Medizinische Biometrie an der Universität Tübingen möchte ich für die Kontrolle und Hilfe beim statistischen Teil dieser Arbeit danken.

Meinen Dank möchte ich auch Prof. Dr. med. A. Bosse (Direktor der Pathologie des Katharinenhospitals in Stuttgart, Dr. med. F. Fritz (Direktor des Pathologischen Instituts des Robert-Bosch-Krankenhauses in Stuttgart) und Prof. Dr. med. B. Bültmann (Direktor der pathologischen Abteilung des Universitätsklinikums Tübingen) und den Mitarbeitern aussprechen, die mir bei der teilweise schwierigen Suche und Auswahl der histologischen Präparate helfend zur Seite standen.

## **9. Lebenslauf**

Name: Vincent Pierre Schneider  
Geburtsdatum: 17. Januar 1977  
Geburtsort: Reutlingen  
Staatsangehörigkeit: deutsch und französisch  
Familienstand: ledig

### **Schule, Wehrdienst:**

09/83 bis 06/96 **Schulbildung**  
Grundschule in Reutlingen-Rommelsbach  
Bildungszentrum Nord in Reutlingen

09/96 bis 09/97 **Zivildienst**  
Dialysezentrum Reutlingen

### **Studium:**

10/97 bis 11/04 **Studium der Humanmedizin, Eberhard-Karls-Universität Tübingen**

03/00 Ärztliche Vorprüfung

03/01 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

09/03 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

18/11/04 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

11/04 Approbation

seit 03/05 Assistenzarzt an der Münsterklinik Zwiefalten