

Aus dem
CharitéCentrum für Chirurgische Medizin
Klinik für Urologie
Direktor: Prof. Dr. Thorsten Schlomm

Habilitationsschrift

**Prognosefaktoren und Therapiestrategien
bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem
Nierenzellkarzinom**

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Urologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von
Dr. med. Bernhard Ralla

Eingereicht: 01/2020
Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries
1. Gutachter/in: Prof. Dr. med. Felix Chun
2. Gutachter/in: Prof. Dr. med. Axel Merseburger

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
1 Einleitung.....	2
1.1 Das Nierenzellkarzinom	2
1.2 Diagnostische Evaluation.....	3
1.3 Prognosefaktoren	4
1.3.1 Anatomische Faktoren	4
1.3.2 Histologische Faktoren.....	4
1.3.3 Klinische und klinisch-chemische Faktoren.....	5
1.3.4 Molekulare Faktoren.....	5
1.3.5 Prognosescores und Nomogramme	5
1.4 Therapiestrategien	6
1.4.1 Therapie des lokal begrenzten und lokal fortgeschrittenen Nierenzellkarzinoms. 6	
1.4.2 Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms	7
2 Ziele der Arbeit und Fragestellungen	9
3 Eigene Arbeiten.....	10
3.1 Prognosefaktoren und onkologisches Ergebnis nach operativer Therapie von Patienten mit lokal fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom.....	10
3.2 Prognostische molekulare Biomarker bei Patienten mit nicht metastasiertem bzw. primär metastasiertem Nierenzellkarzinom.....	19
3.3 Prädiktive molekulare Biomarker für das Ansprechen einer zielgerichteten Systemtherapie bei Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom	32
3.4 Prädiktionsfaktoren und onkologisches Ergebnis einer zielgerichteten Systemtherapie bei Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom nach Versagen von mindestens drei Therapielinien	51
4 Diskussion.....	68
5 Zusammenfassung	73
6 Literaturangaben.....	75
7 Danksagung.....	85
8 Erklärung § 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charite	86

Abkürzungsverzeichnis

AP	Alkalische Phosphatase
CN	Zytoreduktive Nephrektomie
CR	Komplette Remission
CT	Computertomographie
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events
DCR	Disease control rate
EAU	European Association of Urology
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
IMDC	International Metastatic Renal Cancer Database Consortium
IQR	Interquartile range
ISUP	International Society of Urological Pathology
LDH	Laktatdehydrogenase
miRNA	MicroRNAs
MRT	Magnetresonanztomographie
MSKCC	Memorial Sloan Kettering Cancer Center
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
mNZK	Metastasiertes Nierenzellkarzinom
NZK	Nierenzellkarzinom
OS	Gesamtüberleben
PD-1	Programmed cell death protein 1
piRNA	Piwi-interacting RNAs
PR	Partielle Remission
PS	Performance Score
RECIST	Response Evaluation Criteria In Solid Tumors
RNA	Ribonukleinsäure
RFS	Rezidivfreies Überleben
ROC	Receiver-operating characteristic curve
SD	Stabile Erkrankung
SSIGN	Stage Size Grade Necrosis
TKI	Thyrosinkinase-Inhibitoren
TNM	Tumor Node Metastasis Klassifikation
UISS	University of California Los Angeles integrated staging system
VCI	Vena cava inferior
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

1.1 Das Nierenzellkarzinom

Das Nierenzellkarzinom (NZK) stellt nach dem Prostatakarzinom und dem Urothelkarzinom der Harnblase weltweit die dritthäufigste bösartige Tumorerkrankung in der Urologie dar. Im Krebsregister der europäischen Kommission wurden 2018 in Deutschland insgesamt 16 416 NZK-Neuerkrankungen und 8 450 NZK-spezifische Todesfälle registriert [1]. In den USA wird insbesondere bei jungen Erwachsenen ein kontinuierlicher Anstieg der Inzidenz von NZK-Erkrankungen beschrieben [2]. Trotz geographischer Unterschiede zeigt sich weltweit eine Abnahme der Mortalität [3].

Als ätiologische Faktoren werden unter anderem Nikotinabusus, Fettleibigkeit, Bluthochdruck und eine positive Familienanamnese diskutiert [4]. Um das Risiko zu reduzieren, an einem NZK zu erkranken, werden in den Leitlinienempfehlungen der European Association of Urology (EAU) als primäre präventive Maßnahmen vermehrte körperliche Aktivität, ein Nikotinverzicht und bei Adipositas eine Gewichtsreduktion genannt. Ein moderater Alkoholkonsum wird als protektiver Faktor beschrieben [3].

Es werden das lokal begrenzte, das lokal fortgeschrittene und das metastasierte Krankheitsstadium unterschieden, für die jeweils unterschiedliche Prognosen und Therapiestrategien bestehen. Während beim lokal begrenzten NZK der Tumor auf die Niere begrenzt ist, kann es beim lokal fortgeschrittenen Tumorstadium zu einer Ausbreitung in perirenales Gewebe, Hilus und umliegende anatomische Strukturen kommen. Eine Besonderheit stellt das Tumorwachstum per continuitatem in die Vena renalis oder in die Vena cava inferior (VCI) bis teilweise in den rechten Herzvorhof dar. Diese Tumorthromben werden anhand der Mayo-Klassifikation in Level 0-IV eingeteilt (s. Tabelle 1) [5].

Tabelle 1: Mayo-Klassifikation für Tumorthromben in der VCI, nach Neves & Zincke und mit freundlicher Genehmigung von John Wiley and Sons [5]

Level 0	Tumorthrombus reicht nur in die Vena renalis
Level I	Tumorthrombus reicht in die VCI, aber < 2cm über die Einmündung der V. renalis
Level II	Tumorthrombus reicht > 2cm über die Einmündung der V. renalis, befindet sich aber noch unterhalb der Einmündung der Lebervenen
Level III	Tumorthrombus reicht über die Lebervenen, befindet sich aber noch unterhalb des Zwerchfells
Level IV	Tumorthrombus reicht über das Zwerchfell

Im metastasierten Krankheitsstadium kommt es hämatogen am häufigsten zur Fernmetastasierung in die Lunge, Leber und Knochen sowie in das zentrale Nervensystem. Lymphogen metastasiert das NZK in die paraaortalen, paracavalen, retroperitonealen oder direkt in die hiliären Lymphknoten.

1.2 Diagnostische Evaluation

Die meisten Nierenzellkarzinome im lokal begrenzten Stadium bleiben asymptomatisch und werden häufig als Zufallsbefund im Rahmen von radiologischen Untersuchungen entdeckt. Die klassische Trias aus Flankenschmerz, Makrohämaturie und palpabler Raumforderung in der Flanke ist sehr selten geworden (6-10%) und weist auf ein lokal fortgeschrittenes oder metastasiertes Stadium hin [3]. Häufig fallen primär metastasierte NZK-Patienten erst durch Metastasen-verursachte Symptome auf (z.B. Knochenschmerzen, pathologische Frakturen, persistierender Husten, u.a.).

Zur Diagnostik werden eine laborchemische und bildgebende Untersuchung sowie abhängig von der Therapiestrategie eine Biopsie des Nierentumors empfohlen. Laborchemisch sind die Bestimmungen von Serumkreatinin, glomerulärer Filtrationsrate (GFR), Blutbild, Leberfunktionswerten, alkalischer Phosphatase (AP), Laktatdehydrogenase (LDH), korrigiertem Serumcalcium, Blutgerinnungsstatus und Urinanalyse wichtig. Je nach Nierenfunktion und Therapiestrategie sollte eine seitengetrennte Nierenfunktionsszintigraphie durchgeführt werden. Bildgebende Untersuchung der Wahl ist neben einer Sonographie der Nieren, eine multiphasische Kontrastmittel-Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) des Abdomens. Ein wichtiges radiologisches Kriterium für Malignität ist hierbei eine vermehrte Kontrastmittelanreicherung der Raumforderung (sog. Enhancement). Zur Bestimmung der Krankheitsausbreitung, insbesondere beim Verdacht auf ein lokal fortgeschrittenes oder metastasiertes Stadium ist ein vollständiges Staging mit Untersuchung von Becken/Abdomen/Thorax und je nach klinischer Symptomatik auch vom Kopf und Skelett erforderlich [3]. Liegt eine Tumorausbreitung in die VCI vor, kann eine MRT-Untersuchung zusätzliche Informationen zur Ausdehnung eines Tumorzapfens bringen [6, 7]. Entsprechend den nationalen S3-Leitlinien sollte eine perkutane Biopsie des Nierentumors nur erfolgen, wenn dies die Therapiewahl beeinflussen könnte z.B. bei Patienten mit kleinem Nierentumor (small renal mass) vor geplanter ablativer Therapie bzw. aktiver Überwachung oder vor Einleitung einer systemischen Therapie zur histopathologischen Sicherung eines Nierenzellkarzinoms und seines Subtyps [8].

1.3 Prognosefaktoren

Um das individuelle Risiko für ein Rezidiv oder eine Metastasierung eines NZK zu bestimmen, werden anatomische, histologische, klinische und in Zukunft vermehrt molekulare Parameter innerhalb eines prognostischen Systems/Nomogramms verwendet. Im Folgenden wird auf die jeweiligen Faktoren genauer eingegangen.

1.3.1 Anatomische Faktoren

Die Stadieneinteilung des NZK erfolgt nach der Tumor Node Metastasis Klassifikation (TNM-Klassifikation) und beinhaltet neben der Tumorgröße, der Ausbreitung in venöse Gefäße, der Infiltration in perirenales Fettgewebe oder in die Nebenniere auch lymphogene und/oder Fernmetastasen (s. Tabelle 2) [9].

Tabelle 2: 2017 TNM-Klassifikation, nach Brierley & Wittekind und mit freundlicher Genehmigung von John Wiley and Sons [9]

T1	T1a	Primärtumor < 4cm
	T1b	Primärtumor 4-7cm
T2	T2a	Primärtumor > 7cm aber < 10cm
	T2b	Primärtumor > 10cm, aber beschränkt auf die Niere
T3	T3a	Infiltration des perirenalen und/oder peripelvinen Fettgewebes, Infiltration der V. renalis oder muskelstarker Segmentvenen
	T3b	Tumorausbreitung in die V. cava inferior unterhalb des Diaphragmas
	T3c	Tumorausbreitung in die V. cava inferior oberhalb des Diaphragmas, Wandinfiltration der V. cava
T4		Ausbreitung über die Gerota-Faszie hinaus in die Nachbarorgane, sowie die direkte Infiltration der ipsilateralen Nebenniere
N	Nx	Keine Angaben über regionäre Lymphknoten
	N0	Keine regionären Lymphknoten
	N1	Metastasen in einem einzelnen regionären Lymphknoten
M	M0	keine Fernmetastasen
	M1	Fernmetastasen

1.3.2 Histologische Faktoren

Entsprechend der 2016 World Health Organization (WHO) -Klassifikation wird das NZK histologisch in verschiedene Subtypen mit unterschiedlicher Prognose unterteilt: das am häufigsten vorkommende klarzellige (80-90%), das papilläre (6-15%) und das chromophobe

(2-5%) NZK sowie seltenerer NZK-Typen wie z.B. das Ductus-Bellini-Karzinom oder andere hereditäre Formen [10, 11]. Patienten mit chromophobem NZK hatten in einer univariaten Analyse eine signifikant bessere Prognose als Patienten mit papillärem oder klarzelligem NZK [12, 13], die sich jedoch nach Tumorstadium stratifiziert unterscheidet [10, 13].

Das Grading des klarzelligen NZK erfolgte nach der Fuhrmann-Klassifikation und stellt einen wichtigen unabhängigen Prognosefaktor dar [14]. Zusätzlich wird das Grading nach der neueren WHO bzw. International Society of Urological Pathology (ISUP) -Klassifikation angegeben, welche die Fuhrmann-Klassifikation abgelöst hat [15]. Bei allen NZK-Subtypen kann eine sarkomatoide Differenzierung des NZK bestehen, welche (wie auch das Vorhandensein von Tumornekrosen) prognostisch relevant ist und daher im histopathologischen Befund mit angegeben werden soll [3].

1.3.3 Klinische und klinisch-chemische Faktoren

Ein wichtiger etablierter Prognosefaktor für alle Stadien des NZK ist die Beurteilung der körperlichen Konstitution (Performance Status (PS)). Dieser wird entweder auf einer Skala von 0 - 100% angegeben (Karnofsky-Index) oder mit Hilfe des Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) -PS von 0 - 5 ermittelt [16]. Weitere klinisch prognostische Marker sind lokale Symptome, Kachexie, Anämie, Thrombopenie, Erhöhung des C-reaktiven Proteins (CRP) bzw. der Laktatdehydrogenase (LDH) sowie erniedrigtes Albumin.

1.3.4 Molekulare Faktoren

Zahlreiche Publikationen zu molekularen Biomarkern beim NZK wurden in den letzten Jahren veröffentlicht. Im Unterschied zu prognostischen Biomarkern, die unabhängig von der erhaltenen Therapie eine Aussage über die Prognose (Rezidiv, Progression, Gesamtüberleben (OS)) des Tumors geben, erlauben prädiktive Biomarker eine Vorhersage zur Effektivität der Therapie.

Spezielle Formen von Ribonukleinsäuren (RNA) wie z.B. kleine, nicht-kodierende microRNA, die eine wichtige Rolle bei der Genexpression spielen, oder auch piwi-interacting RNA (piRNA), die u.a. bei der translationalen Regulation beteiligt sind, rücken zunehmend in das Interesse als molekulare Biomarker beim NZK. Prospektive Validierungsstudien existieren jedoch nicht, so dass in den nationalen und europäischen Leitlinien die Verwendung von molekularen Biomarkern, auch im Rahmen von Nomogrammen, aufgrund fehlender Evidenz unklar bleibt und derzeit nicht empfohlen wird [3, 8].

1.3.5 Prognosescores und Nomogramme

Das NZK gilt als sehr heterogener Tumor und ist prognostisch im Vergleich zu anderen Tumorentitäten schwer einzuschätzen. Verschiedene multifaktorielle Prognosemodelle

/Nomogramme sind für einzelne Zeitpunkte im Krankheits- und Therapieverlauf des NZK validiert. Im nicht metastasierten Stadium gehören zu den am häufigsten angewandten Modellen das University of California Los Angeles Integrated Staging System (UISS-Model), welches die TNM-Klassifikation, den ECOG-PS und den Fuhrmann-Grad beinhaltet [17], der Stage Size Grade Necrosis (SSIGN) -Score, der die TNM-Klassifikation, den Fuhrmann-Grad, das Vorhandensein von Tumornekrosen und die Tumorgöße bewertet [18] sowie das postoperative Karakiewicz-Nomogramm, das auf die TNM-Klassifikation, klinische Symptome, den Fuhrmann-Grad und die Tumorgöße zurückgreift [19].

Im metastasierten Krankheitsstadium stellt der 1999 publizierte Motzer/Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC) -Score den ältesten und am weitesten verbreiteten Prognosescore dar [20]. Er beinhaltet den Karnofsky-PS, die Dauer zwischen Diagnose und Behandlungsbeginn, die LDH-Aktivität, das korrigierte Calcium und Hämoglobin. In Abhängigkeit von der Anzahl der vorhandenen Faktoren können Risikogruppen mit guter, intermediärer und schlechter Prognose erstellt werden. Heng et al. modifizierten den MSKCC-Score um die beiden Parameter „Anzahl der Neutrophilen“ und „Anzahl der Thrombozyten“ [21]. Aktuelle Studien beim metastasierten NZK verwenden zur Prognoseeinteilung den sog. International Metastatic Renal Cancer Database Consortium (IMDC) -Score, der dem Heng-Score entspricht [22].

1.4 Therapiestrategien

1.4.1 Therapie des lokal begrenzten und lokal fortgeschrittenen Nierenzellkarzinoms

Für das lokal begrenzte NZK stellt die operative Entfernung des Tumors den einzigen kurativen Therapieansatz dar. Die Operationstechniken und Therapieempfehlungen zu den jeweiligen Krankheitsstadien haben sich in den letzten Jahren weiterentwickelt. So wurde der bis 2007 geltende Goldstandard, eine radikale Nephrektomie (RN) bei allen Tumorstadien durchzuführen, zu Gunsten einer organerhaltenden Nierenteilresektion bei Tumoren im Stadium T1, sowie bei entsprechender Expertise und, wenn technisch möglich, auch bei T2 Tumoren abgelöst.

Der Nutzen einer extendierten Lymphadenektomie bei klinisch unauffälligen Lymphknoten wird kontrovers diskutiert: In einer randomisierten, prospektiven Studie bei cN0-Patienten konnte sowohl für das Gesamtüberleben als auch das progressionsfreie Überleben kein signifikanter Vorteil gezeigt werden [23]. Bei lokal fortgeschrittenem NZK wird bei klinisch suspekten Lymphknoten eine Lymphadenektomie empfohlen [24], deren Ausmaß jedoch nicht klar definiert ist [25]. Bei nicht metastasierten NZK-Patienten mit Ausbreitung in die VCI und akzeptablem PS ist eine radikale Nephrektomie mit Tumorthrombektomie, trotz

eingeschränkter Evidenz, die Therapie der Wahl [3]. Sehr alten Patienten oder Patienten mit hoher Komorbidität und einem NZK im klinischen Stadium T1a, kann eine aktive Überwachung (surveillance) oder ein ablatives Therapieverfahren (z.B. eine Kryoablation oder eine Radiofrequenzablation) als alternative Therapiestrategie angeboten werden. Populationsbasierte Studien zeigen jedoch im Vergleich zu operativen Therapieverfahren eine signifikant höhere krebsspezifische Mortalität [26].

In mehreren Phase-III-Studien konnte eine adjuvante medikamentöse Therapie mit den Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) Sorafenib [27] oder Pazopanib [28] keinen Vorteil bzgl. des krankheitsfreien oder des Gesamtüberlebens zeigen. In der S-TRAC Studie konnte bei Patienten mit einem Hochrisiko-NZK (nach modifizierten UISS Kriterien) eine adjuvante Therapie mit Sunitinib das krankheitsfreie Überleben signifikant verlängern. Bei fehlendem Vorteil bzgl. des Gesamtüberlebens und wegen hoher Toxizität besteht jedoch dafür keine Therapieempfehlung [29].

1.4.2 Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms

Im metastasierten Tumorstadium wird die zentrale Frage, ob und wann eine zytoreduktive Nephrektomie (CN) durchgeführt werden soll, zurzeit kontrovers diskutiert. Bei metastasierten NZK-Patienten galt die CN bis 2018 als Goldstandard [30]. In der prospektiv randomisierten CARMENA-Studie konnte, bezogen auf das Gesamtüberleben, eine Nichtunterlegenheit von Sunitinib im Vergleich zur Kombination einer CN gefolgt von Sunitinib nachgewiesen werden [31]. Trotz einiger Mängel im Studiendesign der zugrunde liegenden Studie wird in den europäischen Leitlinien, aufgrund der Level 1-a Evidenz empfohlen, bei Patienten mit schlechter Prognose keine CN durchzuführen [3].

Aufgrund der niedrigen Evidenz zum Stellenwert der lokalen Metastasentherapie (ablativ Therapien, Metastasen Chirurgie, etc.) sollte die Therapiestrategie innerhalb einer interdisziplinären Tumorkonferenz festgelegt werden.

Auch die medikamentöse Therapie bei Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom hat sich in den letzten Jahren rasant gewandelt. Das Portfolio der systemischen Sequenztherapie bestand vor kurzem nur aus den TKIs Sunitinib, Sorafenib, Axitinib, Pazopanib, dem monoklonalen Antikörper Bevacizumab in Kombination mit Interferon-alpha (INF-alpha) sowie den mTOR (mechanistic target of Rapamycin) -Inhibitoren Temsirolimus und Everolimus.

Mit der CheckMate 025 Studie, die den programmed cell death protein 1 (PD-1) -Checkpointinhibitor Nivolumab gegen Everolimus verglich und ein signifikant längeres Gesamtüberleben nachweisen konnte, kam es zu einem Paradigmenwechsel [32]. Nivolumab sowie der ebenfalls nach Veröffentlichung der METEOR-Studie neuzugelassene Multi-TKI Cabozantinib wurden zu Standardtherapien in der Zweitlinie [33].

Jährlich werden Studienergebnisse von TKI (z.B. Tivozanib [34]) und Kombinationen aus Immun-Immuntherapie (z.B. Nivolumab in Kombination mit Ipilimumab [35]) bzw. Immun-TKI-Therapie (z.B. Pembrolizumab in Kombination mit Axitinib [36]) veröffentlicht [37]. Diese verändern die empfohlenen Therapielinien der Sequenztherapie entsprechend den IMDC-Risikogruppen.

2 Ziele der Arbeit und Fragestellungen

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, verschiedene Prognosefaktoren und die unterschiedliche Effektivität von Therapiestrategien bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem NZK, die an der Klinik für Urologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt wurden, zu untersuchen. Folgende Themen wurden im Einzelnen bearbeitet:

Operative Therapie

- Prognosefaktoren und onkologisches Ergebnis nach operativer Therapie von Patienten mit lokal fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom

Prognose

- Prognostische molekulare Biomarker bei Patienten mit nicht metastasiertem bzw. primär metastasiertem Nierenzellkarzinom

Prädiktion des Therapieansprechens

- Prädiktive molekulare Biomarker für das Ansprechen einer zielgerichteten Systemtherapie bei Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom

Systemische Therapie

- Prädiktionsfaktoren und onkologisches Ergebnis einer zielgerichteten Systemtherapie bei Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom nach Versagen von mindestens drei Therapielinien

3 Eigene Arbeiten

3.1 Prognosefaktoren und onkologisches Ergebnis nach operativer Therapie von Patienten mit lokal fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom

Ralla B*, Adams L*, Maxeiner A, Mang J, Krimphove M, Dushe S, Makowski M, Miller K, Fuller F, Busch J. *Perioperative and oncologic outcome in patients treated for renal cell carcinoma with an extended inferior vena cava tumour thrombus level II-IV*. Aktuelle Urol. 2019. Jun 4. <https://doi.org/10.1055/a-0919-4043> *both authors contributed equally

Bei 4-10% aller neudiagnostizierten NZK-Erkrankungen liegt ein lokal fortgeschrittenes Krankheitsstadium mit Tumorwachstum per continuitatem in die VCI vor. Im klinischen Alltag stellt die Therapie dieser Patienten eine große Herausforderung dar und bedarf häufig eines multidisziplinären Vorgehens von Urologen und Viszeral- bzw. Kardiochirurgen. Trotz eingeschränkter Evidenz stellt die radikale Nephrektomie mit Entfernung des Tumorzapfens bei nicht metastasierten Patienten mit akzeptablem PS die Therapie der Wahl dar [3].

Die zum Zeitpunkt dieser Arbeit veröffentlichten Studien untersuchten meist Patienten in allen Tumorthrombusstadien (Level I-IV). Das operative Vorgehen zwischen Level I und Level ≥ 2 unterscheidet sich jedoch signifikant.

Ziel unserer Studie war es daher, neben der Untersuchung des peri-/postoperativen und onkologischen Verlaufs, Prognosekriterien zum onkologischen Ergebnis von Patienten mit fortgeschrittenem Tumorthrombus (Level II-IV) zu analysieren.

Es wurden 61 Patienten mit radiologischem Nachweis eines NZK und fortgeschrittenem Tumorthrombus in die VCI (36 Patienten mit Level II, 8 mit Level III und 17 Patienten mit Level IV) eingeschlossen, die an der Klinik für Urologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin durch eine radikale Nephrektomie mit Tumorthrombektomie behandelt wurden. Eine synchrone Metastasierung lag bei 15% der Patienten vor. Bei allen Patienten war eine vollständige Tumorthrombektomie ohne Gefäßersatz möglich. Im postoperativen Verlauf traten bei drei Patienten (8,4 %) mit Level II, zwei Patienten (25,0 %) mit Level III und fünf Patienten (29,5 %) mit Level IV schwere Komplikationen (Grad \geq IIIb, eingeteilt nach der Clavien-Dindo Klassifikation) auf. Nach 24 Monaten lag die Gesamtüberlebensrate für Patienten mit Tumorthrombus Level II, III und IV bei 66,9 %, 83,3 % und 64,1 %, nach 60 Monaten bei 41,6 %, 83,3 % und 51,3%. Zwei Patienten starben innerhalb von 30 Tagen nach dem operativen Eingriff. Nur das Vorliegen einer primären Metastasierung war ein statistisch signifikant unabhängiger Prädiktor für das OS. Das Tumorthrombuslevel, Alter des Patienten, Komorbiditäten, OP-Technik bzw. -Dauer stellten keine statistisch signifikanten Prädiktoren dar.

3.2 Prognostische molekulare Biomarker bei Patienten mit nicht metastasiertem bzw. primär metastasiertem Nierenzellkarzinom

Busch J*, Ralla B*, Jung M, Wotschofsky Z, Trujillo-Arribas E, Schwabe P, Kilic E, Fendler A, Jung K., *Piwi-interacting RNAs as novel prognostic markers in clear cell renal cell carcinomas*. J Exp Clin Cancer Res, 2015. 34: p. 61. <https://doi.org/10.1186/s13046-015-0180-3> *both authors contributed equally

Trotz kurativ durchgeführter operativer Therapie sowohl im lokal begrenzten als auch lokal fortgeschrittenen Krankheitsstadium entwick <https://doi.org/10.1186/s13046-015-0180-3>eln bis zu 30% der Patienten im Verlauf Metastasen [3]. Zum Abschätzen der Prognose werden Risikoscores verwendet, die derzeit vor allem auf klinischen, pathologischen und radiologischen Parametern basieren und in ihrer Aussagekraft sehr eingeschränkt sind. Es besteht daher ein großer Bedarf an neuen prognostischen Markern, um Hochrisikopatienten zu erkennen und innerhalb personalisierter Therapiestrategien behandeln zu können.

Piwi-interacting RNA sind nicht-kodierende Ribonukleinsäuren, die aus 26-33 Nukleotiden bestehen und wie microRNA eine wichtige Rolle bei der Regulation von Genexpression und Translation spielen [40]. Durch Untersuchungen an Tumorgewebe anderer Entitäten, wie z.B. Magen- oder Blasenkarzinom konnte eine enge Beziehung zwischen dysregulierten piRNA und einer Kanzerogenese gezeigt werden [41-43]. Zum Zeitpunkt dieser Studie existierten in diesem Kontext keine Publikationen zum lokal begrenzten oder metastasierten klarzelligen Nierenzellkarzinom.

Ziel unserer Arbeit war es, das Potential von piRNA als prognostische Biomarker für die Entwicklung eines Rezidivs bzw. für das Gesamtüberleben zu untersuchen. Hierzu wurden piRNA-Expressionsprofile aus Tumorgewebe von Patienten mit lokalisiertem bzw. primär metastasiertem NZK sowie aus Fernmetastasen und gesundem Nierengewebe erstellt und im Vergleich mit klinisch-pathologischen Faktoren bewertet.

Insgesamt wurden 106 Patienten (76 mit lokal begrenztem und 30 mit primär metastasiertem NZK) eingeschlossen, die an der Klinik für Urologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin im Zeitraum von 2003-2010 eine radikale Nephrektomie erhielten. Zusätzlich wurde bei 13 primär metastasierten Patienten Gewebe aus Knochenmetastasen gewonnen. Zum Zeitpunkt der Probengewinnung erhielt keiner der Patienten eine systemische Tumortherapie.

Nach initialer Microarray- Analyse wurden drei piRNA (piR-30924, piR-57125 und piR-38756) ausgewählt und durch quantitative Reverser-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-qPCR) in den Gewebeproben der verschiedenen Gruppen analysiert. Als primäre Endpunkte wurden das rezidivfreie Überleben (RFS) und das OS definiert.

Es konnte gezeigt werden, dass piR-57125 im Tumor von Patienten mit primärer Metastasierung niedriger exprimiert war als im Tumorgewebe von nicht metastasierten Patienten. Dagegen war die Expression von piR-30924 und piR-38756 bei metastasierten Patienten signifikant höher. Die drei Expressionsverhalten in primär metastasierten Patienten korrelierten signifikant mit RFS und OS.

In einer Cox-Regressionsanalyse waren in der Gruppe der primär metastasierten Patienten piR-30924 und piR-57125 und in der Gruppe der nicht metastasierten Patienten piR- 38756 unabhängige prognostische Prädiktoren für RFS und OS.

3.3 Prädiktive molekulare Biomarker für das Ansprechen einer zielgerichteten Systemtherapie bei Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom

Ralla B*, Busch J*, Florcken A, Westermann J, Zhao Z, Kilic E, Weickmann S, Jung M, Fendler A, Jung K., *miR-9-5p in Nephrectomy Specimens is a Potential Predictor of Primary Resistance to First-Line Treatment with Tyrosine Kinase Inhibitors in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma.* *Cancers* (Basel), 2018. 10(9) <https://dx.doi.org/10.3390/cancers10090321> *both authors contributed equally

Die unter 3.2. beschriebene Studie zur Identifizierung von prognostischen Markern zeigt, dass neben den aktuell zur Verfügung stehenden klinischen und histopathologischen Parametern Nukleinsäure-basierte Biomarker das Potenzial haben, wichtige Erkenntnisse zum Verlauf der Erkrankung liefern zu können [39]. Dies stellt die Voraussetzung für individuelle Therapiestrategien dar.

Kommt es nach kurativer operativer Behandlung zur Entstehung von metachronen Metastasen, stellt je nach Metastasenlast und -lokalisierung die Einleitung einer systemischen medikamentösen Therapie eine wichtige Therapiestrategie dar. Unter der zum Zeitpunkt dieser Studie leitliniengerechten Erstlinientherapie mit einem TKI (z.B. Sunitinib) zeigen jedoch 20-30% der Patienten kein Ansprechen. Dieses Phänomen wird als primäre Resistenz definiert. Von einer sekundären oder erworbenen Resistenz wird gesprochen, wenn nach zunächst erfolgreicher Behandlung die Therapie versagt. Dies tritt häufig 6-15 Monaten nach Beginn der Behandlung auf [45].

Zum Zeitpunkt unserer Studie existierten keine Biomarker zur Prädiktion eines Ansprechens von Sunitinib in der Erstlinientherapie. Ziel dieser Arbeit war es daher, prädiktive miRNA-Expressionsprofile aus Tumorgewebe als Biomarker für eine primäre Resistenz einer systemischen Therapie bei Patienten mit mNZK zu identifizieren.

Hierfür wurden 60 Patienten mit mNZK eingeschlossen, die an der Klinik für Urologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin in Erstlinientherapie mit einem TKI (Sunitinib, n=51; Pazopanib, n=6) behandelt wurden. Je nach Therapieansprechen erfolgte die Einteilung in „Responder“ oder „Non-Responder“. Nach initialer Microarray-Analyse in den beiden Gruppen, wurden sieben miRNA mit unterschiedlichen Expressionsprofilen ausgewählt und durch RT-qPCR in den Gewebeproben der beiden Gruppen analysiert.

Nach Durchführung von Receiver-operating characteristic curve analysis (ROC-Analyse), logistischer Regressionsanalyse und Kaplan-Meier Analyse konnte gezeigt werden, dass miR-9-5p und miR-489-3p in der Lage waren, zwischen beiden Gruppen zu differenzieren. Weiter konnte gezeigt werden, dass miR-9-5p das Potenzial als prädiktiver Biomarker bzgl. des Ansprechens einer TKI-Therapie und des PFS unter Therapie besitzt.

3.4 Prädiktionsfaktoren und onkologisches Ergebnis einer zielgerichteten Systemtherapie bei Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom nach Versagen von mindestens drei Therapielinien

Ralla B, Erber B, Goranova I, von der Aue L, Floercken A, Hinz S, Kempkensteffen C, Magheli A, Miller K, Busch J. *Efficacy of fourth-line targeted therapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: a retrospective analysis.* World J Urol, 2016. 34(8) <https://doi.org/10.1007/s00345-015-1740-z>

Wie in der Zusammenfassung der vorhergehenden Studie erwähnt, entwickelt die Mehrzahl der mNZK-Patienten nach Einleitung einer Erstlinientherapie trotz anfänglicher Remission oder Stabilisierung eine sekundäre Resistenz. Diese Patienten müssen im Rahmen einer Sequenztherapie auf eine andere Therapie umgestellt werden. Innerhalb der deutschen und der europäischen Leitlinien existieren Empfehlungen zur Erst-, Zweit- und teilweise Drittlinientherapie, die regelmäßig aktualisiert werden. Die Evidenz von Therapiestrategien bei Patienten mit mNZK nach Versagen einer Drittlinientherapie ist nur eingeschränkt vorhanden und basiert vor allem auf Expertenmeinung und persönlicher Erfahrung.

Ziel der beiden folgenden Arbeiten war die Untersuchung der Effektivität einer systemischen Therapie bei metastasierten Patienten, die bereits mindestens drei Therapielinien als Sequenztherapie erhielten. Zusätzlich wurden Prädiktoren bzgl. des PFS und OS exploriert. Hierzu wurden an der Klinik für Urologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin von insgesamt 406 Patienten mit Erstlinientherapie die klinischen Behandlungsdaten retrospektiv analysiert. Insgesamt wurden 56 Patienten (14,8%) mit mehr als drei Therapielinien identifiziert und in die Studie eingeschlossen. Das Therapieansprechen wurde alle zwölf Wochen radiologisch anhand der RECIST-Kriterien evaluiert. Die Toxizität wurde nach der CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events Vers. 3) -Klassifikation definiert. Primäre Endpunkte waren das PFS und OS.

Die Krankheitskontrollrate (disease control rate (DCR)) in Viertlinientherapie, die sich aus kompletter Remission (CR), partieller Remission (PR) und stabiler Erkrankung (SD) zusammensetzt, lag bei 35,7%. Das mediane OS ab Beginn einer Erstlinientherapie betrug 47,4 Monate (interquartile range (IQR) 31,0-76,5 Monate). Prädiktive Faktoren für ein kürzeres OS ab Beginn der Erstlinientherapie waren eine primäre Resistenz in der Erstlinientherapie, eine synchrone Metastasierung bei Diagnosestellung und ein intermediäres MSKCC-Risikoprofil. Das mediane OS ab Einleitung einer Viertlinientherapie betrug 10,5 Monate (IQR 5,6 -22,6 Monate) mit einem medianen PFS von 3,2 Monaten (IQR 1,6 – 8,0 Monate) und war unabhängig vom besten Ansprechen in einer Erstlinientherapie. Bei 16,1% der Patienten musste die Therapie toxizitätsbedingt beendet werden.

Ralla B, Erber B, Goranova I, Klooker A, Maxeiner A, Hinz S, Kempkensteffen C, Magheli A, Miller K, Busch J., *Retrospective Analysis of Fifth-Line Targeted Therapy Efficacy in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma*. Urol Int, 2017. 98(2) <https://doi.org/10.1159/000444764>

In der vorherigen Studie zur Effektivität einer Viertlinientherapie konnte gezeigt werden, dass mNZK Patienten auch in fortgeschrittenen Therapielinien von einer systemischen medikamentösen Therapie profitieren [46]. Durch die Zulassung von effektiveren Medikamenten unterliegen die Leitlinienempfehlungen zur Therapiestrategie einer ständigen Veränderung. Hierdurch ist es nur sehr eingeschränkt möglich, durch klinische Studien eine höhergradige Evidenz zur Sequenztherapie in fortgeschrittenen Therapielinien zu erhalten. Behandlungsentscheidungen basieren daher vorwiegend auf der individuellen Präferenz des Behandlers. In diesem Kontext können Analysen aus Expertenzentren Behandlungsentscheidungen helfen zu verbessern.

Ziel unserer Studie war es, die Effektivität einer systemischen Therapie und prädiktive Faktoren zur Prognose von mNZK Patienten in Fünftlinientherapie zu untersuchen. Hierzu wurden an der Klinik für Urologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin von insgesamt 406 Patienten mit Erstlinientherapie, 25 Patienten (6,16%) mit mehr als vier Therapielinien identifiziert und in die Studie eingeschlossen. PFS und OS wurden mit Hilfe von Kaplan-Meier Analysen bestimmt und prädiktive Faktoren für PFS und OS durch Cox-Regressionsanalysen analysiert.

Die DCR von Patienten in Fünftlinientherapie lag bei 20%. Das mediane OS ab Einleitung der Erstlinientherapie betrug 50,2 Monate (IQR 38,9 – 76,7 Monate). Das mediane OS ab Einleitung der Fünftlinientherapie betrug 6,2 Monate (IQR 3,1 – 23,8 Monate) mit einem medianen PFS von 4,1 Monaten (IQR 1,81 – 9,07 Monaten).

Einzigster prädiktiver Faktor für ein kürzeres OS ab Einleitung der Erstlinientherapie war eine primäre Resistenz in der Erstlinientherapie.

4 Diskussion

Das Nierenzellkarzinom (NZK) stellt weltweit die dritthäufigste bösartige Erkrankung in der Urologie dar. Insbesondere bei jungen Erwachsenen wird ein kontinuierlicher Anstieg der Inzidenz von NZK-Erkrankungen beschrieben [2]. Erfreulicherweise werden diese Tumore jedoch zunehmend im Rahmen von bildgebenden Untersuchungen als sogenannte inzidentelle NZK in einem frühen Krankheitsstadium entdeckt, in dem sie kurativ behandelt werden können [48]. Zwischen 15-30% der Patienten erleiden jedoch im Verlauf der Erkrankung ein Rezidiv oder Metastasen [3].

Eine risikoadaptierte Nachsorge z.B. anhand der UISS-Risikostratifizierung ist daher nach initialer Therapie unabdingbar. Ziele der Nachsorge sind: die Erkennung von Lokalrezidiven, Rezidiven in der kontralateralen Niere, Fernmetastasen sowie die Beurteilung der Nierenfunktion und die Erfassung von Komplikationen der Primärtherapie. Vor allem bei lokal fortgeschrittenen Tumoren (pT3 oder pT4 und/oder pN1), die als Hochrisikotumoren klassifiziert werden, wird eine intensivierete Nachsorge empfohlen [8]. Es existiert jedoch keine höhergradig evidenzbasierte Empfehlung wie und wie lange diese Nachsorge durchzuführen ist. Daher besteht ein großer Bedarf an prognostischen Markern, insbesondere Biomarkern, um den Patienten eine individualisierte Therapie- und Nachsorgestrategie anbieten zu können. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Prognosefaktoren und Effektivität von Therapiestrategien bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem Nierenzellkarzinom, die an der Klinik für Urologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt wurden, zu analysieren.

In der unter 3.1. vorgestellten Studie wurden diesbezüglich Patienten mit lokal fortgeschrittenem NZK und nachgewiesenem Tumorthrombus in der VCI (Level II-IV) im nicht metastasierten (85%) bzw. metastasierten Krankheitsstadium (15%) untersucht [38].

Einzelne Fallberichte existieren zur Tumorthrombusreduktion unter einer neoadjuvanten TKI-Therapie [49]. In einer retrospektiven Analyse konnte jedoch kein statistisch signifikanter Vorteil für die sich an die neoadjuvante Therapie anschließende operative Therapie nachgewiesen werden [50]. Bei nicht metastasierten Patienten mit akzeptablem PS ist die radikale operative Entfernung der Niere mit Exzision des Tumorthrombus die Therapiestrategie der Wahl [5, 51-57].

Wie unter 1.4.2 beschrieben, stellt sich bei Patienten mit synchronen Metastasen die zentrale Frage, ob und wann eine zytoreduktive Nephrektomie (CN) durchgeführt werden soll. Aufgrund der Evidenz aus der CARMENA-Studie wird in den europäischen Leitlinien empfohlen, bei Patienten mit schlechter Prognose keine CN durchzuführen [3, 31]. Da Patienten mit extendiertem Tumorthrombus aufgrund der okkludierten VCI häufig in ihrer körperlichen Belastungsfähigkeit eingeschränkt sind und ein erhöhtes Risiko von Thrombembolien

aufweisen, könnten sie von einer lokalen operativen Therapie dennoch profitieren. In einer Studie von Lenis et al. wurde der onkologische Verlauf von insgesamt 8629 mNZK-Patienten, von denen 2376 Patienten (27%) einen Tumorthrombus (Level 0-IV) aufwiesen, untersucht. Patienten mit einem Tumorthrombus, die mit einer CN behandelt wurden, zeigten ein signifikant höheres OS. Dieser Vorteil war allerdings nur bei Patienten mit einem infradiaphragmalen Tumorthrombus (Level I-III) vorhanden [58]. Die optimale Therapiestrategie bei mNZK-Patienten mit Tumorthrombus bleibt daher zurzeit unklar.

Im Vergleich zu anderen Veröffentlichungen traten in unserer Studie im postoperativen Verlauf bei 8,4%, 25,0% bzw. 29,5% der Patienten mit Level II, III bzw. IV schwere Komplikationen (Grad \geq IIIb, eingeteilt nach der Clavien-Dindo Klassifikation) auf. Eine akkurate präoperative Einschätzung und eine perioperative Überwachung des Tumorthrombus sind hierbei notwendig. In Zusammenarbeit mit der Klinik für Radiologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin wurde zur präoperativen Evaluation ein spezielles MRT-Protokoll entwickelt, das in einer ersten Auswertung eine statistisch signifikante Überlegenheit gegenüber einer konventionellen MRT- oder CT-Untersuchung zeigte [59].

Die 5-Jahres-Überlebensrate unserer Studie lag bei 52,1% und ist vergleichbar mit der einer retrospektiven, multizentrischen Studie mit insgesamt 1774 Patienten, bei der das krebspezifische Überleben für alle Tumorthrombuslevel nach fünf Jahren 53,4% betrug [60]. Weiter konnten wir zeigen, dass nur das Vorliegen einer primären Metastasierung ein statistisch signifikanter Prädiktor für das Gesamtüberleben war. Das Thrombuslevel, Alter des Patienten, Komorbiditäten, OP-Technik und -Dauer stellten keine statistisch signifikanten Prädiktoren für OS dar [38]. Uneinheitliche Ergebnisse existieren zum Einfluss des Thrombuslevel auf das OS: Während in einigen Veröffentlichungen ein höheres Level mit einem statistisch signifikant kürzeren OS verbunden war [61-63], konnte in anderen Studien analog zu unseren Ergebnissen ein solcher Einfluss nicht nachgewiesen werden [51, 64-66]. Zusammengefasst stehen die Ergebnisse unserer Arbeit in Einklang mit der Schlussfolgerung eines systematischen Reviews aus 14 Studien mit insgesamt 2262 NZK Patienten mit Tumorthrombus. Eine operative Therapie stellt trotz hohen peri- und postoperativen Risikos eine anspruchsvolle, aber effektive Therapiestrategie dar [67].

In der unter 3.2. vorgestellten Studie wurde eine Genom-basierte Expressionsanalyse von piRNA durchgeführt. Damit war es möglich, Expressionsprofile und deren Potenzial als Biomarker für RFS und OS zu untersuchen [39]. In einem von unserer Arbeitsgruppe veröffentlichten systematischen Review wurde das Potenzial von Nukleinsäure-basierten Biomarkern in Körperflüssigkeiten [68] oder aus Gewebe [69] als diagnostische, prognostische, prädiktive oder Verlaufsmarker beim NZK und anderen urologischen Tumoren aufgezeigt.

Nach Microarray-Analyse wurden drei unterschiedlich exprimierte piRNA ausgewählt. Obwohl in nicht metastasiertem Tumorgewebe alle ausgewählten piRNA im Vergleich zu Normalgewebe signifikant herunterreguliert waren, zeigten alle drei in metastasiertem Tumorgewebe und Gewebe aus Knochenmetastasen verschiedene Expressionsprofile [39]. In einer univariaten Analyse waren alle drei piRNA statistisch signifikante Prädiktoren für OS bei Patienten mit lokal begrenzten und metastasierten NZK.

Zusammen mit der histologischen Tumordifferenzierung war piRNA-38756 ein unabhängiger prognostischer Faktor für die Vorhersage von RFS und OS bei nicht metastasierten NZK-Patienten. Weiter konnte gezeigt werden, dass piRNA als zusätzliche Biomarker, konventionelle Prognosemodelle (bestehend aus klinisch-pathologischen Variablen) signifikant verbessern. Nach Veröffentlichung unserer Arbeit erschienen eine Reihe von Publikationen, in denen unsere Schlussfolgerungen bestätigt wurden [70, 71].

Das Verständnis über piRNA als neue Klasse von nicht kodierenden RNA ist noch rudimentär. Vor allem die Identifikation von piRNA-Zielstrukturen und der dahinter geschalteten Stoffwechselwege stellt eine große Herausforderung dar und könnte zu neuen Therapiestrategien führen.

In der unter 3.3. vorgestellten, dritten Arbeit wurde eine erhöhte Expression von miR-9-5p und eine verringerte Expression von miR-489-3p im Tumorgewebe von Patienten mit mNZK als prädiktive Biomarker für eine primäre Resistenz einer Erstlinientherapie mit einem TKI nachgewiesen [44].

Die Identifikation von Patienten mit primärer Resistenz vor Einleitung einer systemischen Therapie erspart den Patienten eine belastende, teure und vor allem unwirksame Therapie und verzögert so nicht die Umstellung auf andere Therapiestrategien.

Andere Studien bestätigen prinzipiell die Bedeutung von miRNA in diesem Kontext. Es ist aber kritisch anzumerken, dass zu einem verschiedenen gewählte Zeitpunkte zur Bestimmung einer primären Resistenz verwendet wurden, zum anderen aber auch präanalytische und analytische Variationen bei den verschiedenen Studien bestehen. Beides kann großen Einfluss auf die unterschiedlich gefundenen Expressionsprofile haben [72-75].

Nach initialer Microarray-Analyse in den beiden Gruppen "Responder" oder "Non-Responder", wurden sieben miRNA mit unterschiedlichen Expressionsprofilen ausgewählt und durch RT-qPCR in den Gewebeproben der beiden Gruppen analysiert.

Zielstellung der Arbeit war, das prädiktive Potenzial von bestehenden klinisch-pathologischen Modellen durch die Kombination mit miRNA zu verbessern.

Die Verwendung von miR-9-5p allein, die Ratio von miR-9-5p zu miR-489-3p und die Kombination mit klinisch-pathologischen Variablen zeigten in einer Regressionanalyse eine gleich hohe Unterscheidungsfähigkeit zwischen den beiden Gruppen. In einer multivariablen

Cox-Regressionsanalyse blieb miR-9-5p als unabhängige Variable. Die Kombination von miR-9-5p mit den routinemäßig erhobenen klinisch-pathologischen Faktoren verbesserte die korrekte Vorhersage einer primären Resistenz.

Neben der Bedeutung als prädiktive Biomarker, könnten miRNAs wegen ihrer regulatorischen Funktionen in Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auch zu einem besseren Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen der primären Resistenz führen.

In den unter 3.4. vorgestellten beiden letzten Studien wurde die Effektivität und Toxizität einer systemischen Therapie bei metastasierten NZK-Patienten untersucht, die bereits mindestens drei Therapielinien erhielten. Zudem wurden Prädiktionsfaktoren analysiert [46, 47]. Da in diesem Krankheitsstadium randomisiert-kontrollierte Studien fehlen, geben nationale und europäische Leitlinien keine Empfehlung nach Versagen einer Drittlinientherapie. Die Beratung eines Patienten mit radiologischem Progress unter Drittlinientherapie in Hinblick auf die Effektivität und Toxizität einer Viert- oder Fünftlinientherapie basiert daher vorwiegend auf dem Patientenwillen und der persönlichen Erfahrung des behandelnden Arztes. Alternative Therapiestrategien sind die Fortführung der Drittlinientherapie bis zum klinischen Progress oder die Beendigung der Systemtherapie und Einleitung einer bestmöglichen unterstützenden (supportiven) Behandlung. Ergebnisse aus dem IMDC unterstützen das Therapiekonzept der Fortführung einer Systemtherapie. Patienten, die eine Drittlinientherapie erhielten, hatten ein signifikant längeres OS von 12,4 Monaten vs. 2,1 Monaten als Patienten ohne Systemtherapie nach Versagen einer Zweitlinientherapie [76]. Daher können Daten zu Behandlungsergebnissen, die unter realen Alltagsbedingungen außerhalb von randomisierten kontrollierten Studien erhoben werden, dem behandelnden Arzt und auch dem Patienten die Entscheidungsfindung zur Fortführung der Systemtherapie erleichtern [77].

Aus anderen Studien ist bekannt, dass ca. 20% der Patienten eine Drittlinientherapie erreichen [78, 79]. In unserem Kollektiv wurden 56 Patienten (14,8%) bzw. 25 Patienten (6,16%) mit mehr als drei bzw. mehr als vier Therapielinien identifiziert. Sowohl in Viert- als auch in Fünftlinientherapie lag die DCR bei 35,7% bzw. 20%. Das mediane OS von Beginn einer Erstlinientherapie betrug 47,4 Monate bzw. 50,2 Monate. Das mediane OS von Beginn einer Viert- bzw. Fünftlinientherapie betrug 10,5 Monate bzw. 6,2 Monate mit einem PFS von 3,2 Monaten bzw. 4,1 Monaten. Sowohl in Viert- als auch in Fünftlinientherapie zeigten Patienten mitunter eine partielle Remission als bestes Therapieansprechen.

Prädiktive Faktoren für ein kürzeres OS bei Patienten in Viertlinientherapie waren eine primäre Resistenz in der Erstlinientherapie, eine synchrone Metastasierung und ein intermediäres MSKCC-Risikoprofil.

Nach Publikation unserer Ergebnisse folgten Veröffentlichungen mit Ergebnissen zu Drittlinientherapie: In einer multizentrischen Studie des IMDC mit insgesamt 4824 mNZK-

Patienten wurde bei 21% eine Drittlinientherapie eingeleitet. Das mediane OS lag bei 12,4 Monaten, das PFS bei 3,9 Monaten mit einer DCR von 61,6% [76].

Trotz Limitationen unserer beiden retrospektiven Studien kann gefolgert werden, dass Patienten auch von weiteren Therapielinien nach Versagen einer Drittlinientherapie profitieren können. Es ist jedoch unklar, ob das untersuchte Kollektiv aufgrund unterschiedlicher biologischer Tumoreigenschaften bereits einer hohen Selektion unterlegen hat. Weiter gilt es zu erwähnen, dass zum Zeitpunkt unserer Studien das Portfolio der systemischen Sequenztherapie begrenzt war und lediglich aus den TKIs Sunitinib, Sorafenib, Axitinib, Pazopanib, dem monoklonalen Antikörper Bevacizumab in Kombination mit Interferon-alpha (INF-alpha) sowie den mTOR (mechanistic target of Rapamycin) -Inhibitoren Temsirolimus und Everolimus bestand. Wie bereits unter 1.4.2 beschrieben, verändern sich die Therapieempfehlungen aufgrund der veröffentlichten Studienergebnisse von TKI (z.B. Tivozanib [34]) und Kombinationen aus Immun-Immuntherapien (z.B. Nivolumab in Kombination mit Ipilimumab [35]) bzw. Immun-TKI Therapie (z.B. Pembrolizumab in Kombination mit Axitinib [36]). Randomisiert-kontrollierte Studien zu einer Sequenztherapie sind durch die Vielfalt der Therapieoptionen daher in Zukunft noch schwerer durchzuführen.

5 Zusammenfassung

Das Nierenzellkarzinom (NZK) stellt weltweit die dritthäufigste bösartige Erkrankung in der Urologie dar. Es werden das lokal begrenzte, das lokal fortgeschrittene und das metastasierte Krankheitsstadium unterschieden für die jeweils unterschiedliche Prognosen und Therapiestrategien bestehen. Eine Besonderheit beim lokal fortgeschrittenen NZK stellt das Tumorstadium per continuitatem in die Vena renalis oder Vena cava inferior (VCI) dar, das bei 4-10% aller neudiagnostizierten NZK-Erkrankungen vorliegt. Trotz kurativer Therapie bei Patienten mit lokal begrenztem oder lokal fortgeschrittenem NZK erleiden zwischen 15-30% der Patienten im Verlauf ein Rezidiv oder Metastasen. Um den Patienten eine individualisierte Therapie- und Nachsorgestrategie anbieten zu können, besteht daher ein großer Bedarf an prognostischen Markern, insbesondere Biomarkern.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, verschiedene Prognosefaktoren und die unterschiedliche Effektivität von Therapiestrategien bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem NZK, die an der Klinik für Urologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt wurden, zu untersuchen.

In der ersten Studie dieser Arbeit wurden hierzu Patienten mit radiologischem Nachweis eines NZK und fortgeschrittenem Tumorthrombus in die VCI (Level II-IV nach der Mayo-Klassifikation) die durch eine radikale Nephrektomie mit Tumorthrombektomie behandelt wurden, untersucht. Nur das Vorliegen einer primären Metastasierung war ein statistisch signifikant unabhängiger Prädiktor für das Gesamtüberleben. Das Tumorthrombuslevel, Alter des Patienten, Komorbiditäten, OP-Technik bzw. -Dauer stellten keine statistisch signifikanten Prädiktoren dar. Eine radikale Nephrektomie mit Tumorthrombektomie stellt trotz hohen peri- und postoperativen Risikos eine anspruchsvolle, aber effektive Therapiestrategie dar.

Ziel der zweiten Studie dieser Arbeit war es das Potenzial von piwi-interacting RNA (piRNA), als prognostische Biomarker für die Entwicklung eines Rezidivs bzw. für das Gesamtüberleben (OS) zu untersuchen. Es konnte gezeigt werden, dass alle drei ausgewählten piRNA in metastasiertem Tumorgewebe und Gewebe aus Knochenmetastasen verschiedene Expressionsprofile aufwiesen und statistisch signifikante Prädiktoren für OS bei Patienten mit lokal begrenzten und metastasierten NZK waren, obwohl in nicht metastasiertem Tumorgewebe alle drei piRNA im Vergleich zu Normalgewebe signifikant herunterreguliert waren. Zusammen mit der histologischen Tumordifferenzierung war piRNA-38756 bei nicht metastasierten NZK-Patienten ein unabhängiger prognostischer Faktor für die Vorhersage des rezidivfreien Überlebens (RFS) und des OS. Weiter konnte gezeigt werden, dass piRNA als zusätzliche Biomarker konventionelle Prognosemodelle signifikant verbessern.

Ziel der dritten Studie dieser Arbeit war es miRNA-Expressionsprofile aus Tumorgewebe als prädiktive Biomarker für eine primäre Resistenz einer systemischen Therapie bei Patienten mit mNZK zu identifizieren. Hierfür wurden Patienten mit mNZK eingeschlossen, die in Erstlinientherapie mit einem TKI behandelt wurden und je nach Therapieansprechen in „Responder“ und „Non-Responder“ eingeteilt wurden. Es konnte gezeigt werden, dass miR-9-5p und miR-489-3p in der Lage waren, zwischen beiden Gruppen zu differenzieren und miR-9-5p das Potenzial als prädiktiver Biomarker bzgl. des Ansprechens einer TKI-Therapie und des progressionsfreien Überlebens (PFS) unter Therapie besitzt.

Ziel der vierten und fünften Studie dieser Arbeit war die Untersuchung der Effektivität einer systemischen Therapie bei metastasierten NZK-Patienten, die bereits mindestens drei Therapielinien als Sequenztherapie erhielten. Zusätzlich wurden Prädiktoren bzgl. des PFS und OS exploriert. Sowohl in Viert- als auch in Fünftlinientherapie lag die Krankheitskontrollrate (DCR) bei 35,7% bzw. 20%. Das mediane OS von Beginn einer Viert- bzw. Fünftlinientherapie betrug 10,5 Monate bzw. 6,2 Monate mit einem PFS von 3,2 Monaten bzw. 4,1 Monaten. Sowohl in Viert- als auch in Fünftlinientherapie zeigten Patienten mitunter eine partielle Remission als bestes Therapieansprechen. Prädiktive Faktoren für ein kürzeres OS bei Patienten in Viertlinientherapie waren eine primäre Resistenz in der Erstlinientherapie, eine synchrone Metastasierung bei Diagnosestellung und ein intermediäres MSKCC-Risikoprofil.

6 Literaturangaben

1. ECIS - European Cancer Information System; <https://ecis.jrc.ec.europa.eu/> Zugriff am 19.01.2020.
2. King SC, Pollack LA, Li J, King JB, Master VA. Continued increase in incidence of renal cell carcinoma, especially in young patients and high grade disease: United States 2001 to 2010. *J Urol.* 2014;191(6):1665-70.
3. Ljungberg B, Albiges L, Abu-Ghanem Y, Bensalah K, Dabestani S, Fernandez-Pello S, Giles RH, Hofmann F, Hora M, Kuczyk MA, Kuusk T, Lam TB, Marconi L, Merseburger AS, Powles T, Staehler M, Tahbaz R, Volpe A, Bex A. European Association of Urology Guidelines on Renal Cell Carcinoma: The 2019 Update. *Eur Urol.* 2019;75(5):799-810.
4. Hidayat K, Du X, Zou SY, Shi BM. Blood pressure and kidney cancer risk: meta-analysis of prospective studies. *J Hypertens.* 2017;35(7):1333-44.
5. Neves RJ, Zincke H. Surgical treatment of renal cancer with vena cava extension. *Br J Urol.* 1987;59(5):390-5.
6. Janus CL, Mendelson DS. Comparison of MRI and CT for study of renal and perirenal masses. *Crit Rev Diagn Imaging.* 1991;32(2):69-118.
7. Mueller-Lisse UG, Mueller-Lisse UL. Imaging of advanced renal cell carcinoma. *World J Urol.* 2010;28(3):253-61.
8. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft DK, AWMF): Diagnostik TuNdN, Langversion, 1.2, AWMF Registernummer: 043/017OL, <http://leitlinienprogrammonkologie.de/Nierenzellkarzinom.85.0.html>. Zugriff am 19.01.2020
9. Brierley JDG, M.K.; Wittekind, C. TNM Classification of Malignant Tumours, 8th Edition. 2017.
10. Capitanio U, Cloutier V, Zini L, Isbarn H, Jeldres C, Shariat SF, Perrotte P, Antebi E, Patard JJ, Montorsi F, Karakiewicz PI. A critical assessment of the prognostic value of clear cell, papillary and chromophobe histological subtypes in renal cell carcinoma: a population-based study. *BJU Int.* 2009;103(11):1496-500.

11. Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *Eur Urol.* 2016;70(1):93-105.
12. Cheville JC, Lohse CM, Zincke H, Weaver AL, Blute ML. Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2003;27(5):612-24.
13. Patard JJ, Leray E, Rioux-Leclercq N, Cindolo L, Ficarra V, Zisman A, De La Taille A, Tostain J, Artibani W, Abbou CC, Lobel B, Guille F, Chopin DK, Mulders PF, Wood CG, Swanson DA, Figlin RA, Belldegrun AS, Pantuck AJ. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. *J Clin Oncol.* 2005;23(12):2763-71.
14. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1982;6(7):655-63.
15. Delahunt B, Cheville JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, McKenney J, Egevad L, Algaba F, Moch H, Grignon DJ, Montironi R, Srigley JR, Members of the IRTTP. The International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for renal cell carcinoma and other prognostic parameters. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(10):1490-504.
16. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, Carbone PP. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol.* 1982;5(6):649-55.
17. Zisman A, Pantuck AJ, Wieder J, Chao DH, Dorey F, Said JW, deKernion JB, Figlin RA, Belldegrun AS. Risk group assessment and clinical outcome algorithm to predict the natural history of patients with surgically resected renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2002;20(23):4559-66.
18. Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. *J Urol.* 2002;168(6):2395-400.
19. Karakiewicz PI, Briganti A, Chun FK, Trinh QD, Perrotte P, Ficarra V, Cindolo L, De la Taille A, Tostain J, Mulders PF, Salomon L, Zigeuner R, Prayer-Galetti T, Chautard D, Valeri A, Lechevallier E, Descotes JL, Lang H, Mejean A, Patard JJ. Multi-institutional

- validation of a new renal cancer-specific survival nomogram. *J Clin Oncol.* 2007;25(11):1316-22.
20. Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, Berg W, Amsterdam A, Ferrara J. Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 1999;17(8):2530-40.
 21. Heng DY, Xie W, Regan MM, Warren MA, Golshayan AR, Sahi C, Eigel BJ, Ruether JD, Cheng T, North S, Venner P, Knox JJ, Chi KN, Kollmannsberger C, McDermott DF, Oh WK, Atkins MB, Bukowski RM, Rini BI, Choueiri TK. Prognostic factors for overall survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with vascular endothelial growth factor-targeted agents: results from a large, multicenter study. *J Clin Oncol.* 2009;27(34):5794-9.
 22. Ko JJ, Xie W, Kroeger N, Lee JL, Rini BI, Knox JJ, Bjarnason GA, Srinivas S, Pal SK, Yuasa T, Smoragiewicz M, Donskov F, Kaneshwaran R, Wood L, Ernst DS, Agarwal N, Vaishampayan UN, Rha SY, Choueiri TK, Heng DY. The International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium model as a prognostic tool in patients with metastatic renal cell carcinoma previously treated with first-line targeted therapy: a population-based study. *Lancet Oncol.* 2015;16(3):293-300.
 23. Blom JH, van Poppel H, Marechal JM, Jacqmin D, Schroder FH, de Prijck L, Sylvester R, Group EGTC. Radical nephrectomy with and without lymph-node dissection: final results of European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) randomized phase 3 trial 30881. *Eur Urol.* 2009;55(1):28-34.
 24. Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin RA, deKernion JB, Belldegrun A. Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria. *J Urol.* 2000;163(4):1090-5; quiz 295.
 25. Capitanio U, Becker F, Blute ML, Mulders P, Patard JJ, Russo P, Studer UE, Van Poppel H. Lymph node dissection in renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 2011;60(6):1212-20.
 26. Zini L, Perrotte P, Jeldres C, Capitanio U, Duclos A, Jolivet-Tremblay M, Arjane P, Peloquin F, Pharand D, Villers A, Montorsi F, Patard JJ, Karakiewicz PI. A population-based comparison of survival after nephrectomy vs nonsurgical management for small renal masses. *BJU Int.* 2009;103(7):899-904; discussion

27. Haas NB, Manola J, Dutcher JP, Flaherty KT, Uzzo RG, Atkins MB, DiPaola RS, Choueiri TK. Adjuvant Treatment for High-Risk Clear Cell Renal Cancer: Updated Results of a High-Risk Subset of the ASSURE Randomized Trial. *JAMA Oncol.* 2017;3(9):1249-52.
28. Motzer RJ, Haas NB, Donskov F, Gross-Goupil M, Varlamov S, Kopyltsov E, Lee JL, Melichar B, Rini BI, Choueiri TK, Zemanova M, Wood LA, Reaume MN, Stenzl A, Chowdhury S, Lim HY, McDermott R, Michael A, Bao W, Carrasco-Alfonso MJ, Aimone P, Voi M, Doehn C, Russo P, Sternberg CN, investigators P. Randomized Phase III Trial of Adjuvant Pazopanib Versus Placebo After Nephrectomy in Patients With Localized or Locally Advanced Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol.* 2017;35(35):3916-23.
29. Motzer RJ, Ravaud A, Patard JJ, Pandha HS, George DJ, Patel A, Chang YH, Escudier B, Donskov F, Magheli A, Carteni G, Laguerre B, Tomczak P, Breza J, Gerletti P, Lechuga M, Lin X, Casey M, Serfass L, Pantuck AJ, Staehler M. Adjuvant Sunitinib for High-risk Renal Cell Carcinoma After Nephrectomy: Subgroup Analyses and Updated Overall Survival Results. *Eur Urol.* 2018;73(1):62-8.
30. Flanigan RC, Mickisch G, Sylvester R, Tangen C, Van Poppel H, Crawford ED. Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. *J Urol.* 2004;171(3):1071-6.
31. Mejean A, Ravaud A, Thezenas S, Colas S, Beauval JB, Bensalah K, Geoffrois L, Thiery-Vuillemin A, Cormier L, Lang H, Guy L, Gravis G, Rolland F, Linassier C, Lechevallier E, Beisland C, Aitchison M, Oudard S, Patard JJ, Theodore C, Chevreau C, Laguerre B, Hubert J, Gross-Goupil M, Bernhard JC, Albiges L, Timsit MO, Le Bret T, Escudier B. Sunitinib Alone or after Nephrectomy in Metastatic Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 2018;379(5):417-27.
32. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, Tykodi SS, Sosman JA, Procopio G, Plimack ER, Castellano D, Choueiri TK, Gurney H, Donskov F, Bono P, Wagstaff J, Gauler TC, Ueda T, Tomita Y, Schutz FA, Kollmannsberger C, Larkin J, Ravaud A, Simon JS, Xu LA, Waxman IM, Sharma P, CheckMate I. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 2015;373(19):1803-13.
33. Choueiri TK, Escudier B, Powles T, Mainwaring PN, Rini BI, Donskov F, Hammers H, Hutson TE, Lee JL, Peltola K, Roth BJ, Bjarnason GA, Geczi L, Keam B, Maroto P, Heng DY, Schmidinger M, Kantoff PW, Borgman-Hagey A, Hessel C, Scheffold C,

- Schwab GM, Tannir NM, Motzer RJ, Investigators M. Cabozantinib versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 2015;373(19):1814-23.
34. Motzer RJ, Nosov D, Eisen T, Bondarenko I, Lesovoy V, Lipatov O, Tomczak P, Lyulko O, Alyasova A, Harza M, Kogan M, Alekseev BY, Sternberg CN, Szczylik C, Cella D, Ivanescu C, Krivoshik A, Strahs A, Esteves B, Berkenblit A, Hutson TE. Tivozanib versus sorafenib as initial targeted therapy for patients with metastatic renal cell carcinoma: results from a phase III trial. *J Clin Oncol*. 2013;31(30):3791-9.
 35. Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, Aren Frontera O, Melichar B, Choueiri TK, Plimack ER, Barthelemy P, Porta C, George S, Powles T, Donskov F, Neiman V, Kollmannsberger CK, Salman P, Gurney H, Hawkins R, Ravaud A, Grimm MO, Bracarda S, Barrios CH, Tomita Y, Castellano D, Rini BI, Chen AC, Mekan S, McHenry MB, Wind-Rotolo M, Doan J, Sharma P, Hammers HJ, Escudier B, CheckMate I. Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 2018;378(14):1277-90.
 36. Rini BI, Plimack ER, Stus V, Gafanov R, Hawkins R, Nosov D, Pouliot F, Alekseev B, Soulieres D, Melichar B, Vynnychenko I, Kryzhanivska A, Bondarenko I, Azevedo SJ, Borchiellini D, Szczylik C, Markus M, McDermott RS, Bedke J, Tartas S, Chang YH, Tamada S, Shou Q, Perini RF, Chen M, Atkins MB, Powles T, Investigators K-. Pembrolizumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 2019;380(12):1116-27.
 37. Roskoski R, Jr. Properties of FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors: A 2020 update. *Pharmacol Res*. 2019;152:104609.
 38. Ralla B, Adams L, Maxeiner A, Mang J, Krimphove M, Dushe S, Makowski M, Miller K, Fuller F, Busch J. Perioperative and oncologic outcome in patients treated for renal cell carcinoma with an extended inferior vena cava tumour thrombus level II-IV. *Aktuelle Urol*. 2019, Jun 4. (Epub ahead of print)
 39. Busch J, Ralla B, Jung M, Wotschofsky Z, Trujillo-Arribas E, Schwabe P, Kilic E, Fendler A, Jung K. Piwi-interacting RNAs as novel prognostic markers in clear cell renal cell carcinomas. *J Exp Clin Cancer Res*. 2015;34:61.
 40. Thomson T, Lin H. The biogenesis and function of PIWI proteins and piRNAs: progress and prospect. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2009;25:355-76.

41. Cui L, Lou Y, Zhang X, Zhou H, Deng H, Song H, Yu X, Xiao B, Wang W, Guo J. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using piRNAs as markers. *Clin Biochem.* 2011;44(13):1050-7.
42. Cheng J, Guo JM, Xiao BX, Miao Y, Jiang Z, Zhou H, Li QN. piRNA, the new non-coding RNA, is aberrantly expressed in human cancer cells. *Clin Chim Acta.* 2011;412(17-18):1621-5.
43. Chu H, Hui G, Yuan L, Shi D, Wang Y, Du M, Zhong D, Ma L, Tong N, Qin C, Yin C, Zhang Z, Wang M. Identification of novel piRNAs in bladder cancer. *Cancer Lett.* 2015;356(2 Pt B):561-7.
44. Ralla B, Busch J, Florcken A, Westermann J, Zhao Z, Kilic E, Weickmann S, Jung M, Fendler A, Jung K. miR-9-5p in Nephrectomy Specimens is a Potential Predictor of Primary Resistance to First-Line Treatment with Tyrosine Kinase Inhibitors in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Cancers (Basel).* 2018;10(9).
45. Gore ME, Szczylik C, Porta C, Bracarda S, Bjarnason GA, Oudard S, Lee SH, Haanen J, Castellano D, Vrdoljak E, Schoffski P, Mainwaring P, Hawkins RE, Crino L, Kim TM, Carteni G, Eberhardt WE, Zhang K, Fly K, Matczak E, Lechuga MJ, Hariharan S, Bukowski R. Final results from the large sunitinib global expanded-access trial in metastatic renal cell carcinoma. *Br J Cancer.* 2015;113(1):12-9.
46. Ralla B, Erber B, Goranova I, von der Aue L, Floercken A, Hinz S, Kempkensteffen C, Magheli A, Miller K, Busch J. Efficacy of fourth-line targeted therapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: a retrospective analysis. *World J Urol.* 2016;34(8):1147-54.
47. Ralla B, Erber B, Goranova I, Klooker A, Maxeiner A, Hinz S, Kempkensteffen C, Magheli A, Miller K, Busch J. Retrospective Analysis of Fifth-Line Targeted Therapy Efficacy in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Urol Int.* 2017;98(2):184-90.
48. Kato M, Suzuki T, Suzuki Y, Terasawa Y, Sasano H, Arai Y. Natural history of small renal cell carcinoma: evaluation of growth rate, histological grade, cell proliferation and apoptosis. *J Urol.* 2004;172(3):863-6.
49. Peters I, Winkler M, Juttner B, Teebken OE, Herrmann TR, von Klot C, Kramer M, Reichelt A, Abbas M, Kuczyk MA, Merseburger AS. Neoadjuvant targeted therapy in a primary metastasized renal cell cancer patient leads to down-staging of inferior vena

- cava thrombus (IVC) enabling a cardiopulmonary bypass-free tumor nephrectomy: a case report. *World J Urol.* 2014;32(1):245-8.
50. Bigot P, Fardoun T, Bernhard JC, Xylinas E, Berger J, Roupret M, Beauval JB, Lagabrielle S, Lebdai S, Ammi M, Baumert H, Escudier B, Grenier N, Hetet JF, Long JA, Paparel P, Rioux-Leclercq N, Soulie M, Azzouzi AR, Bensalah K, Patard JJ. Neoadjuvant targeted molecular therapies in patients undergoing nephrectomy and inferior vena cava thrombectomy: is it useful? *World J Urol.* 2014;32(1):109-14.
 51. Hatcher PA, Anderson EE, Paulson DF, Carson CC, Robertson JE. Surgical management and prognosis of renal cell carcinoma invading the vena cava. *J Urol.* 1991;145(1):20-3; discussion 3-4.
 52. Nesbitt JC, Soltero ER, Dinney CP, Walsh GL, Schrupp DS, Swanson DA, Pisters LL, Willis KD, Putnam JB, Jr. Surgical management of renal cell carcinoma with inferior vena cava tumor thrombus. *Ann Thorac Surg.* 1997;63(6):1592-600.
 53. Skinner DG, Pritchett TR, Lieskovsky G, Boyd SD, Stiles QR. Vena caval involvement by renal cell carcinoma. Surgical resection provides meaningful long-term survival. *Ann Surg.* 1989;210(3):387-92; discussion 92-4.
 54. Kaplan S, Ekici S, Dogan R, Demircin M, Ozen H, Pasaoglu I. Surgical management of renal cell carcinoma with inferior vena cava tumor thrombus. *Am J Surg.* 2002;183(3):292-9.
 55. Bissada NK, Yakout HH, Babanouri A, Elsalamony T, Fahmy W, Gunham M, Hull GW, Chaudhary UB. Long-term experience with management of renal cell carcinoma involving the inferior vena cava. *Urology.* 2003;61(1):89-92.
 56. Moinzadeh A, Libertino JA. Prognostic significance of tumor thrombus level in patients with renal cell carcinoma and venous tumor thrombus extension. Is all T3b the same? *J Urol.* 2004;171(2 Pt 1):598-601.
 57. Kirkali Z, Van Poppel H. A critical analysis of surgery for kidney cancer with vena cava invasion. *Eur Urol.* 2007;52(3):658-62.
 58. Lenis AT, Burton CS, Golla V, Pooli A, Faiena I, Johnson DC, Salmasi A, Drakaki A, Gollapudi K, Blumberg J, Pantuck AJ, Chamie K. Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cell carcinoma and venous thrombus-Trends and effect on overall survival. *Urol Oncol.* 2019;37(9):577 e9- e16.

59. Adams LC, Ralla B, Engel G, Diederichs G, Hamm B, Busch J, Fuller F, Makowski MR. Assessing venous thrombus in renal cell carcinoma: preliminary results for unenhanced 3D-SSFP MRI. *Clin Radiol.* 2018;73(8):757 e9- e19.
60. Tilki D, Nguyen HG, Dall'Era MA, Bertini R, Carballido JA, Chromecki T, Ciancio G, Daneshmand S, Gontero P, Gonzalez J, Haferkamp A, Hohenfellner M, Huang WC, Koppie TM, Lorentz CA, Mandel P, Martinez-Salamanca JI, Master VA, Matloob R, McKiernan JM, Mlynarczyk CM, Montorsi F, Novara G, Pahernik S, Palou J, Pruthi RS, Ramaswamy K, Rodriguez Faba O, Russo P, Shariat SF, Spahn M, Terrone C, Vergo D, Wallen EM, Xylinas E, Zigeuner R, Libertino JA, Evans CP. Impact of histologic subtype on cancer-specific survival in patients with renal cell carcinoma and tumor thrombus. *Eur Urol.* 2014;66(3):577-83.
61. Haferkamp A, Bastian PJ, Jakobi H, Pritsch M, Pfitzenmaier J, Albers P, Hallscheidt P, Muller SC, Hohenfellner M. Renal cell carcinoma with tumor thrombus extension into the vena cava: prospective long-term followup. *J Urol.* 2007;177(5):1703-8.
62. Leibovich BC, Cheville JC, Lohse CM, Zincke H, Kwon ED, Frank I, Thompson RH, Blute ML. Cancer specific survival for patients with pT3 renal cell carcinoma-can the 2002 primary tumor classification be improved? *J Urol.* 2005;173(3):716-9.
63. Martinez-Salamanca JI, Huang WC, Millan I, Bertini R, Bianco FJ, Carballido JA, Ciancio G, Hernandez C, Herranz F, Haferkamp A, Hohenfellner M, Hu B, Koppie T, Martinez-Ballesteros C, Montorsi F, Palou J, Pontes JE, Russo P, Terrone C, Villavicencio H, Volpe A, Libertino JA, International Renal Cell Carcinoma-Venous Thrombus C. Prognostic impact of the 2009 UICC/AJCC TNM staging system for renal cell carcinoma with venous extension. *Eur Urol.* 2011;59(1):120-7.
64. Klatte T, Pantuck AJ, Riggs SB, Kleid MD, Shuch B, Zomorodian N, Kabbinavar FF, Belldegrun AS. Prognostic factors for renal cell carcinoma with tumor thrombus extension. *J Urol.* 2007;178(4 Pt 1):1189-95; discussion 95.
65. Ciancio G, Manoharan M, Katkooori D, De Los Santos R, Soloway MS. Long-term survival in patients undergoing radical nephrectomy and inferior vena cava thrombectomy: single-center experience. *Eur Urol.* 2010;57(4):667-72.
66. Ljungberg B, Stenling R, Osterdahl B, Farrelly E, Aberg T, Roos G. Vein invasion in renal cell carcinoma: impact on metastatic behavior and survival. *J Urol.* 1995;154(5):1681-4.

67. Lardas M, Stewart F, Scrimgeour D, Hofmann F, Marconi L, Dabestani S, Bex A, Volpe A, Canfield SE, Staehler M, Hora M, Powles T, Merseburger AS, Kuczyk MA, Bensalah K, Mulders PF, Ljungberg B, Lam TB. Systematic Review of Surgical Management of Nonmetastatic Renal Cell Carcinoma with Vena Caval Thrombus. *Eur Urol.* 2016;70(2):265-80.
68. Ralla B, Stephan C, Meller S, Dietrich D, Kristiansen G, Jung K. Nucleic acid-based biomarkers in body fluids of patients with urologic malignancies. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2014;51(4):200-31.
69. Dietrich D, Meller S, Uhl B, Ralla B, Stephan C, Jung K, Ellinger J, Kristiansen G. Nucleic acid-based tissue biomarkers of urologic malignancies. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2014;51(4):173-99.
70. Li Y, Wu X, Gao H, Jin JM, Li AX, Kim YS, Pal SK, Nelson RA, Lau CM, Guo C, Mu B, Wang J, Wang F, Wang J, Zhao Y, Chen W, Rossi JJ, Weiss LM, Wu H. Piwi-Interacting RNAs (piRNAs) Are Dysregulated in Renal Cell Carcinoma and Associated with Tumor Metastasis and Cancer-Specific Survival. *Mol Med.* 2015;21:381-8.
71. Zhao C, Tolkach Y, Schmidt D, Toma M, Muders MH, Kristiansen G, Muller SC, Ellinger J. Mitochondrial PIWI-interacting RNAs are novel biomarkers for clear cell renal cell carcinoma. *World J Urol.* 2019;37(8):1639-47.
72. Berkers J, Govaere O, Wolter P, Beuselinck B, Schoffski P, van Kempen LC, Albersen M, Van den Oord J, Roskams T, Swinnen J, Joniau S, Van Poppel H, Lerut E. A possible role for microRNA-141 down-regulation in sunitinib resistant metastatic clear cell renal cell carcinoma through induction of epithelial-to-mesenchymal transition and hypoxia resistance. *J Urol.* 2013;189(5):1930-8.
73. Prior C, Perez-Gracia JL, Garcia-Donas J, Rodriguez-Antona C, Guruceaga E, Esteban E, Suarez C, Castellano D, del Alba AG, Lozano MD, Carles J, Climent MA, Arranz JA, Gallardo E, Puente J, Bellmunt J, Gurrpide A, Lopez-Picazo JM, Hernandez AG, Mellado B, Martinez E, Moreno F, Font A, Calvo A. Identification of tissue microRNAs predictive of sunitinib activity in patients with metastatic renal cell carcinoma. *PLoS One.* 2014;9(1):e86263.
74. Khella HWZ, Butz H, Ding Q, Rotondo F, Evans KR, Kupchak P, Dharsee M, Latif A, Pasic MD, Lianidou E, Bjarnason GA, Yousef GM. miR-221/222 Are Involved in Response to Sunitinib Treatment in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Mol Ther.* 2015;23(11):1748-58.

75. Merhautova J, Hezova R, Poprach A, Kovarikova A, Radova L, Svoboda M, Vyzula R, Demlova R, Slaby O. miR-155 and miR-484 Are Associated with Time to Progression in Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated with Sunitinib. *Biomed Res Int.* 2015;2015:941980.
76. Wells JC, Stukalin I, Norton C, Srinivas S, Lee JL, Donskov F, Bjarnason GA, Yamamoto H, Beuselinck B, Rini BI, Knox JJ, Agarwal N, Ernst DS, Pal SK, Wood LA, Bamias A, Alva AS, Kanesvaran R, Choueiri TK, Heng DY. Third-line Targeted Therapy in Metastatic Renal Cell Carcinoma: Results from the International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium. *Eur Urol.* 2017;71(2):204-9.
77. Makady A, de Boer A, Hillege H, Klungel O, Goettsch W. What Is Real-World Data? A Review of Definitions Based on Literature and Stakeholder Interviews. *Value Health.* 2017;20(7):858-65.
78. Iacovelli R, Carteni G, Sternberg CN, Milella M, Santoni M, Di Lorenzo G, Ortega C, Sabbatini R, Ricotta R, Messina C, Lorusso V, Atzori F, De Vincenzo F, Sacco C, Boccardo F, Valduga F, Massari F, Baldazzi V, Cinieri S, Mosca A, Ruggeri EM, Berruti A, Cerbone L, Procopio G. Clinical outcomes in patients receiving three lines of targeted therapy for metastatic renal cell carcinoma: results from a large patient cohort. *Eur J Cancer.* 2013;49(9):2134-42.
79. Ko JJ, Choueiri TK, Rini BI, Lee JL, Kroeger N, Srinivas S, Harshman LC, Knox JJ, Bjarnason GA, MacKenzie MJ, Wood L, Vaishampayan UN, Agarwal N, Pal SK, Tan MH, Rha SY, Yuasa T, Donskov F, Bamias A, Heng DY. First-, second-, third-line therapy for mRCC: benchmarks for trial design from the IMDC. *Br J Cancer.* 2014;110(8):1917-22.

7 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Thorsten Schlomm, Direktor der Urologischen Klinik der Charité – Universitätsmedizin Berlin danke ich für die stetige Förderung, Unterstützung und die Möglichkeit, an seiner Klinik zu habilitieren.

Herrn Prof. Dr. Kurt Miller, danke ich für seine langjährige Unterstützung während meiner Weiterbildungszeit und die Möglichkeit, an seiner Klinik wissenschaftlich zu arbeiten.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Jonas Busch, danke ich für die gute wissenschaftliche und klinische Zusammenarbeit.

Ein großer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. Klaus Jung. Für seine stete Ansprechbarkeit, konstruktive Kritik und vielfältige Hilfestellung bei allen praktischen und theoretischen Fragen bin ich ihm sehr verbunden.

Frau Dr. Lisa Adams und Herrn Prof. Dr. Markus Markowski aus der Klinik für Radiologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin danke ich für die kollegiale und zielführende Zusammenarbeit.

Meinem Doktorvater, Herr Prof. Dr. Gerd Geerling, der mich zum wissenschaftlichen Arbeiten motiviert hat, danke ich, auch für das inzwischen freundschaftliche Verhältnis.

Besonders möchte ich mich bei meinen Kolleginnen und Kollegen bedanken, insbesondere Priv.-Doz. Dr. Frank Friedersdorff, Robert Peters, Dr. Irena Goranova, Dr. Barbara Erber, Prof. Dr. Bertrand Guillonnet, Priv.-Doz. Dr. Maria De Santis, Dr. Jörg Neymeyer, Prof. Dr. Carsten Stephan, Dr. Andreas Maxeiner, Dr. Conrad Blobel, Dr. Josef Mang, Diana Moldovan und Nadine Belkner.

Ebenso danke ich auch meinen Weggefährten, unter anderem Priv.-Doz. Dr. Carsten Kempkensteffen, Prof. Dr. der Charité – Universitätsmedizin Berlin Florian Fuller, Prof. Dr. Ahmed Magheli und Priv.-Doz. Dr. Stefan Hinz.

Besonderen Dank für Ihre Unterstützung möchte ich meiner Familie, meinen Eltern und meinen Freunden aussprechen.

8 Erklärung § 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charite

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Berlin, 20.01.2020

Dr. Bernhard Ralla