

Aus dem

Universitätsklinikum Tübingen  
Medizinische Klinik  
KKE Translationale Immunologie

**Die Rolle von 4-1BB und GITR sowie deren Liganden für die  
Prognose der  
chronisch lymphatischen Leukämie**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Meyer, Sophie Cassandra  
2025**

Dekan: Professor Dr. Bernd Pichler

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. J. Heitmann

2. Berichterstatter: Professor Dr. J. Leibold

Tag der Disputation: 03.03.2025

*Für Lucy*

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	VIII
1 Einleitung .....	1
1.1 Erkrankungen des Blutes .....	1
1.2 Chronisch lymphatische Leukämie.....	2
1.2.1 Pathogenese.....	2
1.2.2 Klinisches Bild und Diagnose.....	3
1.2.3 Stadieneinteilung nach Binet und Rai .....	4
1.2.4 Risiko- und Prognosemarker.....	6
1.2.5 Richter-Transformation .....	12
1.3 Therapie.....	14
1.3.1 Therapieindikation.....	14
1.3.2 Therapieregime .....	15
1.3.3 Behandlungsziel und Definitionen.....	19
1.4 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL .....	23
1.4.1 Cluster of Differentiation .....	23
1.4.2 Tumornekrosefaktor-Superfamilie.....	23
1.4.3 4-1BB und 4-1BBL .....	24
1.4.4 GITR und GITRL.....	27
1.5 Zielsetzung.....	28
2 Methoden und Materialien.....	30
2.1 Ethik.....	30
2.2 Patienten und Rekrutierung .....	30
2.3 Datenerhebung .....	30
2.3.1 Binet- und Rai-Stadium.....	30

2.3.2	(Vor-)Therapien.....	31
2.3.3	Blutbild und $\beta$ -2-Mikroglobulin.....	31
2.3.4	CLL-Population, ZAP70, CD38-Expression .....	32
2.3.5	TP53-Mutation, Zytogenetik und IGVH-Mutationsstatus .....	32
2.3.6	Hochrisiko-CLL .....	33
2.3.7	CLL-IPI-Score .....	33
2.3.8	Gesamtüberleben, therapiefreies Überleben, therapiefreies Überleben nach Rituximab .....	34
2.4	Bestimmung der Expression von 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL mittels Immunphänotypisierung (FACS) .....	34
2.5	Statistische Analyse und Software .....	37
3	Ergebnisse .....	39
3.1	Patientenkollektiv .....	39
3.1.1	Patientencharakteristika.....	40
3.1.2	Stadieneinteilung .....	41
3.1.3	Blutwerte zum Entnahmezeitpunkt.....	43
3.1.4	CLL Population und Prognosefaktoren .....	43
3.1.5	Therapie.....	46
3.1.6	4-1BB, 4-1BBL, GITR und GITRL .....	47
3.1.7	Gesamtüberleben .....	52
3.1.8	Therapiefreies Überleben .....	54
3.1.9	Therapiefreies Überleben nach Rituximab .....	56
3.1.10	Patientendaten.....	57
3.2	Überlebenszeitanalysen.....	74
3.2.1	Stadieneinteilung .....	74
3.2.2	Prognosefaktoren.....	77

3.2.3	4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL .....	80
3.3	Cox-Regression .....	98
3.3.1	Alter und Geschlecht.....	99
3.3.2	Binet-Stadien .....	99
3.3.3	4-1BB und 4-1BBL .....	99
3.3.4	GITR und GITRL.....	100
4	Diskussion.....	101
4.1	Erkrankungsalter .....	101
4.2	Geschlechterverteilung .....	102
4.3	Gesamtüberleben.....	103
4.4	Therapiefreies Überleben.....	104
4.5	Therapiefreies Überleben nach Rituximab .....	105
4.6	Stadieneinteilung nach Binet und Rai .....	106
4.7	CD38-Expression, IGVH-Mutationsstatus und TP53-Mutation.....	107
4.8	4-1BB und 4-1BBL .....	109
4.9	GITR und GITRL.....	111
4.10	Limitationen.....	113
4.11	Fazit und Ausblick.....	113
5	Zusammenfassung.....	115
6	Anhang.....	118
6.1	Abbildungsverzeichnis .....	118
6.2	Tabellenverzeichnis .....	121
7	Literaturverzeichnis .....	122
8	Erklärung zum Eigenanteil .....	141
9	Veröffentlichungen .....	142
10	Danksagung .....	143



## Abkürzungsverzeichnis

AML	Akute myeloische Leukämie
APC	Antigenpräsentierende Zelle
ATM	Ataxia teleangiectatica-mutiert
BCL-2	B-cell lymphoma 2
BCR	B-Zell-Rezeptor
BE	Blutentnahme
BR	Bendamustin, Rituximab
BSC	Best Supportive Care
BTK	Bruton-Tyrosinkinase
CAR	Chimeric Antigen Receptor
CD	Cluster of Differentiation
CLL	chronisch lymphatische Leukämie
CR	komplette Remission
del	Deletion
ED	Erstdiagnose
FCR	Fludarabin, Cyclophosphamid, Rituximab
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
GITR	Glucocorticoid-Induced TNFR-Related Protein
GITRL	Glucocorticoid-Induced TNFR-Related Protein Ligand
Hb	Hämoglobin
Ibr	Ibrutinib
Ig	Immunglobulin
IGVH	Immunglobulin Variable Heavy Chain
IL	Interleukin
INF	Interferon
JÜR	Jahres-Überleben
KI	Konfidenzintervall
mAbs	monoklonale Antikörper
MDR	Minimal Residual Disease
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
Obi	Obinutuzumab
ObiC1b	Obinutuzumab, Chlorambucil
OS	Gesamtüberleben
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PD	progrediente Erkrankung
PE	Phycoerythrin
PFS	progressionsfreies Überleben
PR	partielle Remission
RKI	Robert-Koch-Institut
SD	Standardabweichung

SFI	spezifische Fluoreszenzindizes
TFS	therapiefreies Überleben
TNF	Tumornekrosefaktor
TNFS	Tumornekrosefaktor-Superfamilie
WHO	World Health Organization
ZAP70	70-kD- $\zeta$ -associated-Protein

# 1 Einleitung

## 1.1 Erkrankungen des Blutes

Bei den lymphatischen Systemerkrankungen handelt es sich um maligne Entartungen, die in unterschiedlichen Stadien der B- und T-Zellentwicklung auftreten können. Diese Erkrankungen können grob in Leukämien und Lymphome eingeteilt werden.<sup>1</sup>

Das Wort Leukämie kommt von den altgriechischen Wörtern λευκός *leukós* „weiß“ sowie αἷμα *haima* „Blut“ und bedeutet wörtlich übersetzt „Weißblütigkeit“, was sich auf den vermehrten Anteil an Leukozyten (weiße Blutkörper) im Blut bezieht.<sup>1</sup> Ein typischer Vertreter der lymphatischen Leukämien ist die akute lymphatische Leukämie, die vor allem im Kindesalter auftritt.<sup>1</sup> Die chronisch lymphatische Leukämie ist ein weiterer Vertreter und wird den Lymphomen zugeordnet.<sup>1</sup> Lymphome zeichnen sich vor allem durch die Schwellung unterschiedlicher Lymphknotenlokalisationen im Körper aus. Diese werden nach WHO-Klassifikation in zwei Hauptgruppen unterteilt: die Hodgkin- und die Non-Hodgkin-Lymphome.<sup>1</sup>

Die selteneren Hodgkin-Lymphome entstehen aus B-Zellen und wurden 1832 erstmalig von Thomas Hodgkin beschrieben.<sup>2</sup> Mit 50 – 60 % macht der nodulär-sklerosierende Typ das häufigste Hodgkin-Lymphom aus, gefolgt vom Mischtyp und den lymphozytenreichen und lymphozytenarmen Typen.<sup>3</sup>

Die weitaus größere Gruppe bilden die Non-Hodgkin-Lymphome, die sich in die häufigeren B- (80 – 85 %) und die selteneren T-Zell-Lymphome (15 – 20 %) einteilen lassen. Weiterhin ist eine Einteilung in indolente und aggressive Lymphome möglich.<sup>1</sup> Beispiele hierfür sind das häufigste aller Non-Hodgkin-Lymphome, das diffus-großzellige-B-Zell-Lymphom, ein aggressives B-Zell-Lymphom, und die Mycosis fungoides, ein indolentes T-Zell-Lymphom.<sup>4,5</sup>

Die chronisch lymphatische Leukämie (CLL) gilt als indolentes lymphozytisches Non-Hodgkin-B-Zell-Lymphom mit leukämischem Verlauf. In dieser Arbeit wird die CLL-Erkrankung genauer betrachtet.

## 1.2 Chronisch lymphatische Leukämie

Die chronisch lymphatische Leukämie gilt mit ca. 40 % aller neudiagnostizierten Leukämien als die häufigste Leukämieform.<sup>6</sup> Die CLL wurde erstmals 1845 durch den deutschen Pathologen Rudolf Virchow beschrieben.<sup>7</sup> Laut WHO-Kriterien handelt es sich bei der CLL um ein lymphozytisches Lymphom mit einem leukämischen Verlauf.<sup>8</sup> Sie tritt bei Männern häufiger auf als bei Frauen<sup>9</sup>, welche auch meist einen günstigeren Verlauf aufweisen<sup>10</sup>. Zudem sind Menschen mit kaukasischem Hintergrund eher betroffen als andere ethnische Gruppen.<sup>9</sup> Das mediane Erkrankungsalter liegt bei ca. 70 Jahren, mit einer steigenden Inzidenz im höheren Alter (siehe Abbildung 1).<sup>8</sup>

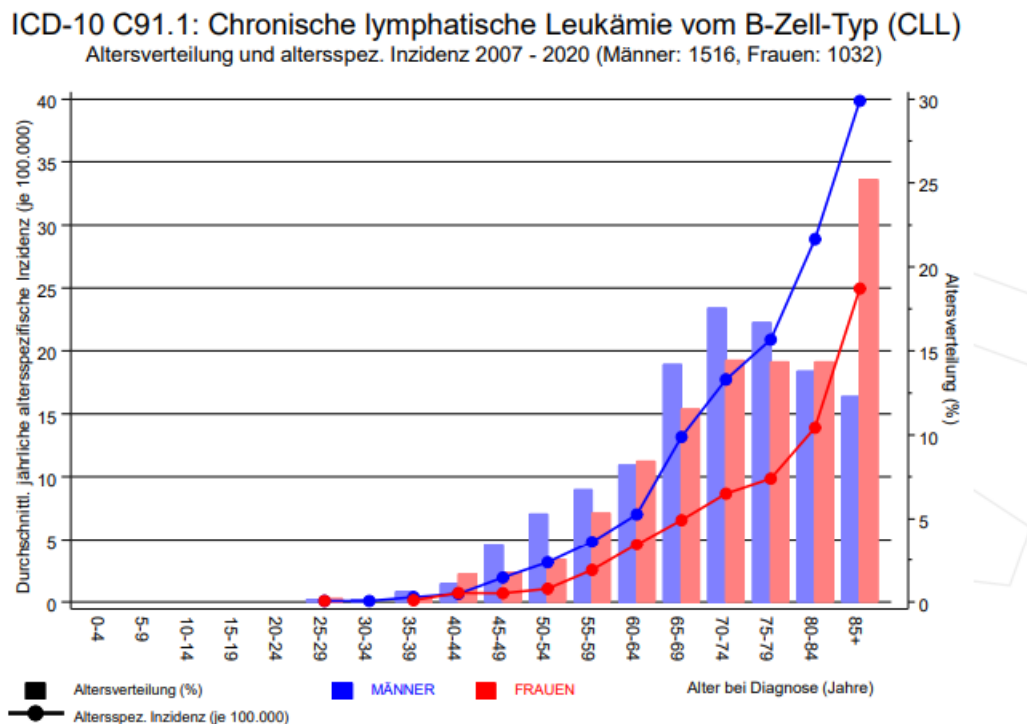


Abbildung 1: Altersverteilung und altersspezifische Inzidenz der chronisch lymphatischen Leukämie im Großraum München 2007 - 2020 Datenquelle: Tumorregister München ICD-10 C91.1: Chron. lymphat. Leukämie Inzidenz und Mortalität<sup>11</sup>

### 1.2.1 Pathogenese

Die Pathogenese der CLL ist bis heute weitgehend unbekannt, jedoch scheinen der B-Zell-Rezeptor-(BCR-)Signalweg, ein Apoptosedefekt und das microenvironment der CLL-Zellen eine Rolle zu spielen.<sup>12-16</sup> Zudem wurde festgestellt,

dass Verwandte von CLL-Patienten ein 6-fach erhöhtes Risiko haben selbst an einer CLL zu erkranken, wodurch eine genetische Disposition nahelegt wird.<sup>17</sup>

### 1.2.2 Klinisches Bild und Diagnose

Die Erstdiagnose der CLL erfolgt meist als Zufallsdiagnose bei einer inzidentell festgestellten Lymphozytose. Körperliche Symptome wie Lymphadenopathie, Splenomegalie, Hepatomegalie oder B-Symptome (Nachtschweiß mit Kleidungswechsel ohne Hinweis auf Infekt, Gewichtsverlust  $\geq 10\%$  während der letzten 6 Monate, rezidivierendes Fieber  $> 38\text{ °C}$ )<sup>18</sup> treten meist erst in fortgeschrittenen Stadien auf. Zu den Diagnosekriterien nach dem *International Workshop on CLL 2018*<sup>19</sup> gehören:

1. Nachweis von mindestens 5.000 klonalen B-Zellen/ $\mu\text{l}$  über mindestens 3 Monate
2. Befund von vorwiegend kleinen, reifen Lymphozyten im Blutaussstrich
3. Expression von immunphänotypischen CLL-Zellen: CD19+, CD5+, CD20low, CD23+, Oberflächen Immunglobuline low. Durch die Leichtkettenrestriktion Igk oder Igl kann die Monoklonalität der Zellen nachgewiesen werden.

Des Weiteren können im Blutaussstrich Gumprechtsche Kernschatten vorkommen. Es handelt sich hierbei um Leukozyten, die aufgrund erhöhter Vulnerabilität während des Blutaussstrichs zerquetscht werden. Studien zeigen, dass das Auftreten von nur wenigen Gumprechtschen Kernschatten im Blutaussstrich ein negativer prognostischer Faktor bezüglich des Gesamtüberlebens (OS) und des progressionsfreien Überlebens (PFS) ist.<sup>20,21</sup> Das Auftreten von Gumprechtschen Kernschatten ist zur Diagnose einer CLL nicht obligat.<sup>19</sup>

### 1.2.3 Stadieneinteilung nach Binet und Rai

Klassischerweise wird die CLL-Erkrankung seit Jahrzehnten in Stadien nach Binet und Rai eingeteilt.<sup>22,23</sup> Beide Klassifikationen sind kostengünstig und einfach durchzuführen, da sie sich nur auf die körperliche Untersuchung und ein kleines Blutbild (Hämoglobin (Hb) und Thrombozytenzahl) stützen. Bei Binet wird die Erkrankung in drei Stadien eingeteilt (A, B, C). Das mediane Überleben beträgt für Gruppe A > 10 Jahre, für B ca. 7 Jahre und für C ca. 2 Jahre (siehe Tabelle 1).<sup>22</sup>

**Tabelle 1: Binet-Klassifikation: Die Binet-Klassifikation beinhaltet drei Stadien, die nach Hämoglobin (Hb), Thrombozyten und den befallenen Lymphknotenregionen unterschieden werden. Tabelle ist modifiziert nach Binet et al., 1981<sup>22</sup>**

Stadium	Definition	Medianes Überleben
A	Hb > 10 g/dl Thrombozyten > 100.000/ $\mu$ l <3 befallene Lymphknotenregionen (Hals, Achsel, Leiste, Milz, Leber)	> 10 Jahre
B	Hb > 10 g/dl Thrombozyten > 100.000/ $\mu$ l >3 befallene Lymphknotenregionen (Hals, Achsel, Leiste, Milz, Leber)	7 Jahre
C	Hb < 10 g/dl Thrombozyten < 100.000/ $\mu$ l	2 – 3 Jahre

Bei Rai erfolgt die Einteilung in fünf Gruppen (0 – IV), diese können zur Vereinfachung in drei Risikogruppen unterteilt werden: niedriges, intermediäres und hohes Risiko mit medianen Überlebenszeiten von > 10 Jahren, ca. 7 Jahren und < 4 Jahren (siehe Tabelle 2).<sup>23</sup>

## 1 Einleitung

**Tabelle 2: Rai-Klassifikation: Die Rai-Klassifikation beinhaltet fünf Stadien, die in drei Risikogruppen zusammengefasst werden. Die Stadien werden nach Lymphozyten, Lymphadenopathie, Hb und Thrombozyten unterteilt. Tabelle ist modifiziert nach Rai et al., 1975<sup>23</sup>**

Risikogruppe	Stadium	Definition	Medianes Überleben
Niedriges Risiko	0	Lymphozytose > 15.000/ $\mu$ l	> 10 Jahre
Intermediäres Risiko	I	Lymphozytose > 15.000/ $\mu$ l Lymphadenopathie	7 Jahre
	II	Lymphozytose > 15.000/ $\mu$ l Hepatomegalie Splénomegalie	
Hohes Risiko	III	Lymphozytose > 15.000/ $\mu$ l Hb < 11 g/dl	< 4 Jahre
	IV	Lymphozytose > 15.000/ $\mu$ l Thrombozyten < 100.000/ $\mu$ l	

Mit den Klassifikationen von Binet und Rai sind zwar Vorhersagen über das Überleben der Patienten möglich<sup>24</sup>, jedoch ist es vor allem bei Patienten in einem frühen Stadium nicht möglich eine Aussage über den weiteren Verlauf der Erkrankung zu treffen.<sup>12</sup> Hierzu wurden in den letzten Jahren mithilfe von molekularbiologischen Methoden weitere Prognosemarker beschrieben, die im folgenden Kapitel erläutert werden.

## 1.2.4 Risiko- und Prognosemarker

### 1.2.4.1 Beta-2-Mikroglobulin

Beim  $\beta$ 2-Mikroglobulin handelt es sich um ein Plasmaprotein, welches den extrazellulären Anteil des *major histocompatibility complex I* bildet.<sup>25</sup> Im Urin dient es als Marker einer tubulären Proteinurie. Bei bekannter CLL-Erkrankung kann eine Erhöhung des Serum- $\beta$ 2-Mikroglobulins auftreten. Bei einem cut-off-Wert von 3,5mg/l konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass durch die Bestimmung von Serum- $\beta$ 2-Mikroglobulinspiegeln Hochrisikopatienten identifiziert werden können.<sup>25,26</sup> Diese zeichnen sich durch eine erhöhte Tumormasse, ein vermindertes Gesamtüberleben (OS) und ein kürzeres PFS (10-Jahres-PFS bei Molica et al.<sup>27</sup> 74,6% ( $\beta$ 2-Mikroglobulin low) vs. 49,1% ( $\beta$ 2-Mikroglobulin high)) aus.<sup>25,26,28</sup>

### 1.2.4.2 Immunglobulin-VH-(IGVH-)Mutationsstatus

Beim gesunden Menschen kommen somatische Mutationen in den Keimbahnsegmenten V<sub>H</sub>, D und J<sub>H</sub> nur bei antigenstimulierten B-Zellen vor. Sie codieren für die variable Region der schweren Kette der Immunglobulinmoleküle, die zur Antigenerkennung benötigt wird.<sup>29</sup>

In der CLL treten die Mutationen in ca. 50 – 60 % der CLL-Zellen auf.<sup>10</sup>

Durch die Untersuchung des Genrearrangements kann über den Zeitpunkt der malignen Transformation der B-Zelle Aufschluss gewonnen werden. Hierbei handelt es sich bei einem unmutierten Status um einen frühen Zeitpunkt und eine undifferenzierte und unreife Zelle, während bei einem somatisch hypermutierten Status die Transformation zu einem späteren Zeitpunkt an einer differenzierteren und reiferen Zelle stattfindet.<sup>30</sup>

Man bezeichnet eine CLL als IGVH unmutiert, wenn eine  $\geq 98$  %ige Homologie mit der entsprechenden Keimbahnsequenz vorliegt. Ist die Sequenzhomologie  $< 98$  % bezeichnet man sie als somatisch hypermutiert.<sup>29,31</sup>

Die Unterteilung in diese zwei Gruppen dient als wichtiger und verlässlicher Prognosefaktor der CLL.<sup>10</sup> So konnte nachgewiesen werden, dass Patienten, die an einer IGVH unmutierten CLL erkrankt sind, ein wesentlich niedrigeres OS und

## 1 Einleitung

PFS haben als solche mit einer IGVH hypermutierten CLL.<sup>29</sup> Das mediane Überleben von Erkrankten mit unmutierten VH-Genen lag bei ca. 117 Monaten, während Patienten mit einem hypermutierten Mutationsstatus im Median 293 Monate überlebten.<sup>31,32</sup>

Außerdem wurde in verschiedenen Studien eine Assoziation zwischen einer IGVH unmutierten CLL und dem vermehrten Auftreten der prognostisch ungünstigen Deletionen 11q23 und 17p13 (siehe Kapitel 1.2.4.5) festgestellt. Im Gegensatz dazu konnte in eben diesen Studien bei IGVH mutierten Patienten häufiger die prognostisch günstige Deletion 13q14 nachgewiesen werden.<sup>33,34</sup>

Da die Bestimmung des IGVH-Mutationsstatus sehr aufwendig und teuer ist<sup>35</sup>, wurden einfacher zu bestimmende Marker gesucht, die eine Aussage über den IGVH-Mutationsstatus zulassen. CD38 und ZAP70 sind Marker, die ohne genetische Analyse bestimmt werden können und in den nächsten beiden Kapiteln besprochen werden.

### **1.2.4.3 CD38-Expression**

Die Expression des transmembranen Glykoproteins CD38 auf B-Zellen kann kostengünstig und einfach mithilfe einer Durchflusszytometrie nachgewiesen werden. Im gesunden Menschen sind ruhende und zirkulierende T- und B-Zellen vor allem CD38 negativ, während aktivierte B-Zellen CD38 exprimieren.<sup>36</sup> Auf diesen spielt CD38 bei der Interaktion und Differenzierung eine Rolle indem er BCR-Signale verstärkt und die B-Zell-Apoptose reguliert.<sup>37-39</sup>

Eine Zellpopulation wird als CD38 positiv bezeichnet, wenn  $\geq 30$  % der Zellen CD38 exprimieren.<sup>10,32,34</sup> Dieser Wert wird jedoch in diversen Studien angezweifelt und diskutiert.<sup>40,41</sup>

Leukämien, die in frühen Differenzierungsstadien entstehen, gelten eher als CD38 positiv, im Gegensatz zu solchen, die aus differenzierteren Phänotypen entstehen.<sup>36</sup> Es konnte gezeigt werden, dass CD38 positive CLL-Patienten früher Therapie benötigen als CD38 negative und ein kürzeres OS aufweisen.<sup>10,34</sup>

Zudem besteht eine Korrelation zwischen CD38-Positivität und dem IGVH-Mutationsstatus. Patienten mit unmutierten VH-Genen exprimieren in den meisten

## 1 Einleitung

Fällen auch vermehrt CD38. CD38-Positivität entspricht jedoch nur in 25 – 33 % der Fälle einem negativen IGVH-Mutationsstatus.<sup>10,32,34</sup>

Die CD38-Expression ist aber kein optimaler prognostischer Marker, da die Expression innerhalb des Krankheitsverlaufs eines Patienten variieren kann. So kann ein Patient, der zum Zeitpunkt der Erstdiagnose als CD38 negativ gilt, zum Beispiel im Falle einer Erkrankungsprogression CD38 positiv werden.<sup>32,34,35</sup>

### **1.2.4.4 ZAP70**

Das 70-kD- $\zeta$ -associated-Protein (ZAP70) ist eine Protein-Tyrosinkinase mit einer maßgeblichen Beteiligung an der T-Zell-Signaltransduktion. Es wird beim Gesunden nur in T- und NK- (natürliche Killerzellen) Zellen exprimiert und kommt in B-Zellen kaum vor.<sup>42,43</sup>

In der chronisch lymphatischen Leukämie können auch die CLL-Zellen ZAP70 exprimieren. Diese Expression wird mittels Durchflusszytometrie bestimmt, wobei die Expression in den CLL-Zellen ins Verhältnis zur Expression in den T-Zellen gesetzt wird. Damit ist der Ansatz komplexer als im Vergleich zur CD38 Expressionsbestimmung.

Es zeigte sich hierbei in verschiedenen Studien, dass eine stärkere Expression von ZAP70 mit einer schnelleren Progression der Erkrankung und einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert ist.<sup>43</sup>

Eine erhöhte Expression von ZAP70 fand man vor allem bei Patienten mit einer IGVH unmutierten CLL. Dieser signifikante Zusammenhang zwischen einer ZAP70-Expression > 20 % und einem unmutierten IGVH-Mutationsstatus wurde mehrfach nachgewiesen und zeigte, dass CLL-Zellen von IGVH unmutierten Patienten eine ähnlich hohe Expression an ZAP70 aufweisen wie die T-Zellen eines Gesunden.<sup>29,43,44</sup> Eine Expression von ZAP70  $\leq$  20 % wird im Umkehrschluss mit einem hypermutierten IGVH-Mutationsstatus in Verbindung gebracht.<sup>44</sup>

Die Zuordnung bezüglich des IGVH-Mutationsstatus ist nicht immer korrekt, die Übereinstimmung lag jedoch in Studien bei bis zu 93 %, was die Übereinstimmung der CD38-Expression mit dem Mutationsstatus wesentlich übertrifft.<sup>32,35</sup> Außerdem gilt die ZAP70-Expression über den gesamten Krankheitsverlauf als konstant.<sup>43</sup>

## 1 Einleitung

Durch die hohe Übereinstimmung mit dem IGVH-Mutationsstatus gilt ZAP70 als exzellenter Stellvertreter für den Mutationsstatus der VH-Gene.<sup>35</sup> Alles in allem kann die Expression von ZAP70 als guter prognostischer Marker für den Krankheitsverlauf der CLL angesehen werden.<sup>43</sup>

### **1.2.4.5 Zytogenetik**

Weitere prognostische Marker, welche in Bezug auf OS, PFS und auch bezüglich der Auswahl der Therapieform eine wichtige Rolle spielen, sind die genomischen Aberrationen. Sie treten in den malignen CLL-Zellen, jedoch nicht in den gesunden Zellen der Patienten auf. Bei 80% aller CLL-Patienten kann mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung eine Aberration nachgewiesen werden.<sup>24</sup> Außerdem können im weiteren Verlauf der Erkrankung weitere Aberrationen hinzukommen.<sup>33</sup>

Die Deletionen 13q14, 11q23 und 17p13 sowie die Trisomie 12 sind die wichtigsten genomischen Aberrationen.

Mit einem Anteil von ca. 55 % gilt die Deletion 13q14 als die häufigste genomische Veränderung.<sup>45</sup> In einer kleinen Region des Chromosoms liegen die MikroRNA (miR) Gene miR15 und miR16, die Teil eines komplexen Tumorsuppressorgens sind, und deren Expression durch die Deletion herunterreguliert wird.<sup>46</sup> Beim Vorliegen einer Deletion 13q14 ist mit einer guten Prognose der Erkrankung zu rechnen, sie korreliert eher mit einem hypermutierten IGVH-Status<sup>34</sup> und spricht bei einer Therapieeinleitung gut auf die Immunchemotherapie, bestehend aus Fludarabin, Cyclophosphamid und Rituximab, an.<sup>47</sup>

Bei der zweithäufigsten Aberration handelt es sich um die Deletion 11q23 (ca. 20 %). Diese führt zu einem hemizygoten Verlust des Ataxia teleangiectatica-mutierten (ATM) Gens. ATM, eine Serin/Threonin-Proteinkinase, ist an der DNA-Reparatur beteiligt und vermittelt die Aktivierung von p53.<sup>45</sup> p53 ist einer der Hauptakteure zur Sicherstellung der genomischen Stabilität.<sup>45</sup> Er kann Apoptose oder onkogen-induzierte Seneszenz auslösen, falls DNA-Schäden in der Zelle nicht beseitigt werden. Deshalb führt der Defekt von ATM zu einer mangelhaften DNA-Reparatur und zu genomischer Instabilität.<sup>45</sup> Insgesamt ist eine Deletion 11q23, im Gegensatz zu einer Deletion 13q14, Trisomie 12 oder einem normalen

## 1 Einleitung

Karyotyp, mit einer schnelleren Progression und einem kürzen Gesamtüberleben in Verbindung zu bringen.<sup>24</sup>

Mit ca. 15 – 20 % tritt die Trisomie 12 etwas seltener auf als die Deletion 11q23.<sup>24</sup> Sie führt u.a. zur Aktivierung unterschiedlicher Signalwege in der CLL-Zelle. Mehrere dieser Aktivierungen spielen im BCR-Signalweg eine wichtige Rolle.<sup>48</sup>

Der prognostische Vorhersagewert der Trisomie 12 wird kontrovers diskutiert. Während in manchen Studien ein Zusammenhang zwischen einer Trisomie 12 und einem unmutierten IGVH-Mutationsstatus nachgewiesen werden konnte, war dies in anderen Studien nicht der Fall.<sup>24,31,32,34</sup> Der Konsens, der auch dieser Arbeit zugrunde gelegt wurde, ist, dass Patienten mit einer Trisomie 12 ein schlechteres Outcome haben als solche mit einer Deletion 13q14, jedoch ein besseres als die Patienten, bei denen eine Deletion 11q23 oder Deletion 17p13 nachgewiesen werden konnte.<sup>24,45</sup>

Die seltenste genomische Aberration bei Erstdiagnose ist mit ca. 5 % die Deletion 17p13. Sie tritt jedoch bei therapierefraktären CLL-Patienten wesentlich häufiger auf.<sup>24,49</sup>

Die Deletion 17p13 führt zum Verlust des Tumorsuppressorgens TP53, dabei weisen interessanterweise die meisten Fälle mit einer Deletion 17p13 einen biallelischen Verlust von p53 auf, der aus einer Mutation des verbleibenden Allels entsteht.<sup>50</sup> Patienten mit einer Deletion 17p13 weisen die schlechteste Prognose auf.<sup>24</sup> Sie haben sowohl ein sehr geringes progressionsfreies Überleben als auch das geringste Gesamtüberleben.<sup>24,34</sup> Zudem zeigen sie nur sehr schlechtes bis gar kein Ansprechen auf klassische Chemotherapien mit Chlorambucil und Immunchemotherapien mit Fludarabin, Cyclophosphamid und Rituximab.<sup>19,51</sup>

### **1.2.4.6 TP53**

Die Mutation des TP53-Gens steht in starkem Zusammenhang mit der Deletion 17p13, da nur weniger als 5 % aller TP53-Mutationen ohne Vorliegen einer Deletion 17p13 auftreten.<sup>50</sup> Wie in Kapitel 1.2.4.5 erwähnt handelt es sich bei p53 um einen Tumorsuppressor. Dieser greift beim gesunden Menschen in verschiedener Weise in den Zellzyklus ein und induziert Apoptose. Dadurch spielt p53

## 1 Einleitung

eine große Rolle in der Tumorentstehung, indem es potenziell tumorbildende Zellen eliminiert.<sup>52</sup>

Die Mutation von TP53 spielt bei sehr vielen Tumorerkrankungen eine wichtige Rolle, so auch bei der chronisch lymphatischen Leukämie. Patienten mit alleiniger TP53-Mutation, ohne das Auftreten einer Deletion 17p13, zeigen eine genauso schlechte Prognose wie Patienten mit einer Deletion 17p13.<sup>51</sup> In Studien wiesen Patienten mit einer TP53-Mutation ein wesentlich geringeres medianes Überleben auf als Patienten mit einem Wildtyp TP53 (40,8 Monate vs. 70,7 Monate).<sup>50</sup> Sie zeigen kürzere behandlungsfreie Intervalle und leiden häufiger an einer Richter-Transformation.<sup>53</sup> Zudem zeigen sie, wie in Kapitel 1.2.4.5 erwähnt, nur ein sehr schlechtes oder gar kein Ansprechen auf klassische Chemotherapien oder Immunchemotherapien.<sup>19,45,51</sup> Die Analyse der TP53-Mutation zeigt somit einen hohen prognostischen Wert unabhängig davon, ob eine Deletion 17p13 besteht oder nicht.

### **1.2.4.7 CLL-IPI-Score**

Im Jahr 2016 veröffentlichte „The International CLL-IPI working group“ einen neuen prognostischen Index zur Einteilung der chronisch lymphatischen Leukämie den „International prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia“ oder kurz CLL-IPI (*siehe Tabelle 3a und b*).<sup>54</sup> Dieser Score kombiniert genetische und biologische Charakteristika mit traditionellen Risikofaktoren zu einem einfachen prognostischen Index. Hierbei werden die TP53-Aberration (TP53-Mutation oder Deletion 17p13), IGVH-Mutationsstatus,  $\beta$ 2-Mikroglobulin Konzentration im Serum, klinisches Stadium (Binet oder Rai) und das Alter der Patienten miteinbezogen. Aus diesen Informationen lässt sich zum Zeitpunkt der Diagnose ein Score zwischen 0 und 10 berechnen, welcher die Patienten in vier Kategorien (*low, intermediate, high und very high risk*) mit unterschiedlichem medianem Überleben einteilt.

## 1 Einleitung

**Tabelle 3: Risiko Scores: Risiko Scores der einzelnen Prognosefaktoren zur Berechnung des CLL-IPI-Scores. Tabelle modifiziert nach „The International CLL-IPI working group“, Mai 2016<sup>54</sup>**

Variable	Risiko Score
TP53 (17p13) mutiert/deleted	4
IGVH-Status unmutiert	2
β-2-Mikroglobulinkonzentration > 3,5 mg/l	2
Klinisches Stadium Rai I-IV/Binet B-C	1
Alter > 65 Jahre	1

**Tabelle 4: CLL-IPI-Score: Berechnung der Risikoeinteilung bei Erstdiagnose der chronisch lymphatischen Leukämie. Tabelle modifiziert nach „The International CLL-IPI working group“, Mai 2016<sup>54</sup>**

Risikogruppe	CLL-IPI Risiko Score	Medianes Überleben [Monate]
Low	0 – 1	Nicht eingetreten
Intermediate	2 – 3	105
High	4 – 6	75
Very high	7 – 10	29

Außerdem gibt die Arbeitsgruppe eine Empfehlung bezüglich des klinischen Managements der Krankheit ab:

- *low risk* Patienten *watchful waiting*
- *intermediate risk* Patienten bei schweren Symptomen Therapie
- *high risk* Patienten (abgesehen von komplett asymptomatischen Patienten) Therapie
- *very high risk* Patienten Einschluss in Medikamentenstudien oder Therapie mit neuen Medikamenten wie z.B. Ibrutinib

### 1.2.5 Richter-Transformation

Die Richter-Transformation wurde erstmals 1928 von Maurice N. Richter als „*generalized reticular cell sarcoma of lymphnodes*“ bei einem CLL-Patienten beschrieben.<sup>55</sup> Heutzutage bezeichnet die WHO eine Richter-Transformation als die Transformation einer CLL in ein aggressives B-Zell-Lymphom, bei dem es sich in den meisten Fällen um ein diffus-großzelliges-B-Zell-Lymphom handelt.<sup>56</sup> Dies tritt bei ca. 3 – 10 % aller CLL-Patienten auf.<sup>56,57</sup>

## 1 Einleitung

Patienten, die nach den zuvor genannten Prognosefaktoren ein schlechtes Outcome aufweisen (hohes Binet oder Rai Stadium, CD38 hoch, ZAP70 hoch, IGVH unmutiert, del17p13, del11q23, TP53-Mutation), haben eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit im Laufe der CLL-Erkrankung eine Richter-Transformation zu entwickeln.<sup>56,58,59</sup> Ob eine Behandlung der CLL mit einer Chemo- oder Chemoimmuntherapie auch das Risiko erhöht, eine Richter-Transformation zu durchlaufen, ist bis heute unklar und wird in laufenden Studien geprüft.<sup>59</sup>

Bei Verdacht auf eine Richter-Transformation kann ein PET-CT hilfreich sein, da die Richter-transformierten Lymphknoten eine verstärkte Aufnahme des glucosehaltigen Tracers zeigen.<sup>60,61</sup> Mittlerweile hat sich die Klonalitätsanalyse zwischen Lymphom und vorbestehender CLL in der klinischen Praxis etabliert um aus diesem Ergebnis auch die Behandlungsoptionen abzuleiten. Insgesamt ist die Transformation mit einer schnellen Progression, limitierten therapeutischen Optionen und generell einem geringen Überleben (medianes OS 1 – 2 Jahre) assoziiert.<sup>59,62</sup> Meist wird zur Behandlung, wie bei anderen Lymphomen auch, eine Chemoimmuntherapie mit R-CHOP (Rituximab, Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin und Prednisolon) durchgeführt, jedoch ist die Ansprechrate gering und das Rezidivrisiko hoch.<sup>62</sup>

## 1.3 Therapie

### 1.3.1 Therapieindikation

Dighiero et al.<sup>63</sup> zeigten 1998, dass die Behandlung von Patienten in einem frühen Erkrankungsstadium (Binet A, Rai 0) nicht zu einem längerem Gesamtüberleben führt als ein *watchful waiting* Regime. Deshalb gilt das abwartende Vorgehen bis heute bei Patienten in einem frühen Stadium der Krankheit als Standard. Auch bei symptomlosen Patienten in weiter fortgeschrittenen Stadien und symptomlosen Hochrisikopatienten konnte in randomisierten Studien kein verlängertes Gesamtüberleben festgestellt werden, wenn sie Therapie erhielten.<sup>64</sup> In der CLL12 Studie von Langerbeins et al.<sup>65</sup> erhielten asymptomatische, therapienaive Patienten mit CLL im Binet Stadium A entweder Ibrutinib oder ein Placebo. Zwar zeigte sich nach einem medianen Follow-up von 70 Monaten ein signifikant längeres PFS in der Therapiegruppe, jedoch zeigte sich ein nahezu identisches OS in der Ibrutinib und der Placebo Gruppe, bei mehr vermehrten Brutonkinase-Inhibitor-spezifischen Nebenwirkungen im Therapiearm.

Bei Feststellung einer „aktiven Krankheit“, d.h. einer Progression oder einer neu aufgetretenen Symptomatik, sollte eine Therapie eingeleitet werden. Hierbei sollte mindestens eines der folgenden Kriterien (nach iwCLL) auf den Patienten zutreffen<sup>19</sup>:

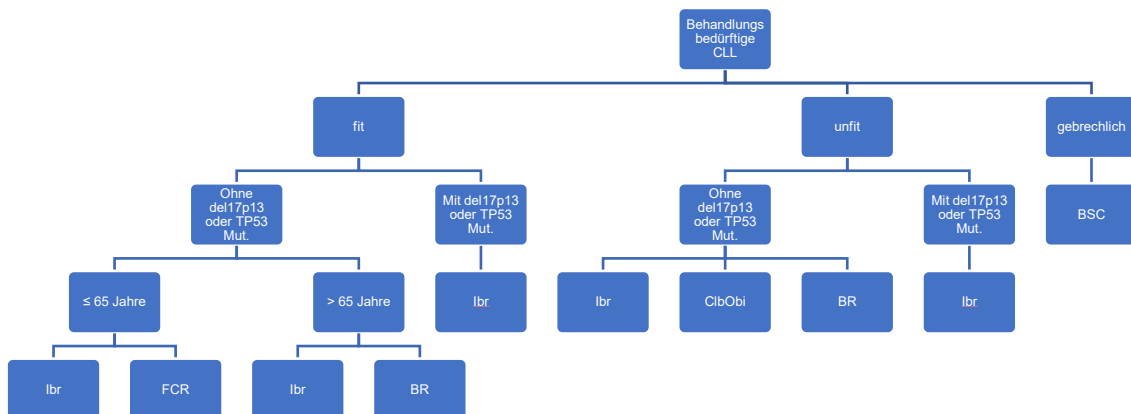
1. Anzeichen eines fortschreitenden Knochenmarksversagens, das sich als Anämie (Hb < 10 g/dl) und/oder Thrombozytopenie (< 100.000/ $\mu$ l) zeigt. Patienten, die über einen längeren Zeitraum Thrombozytenwerte unter 100.000/ $\mu$ l zeigen, müssen nicht unbedingt therapiert werden.
2. Massive ( $\geq$  6cm unter dem Rippenbogen tastbar), fortschreitende oder symptomatische Splenomegalie
3. Massive ( $\geq$  10 cm Durchmesser), fortschreitende oder symptomatische Lymphadenopathie
4. Ansteigende Lymphozytose von  $\geq$  50 % innerhalb der letzten 2 Monate oder eine Lymphozytenverdopplungszeit < 6 Monate
5. Autoimmune Komplikationen inklusive kortikosteroid-refraktäre Anämie und/oder Thrombozytopenie

# 1 Einleitung

6. Funktionale oder symptomatische extranodale Beteiligungen durch die Erkrankung (Haut, Niere, Lunge, Wirbelsäule)
7. B-Symptomatik (unbeabsichtigter Gewichtsverlust  $\geq 10\%$  in den letzten 6 Monaten; Fieber  $> 38,0^\circ\text{C}$   $\geq 2$  Wochen, ohne Vorliegen einer Infektion; Nachtschweiß  $\geq 1$  Monat ohne Hinweis auf eine Infektion) oder Fatigue

## 1.3.2 Therapieregime

Falls es zu einer Therapieindikation kommt, stehen dem behandelnden Arzt unterschiedliche Therapieregime zur Verfügung. Die Entscheidung, welches Regime der Patient erhält, wird nach klinischem Performancestatus und zytogenetischem Befund getroffen. Bei der Erstlinientherapie handelt es sich bei jedem Patienten um eine klassische Chemoimmuntherapie oder eine Therapie mit einem *small molecule* (z.B. Ibrutinib) (siehe Abbildung 2).



**Abbildung 2: Erstlinientherapie bei CLL: Graphische Darstellung zur Entscheidungsfindung bei behandlungsbedürftiger CLL. Als „fit“ werden Patienten in gutem Allgemeinzustand ohne Einschränkung der Nierenfunktion bezeichnet. „Unfitte“ Patienten leiden unter einer Einschränkung der Nierenfunktion und weiteren relevanten klinischen Komorbiditäten. „Gebrechlich“ bezeichnet Patienten in schlechtem klinischem Zustand mit vielen klinischen Komorbiditäten. Ibr = Ibrutinib; FCR = Fludarabin, Rituximab, Cyclophosphamid; BR = Bendamustin, Rituximab; ClbObu = Chlorambucil, Obinutuzumab; BSC = Best Supportive Care. Erstellung anhand der Leitlinie für chronisch lymphatische Leukämie der DGHO Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie <sup>8</sup>**

Die derzeit verwendeten Chemotherapeutika sind die Alkylantien Chlorambucil, Bendamustin und Cyclophosphamid sowie das Purinanalogen Fludarabin. Chlorambucil wird schon seit Jahrzehnten in der Behandlung der CLL verwendet, zeigt aber bzgl. Ansprechrate, Remissionsrate und PFS ein schlechteres

## 1 Einleitung

Ergebnis als Fludarabin.<sup>66</sup> Da bei Patienten, die Fludarabin erhalten, jedoch häufiger Nebenwirkungen wie eine Neutropenie und Infektionen auftreten, wird Chlorambucil weiterhin bei unfitten oder Patienten > 65 Jahren eingesetzt.<sup>67</sup> Ein noch längeres medianes PFS und OS als durch die alleinige Gabe von Fludarabin ergibt sich für junge fitte Patienten bei Erhalt einer Kombination von Fludarabin, Cyclophosphamid und Rituximab.<sup>68,69</sup>

Bei Rituximab handelt es sich wie bei Obinutuzumab um einen CD20-Antikörper. Diese werden in jeder Erstlinientherapie mit den Chemotherapeutika kombiniert, da sie zu einem längeren PFS beitragen.<sup>69-71</sup> Zum Erfolg von Rituximab trägt die dadurch induzierte zellvermittelte Zytotoxizität (CMC) und antikörperabhängige zellbedingte Zytotoxizität (ADCC) der NK-Zellen bei.<sup>72</sup> Bei NK-Zellen handelt es sich um zytotoxische Lymphozyten der angeborenen Immunität, die bei der Immunüberwachung von malignen hämatologischen Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen.

Insgesamt erhalten ältere, unfitte und komorbide Patienten eine weniger intensive Chemoimmuntherapie als junge, fitte Patienten.<sup>18</sup> So wird eine Therapie mit Bendamustin und Rituximab von älteren Patienten sehr gut toleriert und es treten bei ihnen in 50 % weniger Fällen Infektionen auf wie bei einer Therapie mit Fludarabin, Cyclophosphamid und Rituximab.<sup>18,73</sup>

Seit einigen Jahren treten die Immunchemotherapien jedoch immer weiter in den Hintergrund und es kommen, insofern keine Kontraindikationen vorliegen, als Erstlinientherapie vorwiegend die *small molecules* zur Anwendung.<sup>74</sup> Bei diesen *small molecules* handelt es sich um die BCR-Signalweg-Inhibitoren Ibrutinib und Idelalisib, sowie um den B-cell lymphoma 2 Protein-(BCL-2-)Inhibitor Venetoclax. Genauer betrachtet ist Ibrutinib ein irreversibler Bruton-Tyrosinkinase-(BTK-)Inhibitor der ersten Generation. Die Bruton-Tyrosinkinase (BTK) ist ein essenzieller Bestandteil des BCR-Signalweges, sie vermittelt Interaktionen zwischen dem microenvironment des Tumors und fördert die Proliferation und das Überleben der CLL-Zellen.<sup>75</sup> Der Einsatz von Ibrutinib führt zu einer Induktion von Apoptose sowie zu einer Hemmung der Proliferation der CLL-Zellen.<sup>14</sup> Es konnte festgestellt werden, dass Ibrutinib gegenüber Chlorambucil einige Vorteile mit sich bringt. Patienten unter Ibrutinib-Therapie zeigen weniger starke Nebenwirkungen

## 1 Einleitung

als Patienten unter Chlorambucil.<sup>70,76</sup> Außerdem weisen sie bzgl. des PFS und des Gesamtüberlebens ein besseres Langzeitergebnis auf.<sup>70,76</sup> Ähnliche Ergebnisse konnten bei Patienten mit einer Deletion 17p13 und/oder einer Mutation des TP53-Gens festgestellt werden. Sowohl zuvor unbehandelte als auch behandelte Patienten, die eine Deletion 17p13 oder TP53-Mutation aufwiesen, zeigten unter Ibrutinib-Therapie ein signifikant längeres PFS und OS als unter allen konventionellen Chemo- und Chemoimmuntherapien.<sup>70,77</sup>

Insgesamt zeigte sich in den neuesten Studien, dass die Therapie mit Ibrutinib für jegliche CLL-Patienten diverse Vorteile hat. Durch die moderate Toxizität kann es über einen langen Zeitraum kontinuierlich eingenommen werden, es hat eine hohe Ansprechrate, führt bei fast allen CLL-Patienten zu einer dauerhaften Remission und Progressionen treten unter Ibrutinib nur sehr selten auf. Außerdem zeigt es eine hohe und dauerhafte Ansprechrate bei Patienten mit einer Hochrisiko-CLL und kann auch problemlos bei alten und unfitten Patienten angewendet werden.<sup>77,78</sup>

Eines der Risiken, die durch die Therapie mit Ibrutinib erhöht wird, ist das Risiko eines Vorhofflimmerns.<sup>79</sup> Es zeigte sich, dass Patienten unter Ibrutinib Therapie ein um 4-16% erhöhtes Risiko für das Auftreten eines Vorhofflimmerns haben.<sup>79,80</sup> Da Patienten mit Malignom ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer Herzinsuffizienz oder eines thromboembolischen Ereignisses haben, wird dies durch ein Vorhofflimmern gesteigert.<sup>80,81</sup> Ein weiteres Problem stellt die Behandlung des Vorhofflimmerns dar. Ibrutinib hemmt die Thrombozyten-Aktivierung und steigert dadurch das Blutungsrisiko der Patienten.<sup>79</sup> Deshalb muss die Gabe von Antikoagulanzen, die bei Vorhofflimmern nötig sein kann, streng abgewogen werden, um das Blutungsrisiko der Patienten möglichst niedrig zu halten.<sup>80</sup>

Außerdem bestehen zwischen diversen anderen Medikamenten (Calcium-Kanal-Blocker, Digitoxin, Amiodaron und direkte orale Antikoagulanzen), die zur Behandlung von Vorhofflimmern eingesetzt werden, Wechselwirkungen mit Ibrutinib, die zu negativen Auswirkungen führen können.<sup>80</sup> So kann ein durch Ibrutinib ausgelöstes Vorhofflimmern einen limitierenden Faktor der Dauertherapie darstellen.<sup>80</sup> Bei Acalabrutinib und Zanubrutinib handelt es sich um BTK-Inhibitoren der zweiten Generation. Beide sind irreversible BTK-Inhibitoren, die für die

## 1 Einleitung

Therapie der CLL zugelassen sind. Sie haben eine kürzere Plasma-Halbwertszeit und eine höhere Selektivität für BTK als Ibrutinib.<sup>82–84</sup> Es wird vermutet, dass durch die Hemmung anderer Kinasen durch Ibrutinib die multiplen Nebenwirkungen verursacht werden.<sup>84,85</sup> Durch die höhere Selektivität für BTK führt die Einnahme von Aclabrutinib bei gleichem PFS zu weniger kardialen Nebenwirkungen als Ibrutinib.<sup>83</sup>

Die Einnahme von Zanubrutinib führt im Vergleich zu Ibrutinib sowohl zu einem längeren PFS als auch zu weniger kardialen Nebenwirkungen.<sup>86</sup>

Der BCL-2-Inhibitor Venetoclax greift in den Apoptosesignalweg der CLL-Zellen ein und fördert diesen.<sup>16,87</sup> Venetoclax ist in Kombination mit Obinutuzumab zur Erstlinientherapie jeglicher CLL-Patienten zugelassen, falls eine Therapie mit Ibrutinib nicht durchgeführt werden kann. Bei dieser Therapie handelt es sich im Gegensatz zur Therapie mit Ibrutinib nicht um eine Dauertherapie, sondern um eine Therapie, die auf 12 Monate beschränkt ist.<sup>8</sup> Außerdem findet Venetoclax in Kombination mit Rituximab Anwendung als Rezidivbehandlung von CLL-Patienten.<sup>87–89</sup> Seymour et al.<sup>90</sup> zeigten, dass CLL-Patienten, die an einem Rezidiv litten, unter einer Therapie mit Venetoclax und Rituximab ein signifikant längeres PFS zeigten als Patienten, die mit einer Chemotherapie bestehend aus Bendamustin und Rituximab behandelt wurden. Dies führte zur Zulassung von Venetoclax und Rituximab zur Rezidivbehandlung. Dieses Therapieregime beschränkt sich auf zwei Jahre.

Als schwere Nebenwirkungen können bei der Therapie mit Venetoclax eine febrile Neutropenie, eine Pneumonie oder ein Tumorlysesyndrom auftreten.<sup>8,87</sup> Das Risiko für ein Tumorlysesyndrom kann jedoch minimiert werden, wenn bei Gabe das Aufdosierungsschema für Venetoclax befolgt wird.<sup>8</sup>

Ein weiteres der *small molecules* ist der nicht-selektive Phosphoinositid-3-Kinase $\delta$ -(PI3K $\delta$ -)Inhibitor Idelalisib. Das Enzym PI3K $\delta$  ist in den Signalweg des BCRs involviert<sup>91</sup> und in Studien konnte in CLL-Zellen eine verstärkte enzymatische Aktivität von PI3K $\delta$  festgestellt werden.<sup>92</sup> Die verstärkte Aktivierung des BCR-Signalweges führt zu einer Verlängerung des Überlebens und einer Förderung der Proliferation der CLL-Zellen.<sup>93</sup> Wegen dieser Rolle wurde der PI3K $\delta$ -Inhibitor

Idelalisib in die CLL-Therapie eingeführt und führt hierbei über eine Hemmung des BCR-Signalwegs zur Induktion und Förderung der Apoptose von CLL-Zellen.<sup>92,94</sup> Er ist in Kombinationstherapie mit Rituximab zur Rezidivtherapie von Hochrisiko-CLL-Patienten zugelassen, kommt jedoch wegen der erhöhten Toxizität nur sehr selten bzw. kaum noch zum Einsatz.<sup>18,91</sup>

Eine weitere Möglichkeit zur Behandlung von fitten, jungen Patienten mit einer Hochrisiko-CLL stellt die allogene Stammzelltransplantation dar, die die bis jetzt einzige Möglichkeit zu Heilung einer CLL ist. Langanhaltendes krankheitsfreies Überleben oder eine mögliche Heilung treten jedoch nur bei 33 – 66% der mit dieser Methode behandelten Patienten auf, zudem hat sie eine hohe frühe Todesrate (> 10 % innerhalb der ersten 3 Monate). Insgesamt sollte eine allogene Stammzelltransplantation nur im Notfall bei fitten und jungen Hochrisiko-CLL-Patienten erwogen werden.<sup>95</sup>

### 1.3.3 Behandlungsziel und Definitionen

Ziel der Behandlung mit einer der in Kapitel 1.3.2 genannten Therapieregime ist eine möglichst langanhaltende Remission zu erreichen, da bisher bis auf die allogene Stammzelltransplantation keine Heilung der CLL möglich ist.

Zur Erhebung des Remissionsstatus werden eine gründliche körperliche Untersuchung, eine Untersuchung des Bluts und ggf. des Knochenmarks durchgeführt. Diese Untersuchungen sollten bei definiertem Therapiezeitraum (Chemoimmuntherapien und Chemotherapien) frühestens zwei Monate nach Ende der Therapie durchgeführt werden. Bei Patienten, die eine dauerhafte Therapie (*small molecules*) erhalten, werden diese Untersuchungen zum Zeitpunkt des maximalen Ansprechens (Zeitpunkt, zu dem seit zwei Monaten keine merkliche Verbesserung der Erkrankung mehr aufgetreten ist) durchgeführt. Das Ansprechen auf Therapie wird als komplette (CR) oder partielle Remission (PR) bezeichnet. Zur Feststellung einer CR muss jedes der Kriterien in *Tabelle 5* zutreffen. Zur Feststellung einer PR müssen sich mindestens 2 Parameter aus Gruppe A und 1 Parameter aus Gruppe B verbessern. Sollte nur jeweils ein Parameter aus Gruppe A und B vor Therapiebeginn pathologisch gewesen sein, so muss sich nur einer der beiden Parameter verbessern.<sup>19</sup>

## 1 Einleitung

Eine möglichst weitgehende Eradikation aller leukämischen Zellen unterhalb der technischen Nachweisgrenze ist mittlerweile das gewünschte Ergebnis einer Therapie. Hierzu gibt es den Begriff der *minimal residual disease* (MRD), die entweder im peripheren Blut oder im Knochenmark gemessen wird. Als nicht detektierbare MRD (unterhalb der Nachweisgrenze, negative MRD) wird ein Zustand bezeichnet, bei dem weniger als eine CLL-Zelle unter 10.000 Leukozyten im Blut oder Knochenmark mittels Immunphänotypisierung nachgewiesen werden kann.<sup>19</sup> Wie in Studien gezeigt wurde, ist die MRD ein unabhängiger Prognosemarker für das PFS und OS nach der Durchführung einer Therapie gegen die CLL. Bei MRD negativen Patienten wurde hierbei sowohl ein längeres PFS als auch ein längeres OS als bei MRD positiven Patienten festgestellt, unabhängig davon, ob sie sich in einer CR oder PR befanden.<sup>96,97</sup>

Die Progredienz der Erkrankung nach oder während einer Therapie wird definiert durch das Zutreffen eines der Kriterien, die in *Tabelle 5* beschrieben sind. Darüber hinaus wird eine progrediente Erkrankung unterschieden in eine refraktäre Erkrankung und ein Rezidiv. Bei einer refraktären Erkrankung handelt es sich entweder um ein Therapieversagen (nach Therapie tritt weder CR noch PR ein) oder um eine Progression der Erkrankung innerhalb von sechs Monaten nach Therapieende. Um ein Rezidiv handelt es sich, wenn der Patient sich zuvor für mindestens sechs Monate in einer PR oder CR befand und die Progression nach Ablauf dieser sechs Monaten eintritt.<sup>19</sup>

## 1 Einleitung

**Tabelle 5: Kriterien zur Feststellung einer kompletten Remission (CR), partiellen Remission (PR) und einer progredienten Erkrankung (PD) Eine CR, PR und PD werden anhand von Gruppe A (Lymphknoten, Leber- und Milzgröße, körperliche Symptome und Lymphozyten) und Gruppe B Parametern (Thrombozyten, Hämoglobin und Knochenmark) definiert. Tabelle modifiziert nach Hallek et al., 2018<sup>19</sup>**

Gruppe	Parameter	CR	PR	PD
A	Lymphknoten	Keine $\geq 1,5\text{cm}$	Abnahme $\geq 50\%$ im Vergleich zu vor der Therapie	Zunahme $\geq 50\%$ im Vergleich zu vor der Therapie oder während der Therapieantwort
	Leber- und/oder Milzgröße	Milz $< 13\text{cm}$ , Leber normal	Abnahme $\geq 50\%$ im Vergleich zu vor der Therapie	Zunahme $\geq 50\%$ im Vergleich zu vor der Therapie oder während der Therapieantwort
	Körperliche Symptome	keine	vorhanden	vorhanden
	Lymphozyten	normal	Abnahme $\geq 50\%$ im Vergleich zu vor der Therapie	Zunahme $\geq 50\%$ im Vergleich zu vor der Therapie
B	Thrombozyten	$\geq 100.000/\mu\text{l}$	$\geq 100.000/\mu\text{l}$ oder Zunahme $\geq 50\%$ im Vergleich zu vor der Therapie	Abnahme $\geq 50\%$ im Vergleich zu vor der Therapie, die direkt auf die CLL zurückzuführen ist
	Hämoglobin	$\geq 11\text{g/dl}$	$\geq 11\text{g/dl}$ oder Zunahme $\geq 50\%$ im Vergleich zu vor der Therapie	Abnahmen $\geq 2\text{g/dl}$ im Vergleich zu vor der Therapie, die direkt auf die CLL zurückzuführen ist
	Knochenmark	Normozellulär, keine CLL-Zellen oder nicht durchgeführt	CLL-Zellen sind nachweisbar oder nicht durchgeführt	Zunahme $\geq 50\%$ in aufeinanderfolgenden Biopsien oder nicht durchgeführt

## 1 Einleitung

Die Therapieindikation in Folge eines Rezidivs ist die gleiche wie die zur Einleitung der Erstlinientherapie. Sollte es sich um ein spätes Rezidiv handeln (> 1 Jahr nach Chemotherapie bzw. > 2 Jahre nach Chemoimmuntherapie) kann die Primärtherapie wiederholt werden. Alternativ kann die Gabe einer der neueren Substanzen (z.B. Ibrutinib) in Erwägung gezogen werden. Wenn es sich um ein frühes Rezidiv oder eine refraktäre Erkrankung handelt, soll dem Patienten auch ohne Vorliegen einer Deletion 17p13 oder TP53-Mutation eine Therapie mit Ibrutinib oder eine Kombination aus Venetoclax und Rituximab angeboten werden. Beim Progress der Erkrankung unter Ibrutinib oder Venetoclax und Rituximab sollte bei diesen Patienten unabhängig vom Zeitpunkt eine Umstellung der Therapie auf den jeweils anderen Kinase-Inhibitor erfolgen.<sup>18</sup>

## 1.4 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL

### 1.4.1 Cluster of Differentiation

Mit der ersten Herstellung von monoklonalen Antikörpern durch Köhler und Milstein 1975<sup>98</sup> wurde es einfacher auf Zellen *Cluster of Differentiations* (CD-Moleküle) nachzuweisen. Bei CD-Molekülen handelt es sich um Oberflächenmoleküle der Zelle, die vorwiegend auf Immunzellen exprimiert werden, jedoch auch auf anderen Zellen auftreten können.<sup>99</sup> Durch ihre Expression auf den Immunzellen beeinflussen sie die Immunantwort und machen durch ihre zellspezifischen Ausprägungen sowohl eine Aussage über den Zelltyp als auch über den Entwicklungsstand der Zelle möglich.<sup>99</sup> Ein Beispiel ist das CD20-Molekül, welches auf den Oberflächen von gesunden B-Zellen und auch auf CLL-Zellen zu finden ist und den Angriffspunkt für CD20-Antikörper darstellt, die in unterschiedlichen Behandlungsregimen der CLL eine Rolle spielen.<sup>99,100</sup>

Des Weiteren sind CD-Moleküle auch in der CLL von großer Bedeutung. So können CLL-Zellen anhand ihrer immunphänotypischen Ausprägung von CD5 und CD19 identifiziert werden und die CD38-Expression macht eine Aussage über die weitere Prognose eines CLL-Patienten möglich (siehe Kapitel 1.2.2 und 1.2.4.3).

Eine Untergruppe dieser CD-Moleküle bildet die Tumornekrosefaktor-Superfamilie (TNFS), die im nächsten Kapitel dargestellt wird.

### 1.4.2 Tumornekrosefaktor-Superfamilie

Die im Jahre 1969 und 1975 entdeckten Produkte von Lymphozyten und Makrophagen Lymphotoxin (LT) und Tumor Nekrose Faktor (TNF) gelten heute als die ersten Vertreter der TNFS. Sie führen zur Zytolyse.<sup>101,102</sup> Die TNFS umfasst heute ca. 40 Ligand- und Rezeptor-Proteine (TNF/TNFL).<sup>103</sup>

Die Mitglieder der TNFS spielen an den unterschiedlichsten Orten des Körpers eine Rolle. Beispiele hierfür sind die Entwicklung von Schweißdrüsen, Zähnen und Haarfollikeln<sup>104</sup> oder der Knochen- und Calciumstoffwechsel<sup>105</sup>.

Die größte Bedeutung haben die Mitglieder der Familie im Immunsystem. Hierbei sind sie an Proliferation, Überleben, Differenzierung, Apoptose der Zellen des

## 1 Einleitung

Immunsystems, sowie an der Entwicklung der Organe des Immunsystems beteiligt.<sup>106</sup> So wurde in Studien festgestellt, dass LT-defizienten Mäusen verschiedene Typen von lymphatischem Gewebe fehlen wie zum Beispiel Peyer Plaques oder Lymphknoten.<sup>107,108</sup> Ein weiteres Beispiel für die Rolle der TNF-Superfamilie im Immunsystem ist die CD40/CD40-Ligand Interaktion, die das Priming CD4+ T-Zellen, die Keimzentrumsbildung und den Switch der IgM zur IgG Bildung beeinflusst.<sup>103</sup>

Auch bei der CLL spielen verschiedene TNF/TNFR Mitglieder eine wichtige Rolle. So wurde nachgewiesen, dass sowohl BAFF, APRIL als auch RANK/RANKL Anteil an der Pathophysiologie haben.<sup>109,110</sup>

Weitere Mitglieder der TNFS sind GITR/GITRL und 4-1BB/4-1BBL, deren Beteiligung an der CLL im Rahmen dieser Arbeit genauer untersucht wird. Im Folgenden werden diese Moleküle betrachtet.

### **1.4.3 4-1BB und 4-1BBL**

Bei 4-1BB (CD137, TNFRSF9) und seinem Liganden 4-1BBL handelt es sich um Typ 1 (4-1BB) und Typ 2 (4-1BBL) Membran-Glykoproteine, die von unterschiedlichsten Zellen exprimiert werden.<sup>111</sup> Eine erstmalige Beschreibung von 4-1BB als induzierbares Gen fand 1989 in aktivierten zytotoxischen T-Zellen (CD8+ T-Zellen) und T-Helferzellen (CD4+ T-Zellen) statt.<sup>112</sup>

4-1BB wird vorwiegend auf aktivierten CD4+ und CD8+ T-Zellen, aktivierten NK-Zellen und natürlichen T-Killerzellen exprimiert.<sup>113</sup> Jedoch kann eine Expression auch auf Monozyten, dendritischen Zellen, follikulär dendritischen Zellen, B-Zellen, Chondrozyten, Mastzellen und malignen entarteten Zellen stattfinden.<sup>111,113</sup>

Der zugehörige Ligand 4-1BBL wird vorwiegend auf antigenpräsentierenden Zellen (APC), wie Makrophagen, aktivierten B-Zellen, aktivierten dendritischen Zellen und Monozyten exprimiert. Er kann jedoch auch auf aktivierten T- und NK-Zellen gefunden werden.<sup>111</sup>

4-1BB/4-1BBL wurde in den letzten Jahren vor allem bezüglich seiner Funktion in der T-Zell-Aktivierung untersucht. So wurde in Studien nachgewiesen, dass 4-1BB/4-1BBL durch seine kostimulatorische und bidirektionale Signal-

## 1 Einleitung

transduktion zu einer Steigerung des Überlebens, der anti-apoptotischen Moleküle und der Effektor Funktion von CD4+ und CD8+ T-Zellen beiträgt. Durch diese Funktion gilt 4-1BB/4-1BBL als interessanter Ansatzpunkt in der Immuntherapie von Tumorerkrankungen.<sup>114,115</sup>

In Hinblick auf die T-Helferzellen konnte gezeigt werden, dass 4-1BB/4-1BBL auch in Abwesenheit des Koaktivators CD28 die Produktion von Interleukin-(IL-)2 stimulieren und die Proliferation der Zellen fördern kann.<sup>116,117</sup> Dies spielt bei den Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-Zellen eine Rolle, die in den letzten Jahren vermehrt genutzt werden, um Tumorzellen bei Patienten mit fortgeschrittenem Tumorleiden gezielt zu bekämpfen.<sup>118</sup> So werden sowohl CD28 als auch 4-1BB als kostimulierende Signale genutzt um die anti-tumorale Aktivität der CAR T-Zellen zu steigern.<sup>119</sup> Es wurde jedoch gezeigt, dass es durch CD28 zu einer vermehrten Expression von Genen kommt, die die Erschöpfung von T-Zellen auslösen.<sup>119</sup> Diese Gene werden durch 4-1BB nicht exprimiert, was dazu führt, dass CAR T-Zellen mit 4-1BB als kostimulierende Domäne wesentlich länger im Blut von Patienten nachgewiesen werden können als CAR T-Zellen mit CD28 als kostimulierende Domäne.<sup>119</sup>

Es gibt drei sehr unterschiedliche Ergebnisse zur Bedeutung von 4-1BB/4-1BBL für die regulatorischen T-Zellen (CD4+, CD25+ T-Zellen, Treg), die durch ihre suppressive Wirkung auf andere T-Zellen das Immunsystem von einer zu starken Reaktion (auch autoimmun) abhalten. Während Smith et al.<sup>120</sup> feststellten, dass Treg-Zellen durch die Aktivierung von 4-1BB in ihrer suppressiven Funktion gehemmt werden und hierdurch Tumormunität, aber auch Autoimmunität gefördert wird, zeigten Zheng et al.<sup>114</sup>, dass die Aktivierung von 4-1BB zur Proliferation der Treg-Zellen führt. Des Weiteren zeigten Barsoumian et al.<sup>121</sup>, dass die Aktivierung von 4-1BB zu einer verstärkten Produktion von IL-2 durch die Effektor-T-Zellen führt und diese dadurch resistent gegen die Wirkung der Treg-Zellen werden.

Weitere Funktionen von 4-1BB/4-1BBL in anderen Zellen sind die Verstärkung der Ausschüttung inflammatorischer Zytokine und der phagozytotischen Aktivität von neutrophilen Granulozyten<sup>122</sup> sowie die Verstärkung der Degranulation der Mastzellen.<sup>111</sup> Außerdem sorgt die Aktivierung von 4-1BB/4-1BBL in den

## 1 Einleitung

Monozyten für eine Aktivierung, eine Steigerung der Phagozytose und eine verstärkte Produktion von Zytokinen (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8).<sup>122,123</sup> Zudem beeinflusst die Aktivierung von 4-1BB/4-1BBL die Affinitätsreifung, Proliferation und Immunglobulinproduktion von B-Zellen.<sup>124</sup> Die Bedeutung von 4-1BB auf den NK-Zellen ist bis heute nicht ganz klar. So führt eine Aktivierung von 4-1BB in Mäusen zu einer Aktivierung von NK-Zellen mit einer Verstärkung der zytotoxischen Reaktion, während beim Menschen die NK-Zell-Reaktion unterdrückt wird.<sup>125</sup>

Weiterhin wurde von Buechele et al.<sup>126</sup> gezeigt, dass sowohl auf Zellen der akuten myeloischen Leukämie (AML) als auch auf CLL-Zellen 4-1BBL verstärkt exprimiert wird. Diese Expression ist bei der CLL höher als bei der AML, bei welcher bereits gezeigt wurde, dass sich 4-1BB und 4-1BBL als Marker zur Vorhersage des Verlaufs der Erkrankung eignen.<sup>127</sup> Die verstärkte Expression führt sowohl zu einer verminderten komplementvermittelten als auch Rituximab-induzierten Reaktion (Zytolyse, ADCC) der NK-Zellen gegen die CLL-Zellen.<sup>126</sup> Eine Blockierung von 4-1BB in Kulturen mit CLL- und NK-Zellen führte im Umkehrschluss zu einer Erhöhung der Perforinausschüttung, Zytotoxizität und Interferon- $\gamma$  Produktion der NK-Zellen.<sup>126</sup> Insgesamt ist die 4-1BB-Expression auf NK-Zellen durch bis jetzt weitgehend unbekannte Faktoren im Serum von CLL-Patienten erhöht.<sup>126</sup> Einer dieser Faktoren könnte TNF sein, welches in Folge von 4-1BBL-Signaltransduktion zusammen mit IL-8 verstärkt von CLL-Zellen produziert wird, und bei der 4-1BB-Expression von NK-Zellen von Bedeutung ist.<sup>126</sup> Außerdem führt eine Suppression von TNF mit dem TNF-Antikörper Infliximab zu einer Verstärkung der NK-Zell-Reaktion.<sup>126</sup>

Zudem wurde schon in früheren Studien nachgewiesen, dass erhöhte Plasmakonzentrationen von TNF, IL-8 und IL-6 bei CLL-Patienten mit einer schlechten Prognose assoziiert sind.<sup>128–130</sup>

Dies alles könnte ein Hinweis darauf sein, dass 4-1BB/4-1BBL eine Rolle in der Pathophysiologie der CLL spielt.

Eine allgemeine Aussage zu 4-1BB/4-1BBL bei Leukämien tätigte Palma et. al.<sup>127</sup>, indem sie zeigten, dass die Koexpression von 4-1BB/4-1BBL in B- und T-Zell-Leukämien möglicherweise zum Überleben, Zellwachstum und der Therapieresistenz der malignen Zellen beiträgt.

### 1.4.4 GITR und GITRL

Ein weiteres Mitglied der TNFS ist das *glucocorticoid-induced TNFR-related Protein* (GITR, TNFRSF18) mit seinem Liganden (GITRL). GITR/GITRL weisen eine starke Homologie der Aminosäure Sequenzen zum zuvor beschriebenen 4-1BB/4-1BBL auf und wurden erstmals 1997 nachgewiesen.<sup>131</sup>

Wie auch bei 4-1BB und seinem Liganden 4-1BBL handelt es sich bei GITR und GITRL um Typ-1 und Typ-2 Membran-Glykoproteine, die im Immunsystem verschiedene Rollen spielen und auf unterschiedlichsten Zellen exprimiert werden. Während GITR in seiner höchsten Expression auf Treg-Zellen nachgewiesen werden konnte, kann es außerdem auf CD8+ T-Zellen, CD4+ T-Zellen, NK-Zellen, dendritische Zellen, Makrophagen, B-Zellen und Mastzellen gefunden werden. Wenn es zur Aktivierung dieser Immunzellen kommt oder zu einer Inflammation bzw. einem autoimmunen Geschehen wird GITR vermehrt auf den o.g. Zellen exprimiert.<sup>132</sup>

Der Ligand von GITR wird vorwiegend auf den APC und den Endothelzellen exprimiert.<sup>132,133</sup>

Mit der Entdeckung von GITR wurde gleichzeitig festgestellt, dass es T-Zellen mittels GITR möglich ist einer CD3-abhängigen TCR (T-Zell-Rezeptor) induzierten Apoptose zu entgehen.<sup>131</sup>

Im Allgemeinen scheint GITR zur Aktivierung von T-Zellen beizutragen und diese zu regulieren. Außerdem führt die Aktivierung von GITR durch einen agonistischen Antikörper oder seinen Liganden GITRL zu einer Steigerung der Zytokinproduktion sowie zur Beeinflussung der Proliferation und Differenzierung der T-Zellen. Deshalb wird GITR in Untersuchungen immer wieder als Angriffspunkt für agonistische Antikörper genutzt, um die Anti-Tumorimmunität zu steigern.<sup>134,135</sup>

Die Funktion von GITR/GITRL in anderen Zellen des Immunsystems ist bisher wenig untersucht. Abgesehen davon, dass bei der Aktivierung der jeweiligen Zellen die Expression von GITR steigt und Makrophagen durch die bidirektionale Signalgebung durch GITRL Signale zur Proliferation und Steigerung der Phagozytose erhalten, ist nicht viel bekannt.<sup>136</sup>

Die Rolle von GITR/GITRL bei der NK-Zell-Reaktion wird immer noch kontrovers diskutiert. Bei Mäusen zeigt GITR/GITRL, wie auch 4-1BB/4-1BBL eine

## 1 Einleitung

Stimulierung der NK-Zellen, während beim Menschen eine inhibierende Rolle festgestellt wurde.<sup>137</sup> Dies führt bei der CLL analog zu 4-1BB/4-1BBL zu einer stark verminderten direkten und Rituximab-induzierten NK-Zell-Reaktion gegen die CLL-Zellen sowie in den CLL-Zellen zu einer vermehrten Ausschüttung von IL-6, IL-8 und TNF.<sup>138</sup> Diese drei Zytokine gehen wie zuvor erwähnt mit einer schlechten Prognose der Erkrankung einher.<sup>128–130</sup> Im Umkehrschluss zeigte sich bei der Blockade von GITR eine verstärkte Rituximab-induzierte und natürliche NK-Zell-Reaktion mit verstärkter Degranulation und INF- $\gamma$ -Produktion durch die NK-Zellen.<sup>138</sup>

Diese Erkenntnisse und die mögliche Involvierung von 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL führen zur Zielsetzung dieser Arbeit.

### 1.5 Zielsetzung

Bis heute ist die CLL eine nahezu unheilbare Erkrankung. Durch neue Therapien wie die Anwendung der *small molecules* oder konventionelle Methoden wie Chemo- und Chemoimmuntherapien können die Patienten häufig in Remission gebracht werden. Die allogene Stammzelltransplantation, die mit einer hohen Toxizität verbunden ist und deshalb selten angewendet wird, ist jedoch weiterhin die einzige Möglichkeit zur Heilung der Erkrankung.

Deshalb ist es für den Patienten und den behandelnden Arzt essenziell, dass Methoden verfügbar sind, die frühzeitig eine Einschätzung der Prognose der Erkrankung möglich machen. Solche prognostischen Marker wurden in den letzten Jahren in Form von klinischen, zytogenetischen und molekularen Scores zwar vermehrt entwickelt, jedoch gibt es weiterhin Potential zur Verbesserung.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Oberflächenmarker 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL als mögliche Prognosemarker in der CLL-Erkrankung zu untersuchen. Da bereits in Studien gezeigt wurde, dass sich 4-1BB/4-1BBL zur Abschätzung der Prognose einer AML-Erkrankung eignen, steht in dieser Arbeit die Expression von 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL auf den CLL-Zellen im Vordergrund. Hierzu sollen die im Universitätsklinikum Tübingen zwischen 1993 und 2019 behandelten CLL-Patienten retrospektiv hinsichtlich ihres Gesamtüberlebens, TFS

## 1 Einleitung

(therapiefreies Überleben) und therapiefreien Überlebens nach Rituximab untersucht werden. Zudem soll eine Assoziation zwischen den etablierten prognostischen Markern (Binet und Rai Stadium, CD38-Expression, IGVH-Mutationsstatus, TP53-Mutationsstatus) und dem Gesamtüberleben überprüft werden. Außerdem soll die Expression der Oberflächenmoleküle 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL auf den CLL-Zellen dieser Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten untersucht werden. In einem weiteren Schritt soll eine mögliche Assoziation zwischen Gesamtüberleben, TFS und TFS nach Rituximab und der 4-1BB-/4-1BBL- und GITR-/GITRL-Expression auf den CLL-Zellen beleuchtet werden. Hierdurch können möglicherweise neue Erkenntnisse über 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL als mögliche Prognosemarker der CLL gewonnen werden.

## **2 Methoden und Materialien**

### **2.1 Ethik**

Für diese wissenschaftliche Arbeit liegt ein Ethikvotum vor. Der Ethikantrag ist unter der Referenznummer (13/2007V) zu finden. Die Ethikkommission Tübingen erteilte diesem Ethikantrag ihre Genehmigung.

### **2.2 Patienten und Rekrutierung**

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die klinischen Daten von 103 CLL-Patienten erhoben, welche zwischen 1993 und 2019 in der Medizinischen Klinik Innere Medizin II der Universitätsklinik Tübingen behandelt und beobachtet wurden. Abschluss der Beobachtung war der 01.08.2019. Eingeschlossen wurden Patienten mit der Diagnose einer CLL unabhängig vom aktuellen Behandlungsstatus oder etwaigen Begleiterkrankungen. Den Patienten wurde, nach ausführlicher Aufklärung und der Erteilung ihres schriftlichen Einverständnisses, Blut entnommen.

### **2.3 Datenerhebung**

Die Ermittlung der klinischen Daten erfolgte mittels Suchanfrage in der digitalen Akte. Alle Daten, die nicht in der digitalen Akte ermittelt werden konnten, wurden entweder in archivierten Daten, durch Nachfrage bei weiterbehandelnden Krankenhäusern, Hämatologen/Onkologen und Hausärzten oder durch Anfrage beim Medizin Zentrum Dortmund in den Abteilungen für Molekulare Diagnostik und Zytogenetik ermittelt.

Es wurden u.a. die folgenden Informationen über die Patienten ermittelt: Datum der Erstdiagnose (ED) der CLL; Alter bei ED; Datum der Entnahme des Blutes (BE) zur Messung der Expression von G1TR, G1TRL, 4-1BB und 4-1BBL, Prognosemarker (z.B. CD38, IGVH-Mutationsstatus).

#### **2.3.1 Binet- und Rai-Stadium**

Das Binet-Stadium und das Rai-Stadium wurden zum Zeitpunkt der Erstdiagnose und zum Zeitpunkt der Blutentnahme ermittelt. Falls das Stadium der digitalen

Akte nicht zu entnehmen waren, wurden sie anhand der Laborparameter und Untersuchungsergebnisse zu diesem Zeitpunkt, nach den Binet- und Rai-Kriterien bestimmt (siehe Kapitel 1.2.3). Bezüglich des Rai-Stadiums wurden die Patienten außerdem den unterschiedlichen Risikogruppen (Rai-Stadium 0  $\triangleq$  niedriges Risiko; Rai-Stadium I und II  $\triangleq$  intermediäres Risiko, Rai-Stadium III und IV  $\triangleq$  hohes Risiko) zugeordnet (siehe Kapitel 1.2.3).

### **2.3.2 (Vor-)Therapien**

Die Therapieregime seit Erstdiagnose wurden für jeden Patienten ermittelt. Zunächst wurde erhoben, ob die Patienten jemals eine Therapie erhalten haben und falls ja, welchen Therapiestatus die Patienten zum Zeitpunkt der Blutentnahme hatten (erhalten/stehend).

Es wurde das Datum der ersten Therapie, das Datum der ersten Therapie nach der Blutentnahme, die Zeit zwischen Diagnose und erster Therapie, die Zeit zwischen dem Zeitpunkt der Blutentnahme und der nächsten darauffolgenden Therapie und die Zeit zwischen der ersten Therapie nach der Blutentnahme und der nächsten Therapieindikation bestimmt.

Zudem wurde die Anzahl der erhaltenen Therapien erhoben und ob die Patienten zum Zeitpunkt der ersten Therapieindikation sofort behandelt wurden.

Des Weiteren wurde ermittelt, ob den Patienten jemals eine Therapie mit Rituximab verabreicht wurde und ob sie die erste Rituximabbehandlung vor oder nach der Blutentnahme erhielten.

### **2.3.3 Blutbild und $\beta$ -2-Mikroglobulin**

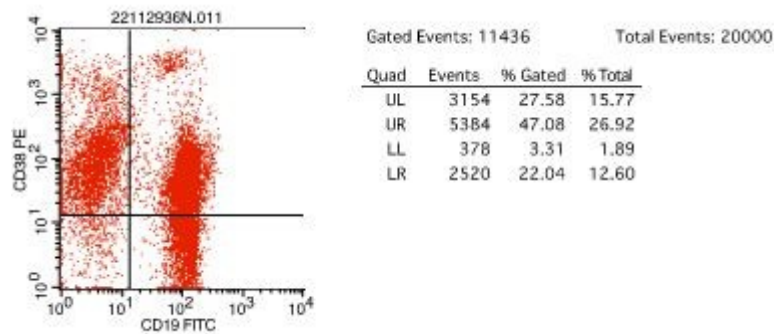
Aus den Labordaten der Patienten wurde die Lymphozytenzahl, der Hämoglobinwert und die Thrombozytenzahl zum Zeitpunkt der Blutentnahme ermittelt. Die Werte wurden in relevante Anämie (Hb < 10 mg/dl) und Thrombozytopenie (Thrombozyten < 100.000/ $\mu$ l) eingeteilt, wobei sich an den iwCLL-Richtlinien<sup>19</sup> zur Therapieindikation orientiert wurde (siehe Kapitel 1.3.1).

Sofern in den Labordaten vorhanden, wurde außerdem die Konzentration des  $\beta$ -2-Mikroglobulins in mg/l erfasst.

### 2.3.4 CLL-Population, ZAP70, CD38-Expression

Zur Bestimmung der CLL-Population (B-Zellen mit typischem Immunphänotyp einer CLL, siehe Kapitel 1.2.2) in % wurde jeweils eine Durchflusszytometrie (Fluorescence activated cell sorting, FACS) des peripheren Blutes der Patienten durchgeführt. Diese Daten wurden aus der Patientenakte entnommen. Des Weiteren wurde die ZAP70-Expression in % und die CD38-Expression in % mittels Durchflusszytometrie ermittelt. Hierzu wurde der Anteil der CD19 und CD38 doppelpositiven Zellen aus dem Dot-Plot ermittelt (siehe Abbildung 3). Dabei wurde folgende Formel angewendet:

$$CD38 (\%) = \frac{100\%}{UR(\%Gated)+LR(\%Gated)} \times UR(\%Gated).$$



**Abbildung 3: Dot Plot der CD19/CD38-positiven Zellen eines Patienten entnommen aus einem FACS zur Berechnung der CD38-Expression in %**

Patienten mit einer CD38-Expression  $\geq 30\%$  wurden als CD38 positiv definiert<sup>10,32,34</sup>, während Patienten mit einer CD38-Expression  $< 30\%$  als CD38 negativ definiert wurden. Patienten, bei denen aus dem schriftlichen FACS-Befund nur CD38 positiv oder negativ zu entnehmen war, wurden den entsprechenden Gruppen zugeordnet.

Patienten wurden anhand der ZAP70 entsprechend der cut-off-Werte aus vorherigen Untersuchungen<sup>29,43,44</sup> in ZAP70 negativ ( $\leq 20\%$ ) und positiv ( $> 20\%$ ) basierend auf dem FACS-Befund eingeteilt.

### 2.3.5 TP53-Mutation, Zytogenetik und IGVH-Mutationsstatus

Wenn möglich wurde der TP53-Mutationsstatus und der del17p13-Status der Patienten ermittelt. Außerdem wurde überprüft, ob bei den Patienten eine

zytogenetische Untersuchung bzgl. weiterer genomischer Aberrationen durchgeführt wurde.

Patienten, die bei dieser Untersuchung negativ auf eine del17p13 getestet wurden und auch sonst einen unauffälligen Befund aufwiesen (46, XX bzw. XY), wurden als Patienten ohne genomische Aberration gewertet.

Patienten, bei denen genomische Aberrationen festgestellt werden konnten, wurden in unterschiedliche Risikogruppen eingeteilt. Die Einteilung in diese Gruppen erfolgte anhand anerkannter prognostisch bedeutender Mutationen.

So wird eine del13q14 mit einer positiven Prognose, ein negativer Befund bezüglich einer del17p13 mit gleichzeitig sonst unauffälligem Befund (46,XX bzw. XY) oder eine Trisomie 12 als normale Prognose, eine del11q22 und del17p13 als negative Prognose und alle weiteren Befunde von anderen Aberrationen als unbekannte Prognose gewertet (siehe Kapitel 1.2.4.5). Wenn mehrere Mutationen in der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs-(FISH-) Analyse festgestellt wurden, wurde der Patient nach dem prognostisch negativeren Befund gewertet und der entsprechenden Kategorie zugeordnet. Das bedeutet, wenn bei einem Patienten sowohl eine del11q22 als auch eine del13q14 festgestellt wurde, wurde dieser Patient als prognostisch ungünstig eingestuft.

Weiterhin wurde aus den Unterlagen der IGVH-Mutationsstatus entnommen, welcher in IGVH unmutiert und hypermutiert unterteilt wurde.

### **2.3.6 Hochrisiko-CLL**

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit werden das Auftreten von einem oder mehreren der zuvor genannten prognostisch ungünstigen Faktoren (unmutiertem IGVH-Status, Deletion 17p13, TP53-Mutation und Deletion 11q23) unter dem Begriff der Hochrisiko-CLL zusammengefasst.

### **2.3.7 CLL-IPI-Score**

Unter Einbezug der zuvor ermittelten Charakteristika wurde der CLL-IPI-Score, nach den Kriterien in Kapitel 1.2.4.7 berechnet. Hierfür wurde eine TP53- bzw. 17p-Mutation mit 4 Risikopunkten bewertet, ein unmutierter IgHV-Status mit 2 Risikopunkten, eine  $\beta$ -Mikroglobulinkonzentration  $> 3,5$  mg/l mit 2 Risikopunkten,

ein klinisches Stadium von Rai I-IV bzw. Binet B-C mit einem Risikopunkt und ein Patientenalter > 65 Jahren als ein Risikopunkt. Die Risikopunkte wurden addiert und der Patient in die entsprechende Risikogruppe einsortiert. Anhand der Risikogruppe kann das erwartete, mediane Überleben abgeleitet werden.

### **2.3.8 Gesamtüberleben, therapiefreies Überleben, therapiefreies Überleben nach Rituximab**

*Data cut off date* war der 01.08.2019. Patienten waren bis zu diesem Datum entweder verstorben, lebten noch oder es konnten keine weiteren Informationen über sie herausgefunden werden und galten somit als *lost to follow up*. Aus dem Datum des letzten Kontakts bzw. des Todestages wurde die Zeit zwischen der Diagnose und dem letzten Kontakt berechnet und als Gesamtüberleben definiert. Die gleiche Berechnung erfolgte für die Zeit zwischen der Blutabnahme und dem letzten Kontakt bzw. dem Tod. Als TFS wurde die Zeit zwischen der Erstdiagnose/Blutabnahme und der Ersttherapie definiert. Falls der Patient nie eine Therapie erhielt, wurde statt dem Datum der Ersttherapie das Datum des letzten Kontakts bzw. des Todes genommen und zensiert. Bei Patienten, die eine Therapie mit Rituximab erhielten, wurde das Datum dieser und das Datum der nächsten Therapie erhoben. Aus diesen zwei Daten wurde die Zeit zwischen der letzten Rituximabtherapie und der nächsten darauffolgenden Therapie bestimmt. Diese Zeitspanne wurde als TFS nach Rituximab definiert.

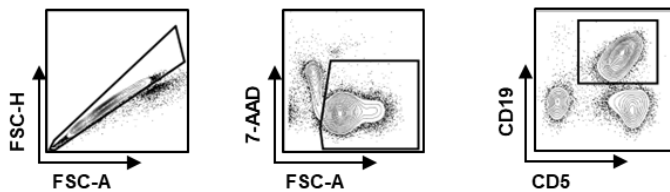
### **2.4 Bestimmung der Expression von 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL mittels Immunphänotypisierung (FACS)**

Die Bestimmung der Expression von 4-1BB, 4-1BBL, GITR und GITRL auf den CLL-Zellen wurde mittels Immunphänotypisierung durchgeführt.<sup>139</sup>

Hierfür wurden die PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cell) der Patienten mit humanem IgG (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) behandelt, um eine Fcγ-Rezeptorbindung zu minimieren. Nachdem die Zellen gewaschen wurden, wurden unkonjugierte 4-1BB- (clone 4B4-1, Ansell Corporation, Bayport, MN), 4-1BBL- (clone C65-485, BD Pharmingen Inc., EU), GITR- (clone 110416, R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN) und GITRL- (clone 109101, R&D Systems, Inc., Minneapolis,

## 2 Methoden und Materialien

MN) mAbs (monoklonale Antikörper) oder Isotyp-Kontrollantikörper mit einer Konzentration von 1 µg/ml hinzugegeben. Als letztes folgte die Zugabe von speziesspezifischen PE-(Phycoerythrin-)konjugierten Antikörpern (1:100). Danach wurden die CLL-Zellen, mittels Fluoreszenz-konjugierter Antikörper gegen CD19 und CD5, identifiziert und die toten Zellen wurden anhand ihrer 7-AAD- (BioLegend, San Diego, CA) Positivität ausgeschlossen (siehe Abbildung 4). Die Fluoreszenz-konjugierten Antikörper (CD19 und CD5, BD) wurden in einer Verdünnung von 1:25 – 1:50 angewendet.



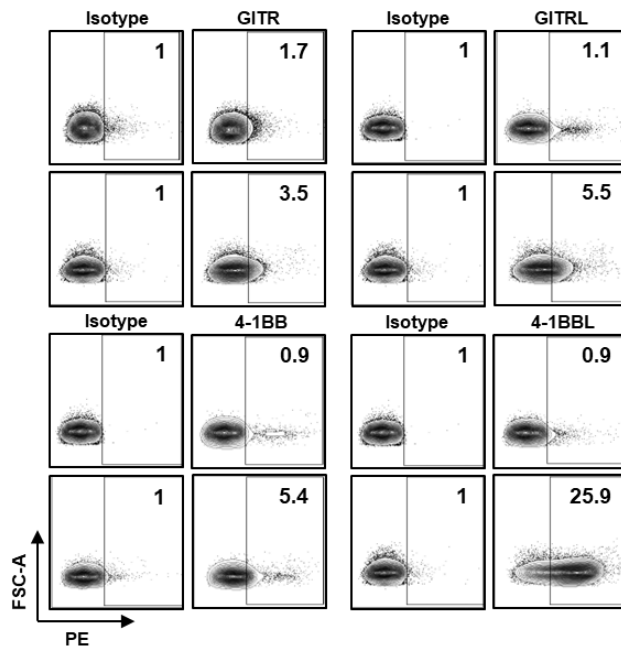
**Abbildung 4: Gating Strategie zur Identifizierung der toten Zellen und der CLL-Zellen (Abbildungen entnommen aus Kaban et al.)<sup>139</sup>**

Zur Berechnung der spezifischen Fluoreszenzindizes (SFIs) wurde die mediane Fluoreszenz, die durch die Anti-4-1BB-, Anti-4-1BBL, Anti-GITR- und Anti-GITRL-mAbs erzielt wurde durch die mediane Fluoreszenz, die durch die IgG1-Isotypkontrolle erzielt wurde, dividiert.

Die Messungen wurden mit einem BD FACSCanto™ II Flow Cytometer (BD Biosciences, Heidelberg, Germany) durchgeführt und die Datenanalyse erfolgte mittels der FlowJo\_V10 Software (FlowJo LCC, Ashland, OR).

Die Gating Strategie zur Bestimmung der Rezeptor- und Ligandenexpression auf CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> CLL-Zellen ist exemplarisch in Abbildung 5 dargestellt.

## 2 Methoden und Materialien



**Abbildung 5: Exemplarische Darstellung der Gating Strategie zur Bestimmung der Rezeptor- und Ligandenexpression (Abbildungen entnommen aus Kaban et al.)<sup>139</sup>**

### 2.5 Statistische Analyse und Software

Diese Arbeit wurde unter Verwendung von Microsoft Word Version 2306 angefertigt.

Zur statistischen Analyse wurde die Version 27.0 der SPSS-Statistik-Software verwendet.

Die Analyse von Häufigkeiten wurde durch deskriptive Verfahren wie N (non-missing number), Median, Mittelwert, Minimum, Maximum, 25 % (p25) bzw. 75 % (p75) Interquartile, Standardabweichung der Werte durchgeführt. Die Box-Plots zur Darstellung der Verteilung der Expressionen von 4-1BB, 4-1BBL, GITR und GITRL wurde mittels Excel erstellt.

Die Darstellung und Analyse der Überlebenskurven erfolgte mithilfe der Kaplan-Meier-Analyse, wobei die dabei ermittelte Signifikanz mittels dem Log-Rank-Test analysiert wurde. Bei der Kaplan-Meier-Analyse handelt es sich um ein Verfahren zur Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeit. Nach jedem Eintritt eines Ereignisses wie z.B. Tod oder dem Auftreten einer erneuten Therapieindikation wird die Überlebenswahrscheinlichkeit für jeden Patienten neu berechnet. Patienten, bei denen bis zum Endpunkt der Beobachtung kein Ereignis eintritt oder Patienten, die aus anderen Gründen aus der Beobachtungsgruppe ausscheiden, werden „zensiert“. Eine Kaplan-Meier-Analyse wurde in dieser Untersuchung bezüglich des Gesamtüberlebens für die Binet-Stadieneinteilung, die Rai-Stadieneinteilung, die CLL-Population, den IGVH-Mutationsstatus, die TP53-Mutation, und die 4-1BB-,4-1BBL, GITR- und GITRL-Expression durchgeführt. Des Weiteren wurden für die 4-1BB-, 4-1BBL, GITR- und GITRL-Expressionen zusätzlich Kaplan-Meier-Analysen bezüglich des TFS und des TFS nach Rituximab durchgeführt. Das 5- und 10-Jahres-Überleben (JÜR), TFS und TFS nach Rituximab wurde nach Durchführung der Kaplan-Meier-Analyse der Überlebenstabelle entnommen.

Zudem wurde eine multivariate Cox-Regression durchgeführt, womit der gleichzeitige Einfluss von unterschiedlichen Faktoren auf die Überlebenszeit überprüft werden kann. In der hier durchgeführten Studie wurden das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, das Geschlecht der Patienten, das Binet-Stadium zum Zeitpunkt der Erstdiagnose und die möglichen Prognosefaktoren 4-

## 2 Methoden und Materialien

1BB-, 4.-1BBL-, GITR- und GITRL-Expression in die Cox-Regression miteinbezogen.

Für alle statistischen Tests wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p \leq 0,05$  (zweiseitig) als signifikant angesehen.

## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Patientenkollektiv**

Die folgenden Ergebnisse wurden mithilfe der Patientendaten aus den Tabellen 13 – 15 ermittelt. Die Kapitel 3.1.1 – 3.1.9 behandeln die deskriptive statistische Auswertung der in Kapitel 3.1.10 hinterlegten Tabellen.

## 3 Ergebnisse

### 3.1.1 Patientencharakteristika

Von den 103 Patienten, die für diese Arbeit beobachtet und untersucht wurden waren 39 weiblich (37,9 %) und 64 männlich (62,1 %). Das Durchschnittsalter der Patienten bei Erstdiagnose der CLL betrug 59,83 Jahre (SD 10,77) mit einem medianen Alter von 62 Jahren (p25-75: 52 – 67), wobei die jüngsten Patienten 36 Jahren alt waren und der Älteste 80 Jahre alt. Das durchschnittliche Alter bei der Blutentnahme lag bei 65,29 Jahren (SD 11,75) und das mediane Alter bei der Blutentnahme bei 67 Jahren (p25-75: 58 – 67), mit einem Minimum von 36 Jahren und einem Maximum von 89 Jahren (Tabelle 6).

Die durchschnittliche Dauer zwischen der Erstdiagnose der Erkrankung und der Blutentnahme lag bei 65,47 Monaten (SD 59,82), die mediane Dauer bei 49,64 Monaten (p25-75: 22,31 – 101,74) und das Minimum und Maximum lagen zwischen 0 und 305,12 Monaten (Tabelle 6).

**Tabelle 6: Deskriptive Analyse der Patientengruppe:**

Variable	n	
Geschlecht	103	
Weiblich, n (%)		39 (37,9)
Männlich, n (%)		64 (62,1)
Alter [Jahre] bei ED, Mittelwert (SD)	103	59,83 (10,77)
Alter [Jahre] bei ED, Median (p25-75)	103	62 (52 – 67)
Alter [Jahre] bei ED, Minimum - Maximum	103	36 - 80
Alter [Jahre] bei BE, Mittelwert (SD)	103	65,29 (11,75)
Alter [Jahre] bei BE, Median (p25-75)	103	67 (58 – 73)
Alter [Jahre] bei BE, Minimum - Maximum	103	36 - 89
Dauer [Monate] Diagnose bis BE, Mittelwert (SD)	103	64,47 (59,82)
Dauer [Monate] Diagnose bis BE, Median (p25-75)	103	49,64 (22,31 – 101,74)
Dauer [Monate] Diagnose bis BE, Minimum - Maximum	103	0 – 305,12

ED = Erstdiagnose; BE = Blutentnahme

### 3.1.2 Stadieneinteilung

Bei 99 Patienten konnte das Initialstadium nach Binet bestimmt werden. Hierbei befanden sich 70 Patienten (70,7 %) in Stadium A, 22 (22,2 %) in Stadium B und 7 (7,1 %) in Stadium C. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme konnte das Binet Stadium bei 101 Patienten bestimmt werden. 43 (42,6 %) befanden sich in Stadium A, 34 (33,6 %) in Stadium B und 24 (23,8 %) in Stadium C (siehe Tabelle 7).

Es war bei 82 Patienten möglich das Initialstadium nach Rai zu bestimmen. Davon befanden sich 29 (35,4 %) in Stadium 0, 23 (28,1 %) in Stadium I, 22 (26,8 %) in Stadium II, 2 (2,4 %) in Stadium III und 6 (7,3 %) im Stadium IV. Nachdem diese Patienten den drei Risikogruppen (siehe Kapitel 1.2.3) zugeordnet wurden, befanden sich 29 Patienten in der niedrigen Risikogruppe (35,4 %), 45 in der intermediären Risikogruppe (54,8 %) und acht Patienten in der hohen Risikogruppe (9,8 %). Am Tag der Blutentnahme konnte bei 101 Patienten das Rai Stadium bestimmt werden. 15 (14,9 %) befanden sich hierbei in Stadium 0, 25 (24,8 %) in Stadium I, 31 (30,7 %) in Stadium II, 12 (11,8 %) in Stadium III und 18 (17,8 %) in Stadium IV (siehe Tabelle 7).

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 7: Deskriptive Analyse der Stadieneinteilung nach Binet und Rai**

Variable	n	n (%)
Initialstadium Binet	99	
A		70 (70,7)
B		22 (22,2)
C		7 (7,1)
Stadium bei BE Binet	101	
A		43 (42,6)
B		34 (33,6)
C		24 (23,8)
Initialstadium Rai	82	
0		29 (35,4)
I		23 (28,1)
II		22 (26,8)
III		2 (2,4)
IV		6 (7,3)
Initiale Risikogruppe Rai	82	
Niedriges Risiko		29 (35,4)
Intermediäres Risiko		45 (54,8)
Hohes Risiko		8 (9,8)
Stadium bei BE Rai	101	
0		15 (14,9)
I		25 (24,8)
II		31 (30,7)
III		12 (11,8)
IV		18 (17,8)

BE = Blutentnahme

## 3 Ergebnisse

### 3.1.3 Blutwerte zum Entnahmezeitpunkt

Zum Zeitpunkt der Blutentnahme konnten bei 101 Patienten Lymphozytenzahl, Hämoglobin und Thrombozytenzahl bestimmt werden. Die Lymphozytenzahl betrug im Median 52.070/ $\mu$ l Blut (p25-75: 27.123 – 97.761). Der Mittelwert des Hämoglobinwertes lag bei 12,63 g/dl (SD 1,93) und der der Thrombozytenzahl bei 176.900/ $\mu$ l (SD 78.496,94). Von diesen 101 Patienten litten 12 (11,9 %) unter einer Anämie, 16 (15,8 %) unter einer Thrombozytopenie und keiner unter einer Leukopenie (siehe Tabelle 8).

**Tabelle 8: Deskriptive Analyse der hämatologischen Parameter**

Variable	n	
Lymphozyten/ $\mu$ l, Median (p25-75)	101	52.070 (27.123 – 97.761)
Hämoglobin [g/dl], Mittelwert (SD)	101	12,63 (1,93)
Thrombozyten/ $\mu$ l, Mittelwert (SD)	101	176.900 (78.496,94)
Anämie, n (%)	101	12 (11,9)
Thrombozytopenie, n (%)	101	16 (15,8)
Leukopenie, n (%)	101	0 (0)

### 3.1.4 CLL Population und Prognosefaktoren

Bei 100 Patienten wurde die CLL Population in % bestimmt. Der durchschnittliche Wert lag hierbei bei 63,83 % (SD 19,51). Der Median betrug 70 % (p25-75: 51 – 80) und das Maximum und Minimum 98 % und 15 %. Der  $\beta$ 2-Mikroglobulinwert wurde bei 49 Patienten bestimmt und betrug im Median 3,7 mg/l (p25-75: 2,7 – 5,15). Der maximale  $\beta$ 2-Mikroglobulinwert lag bei 16,8 mg/l und der Minimalwert bei 1,7 mg/l. Bei 35 Patienten wurde in einer molekulardiagnostischen Analyse der IGVH-Mutationsstatus ermittelt. 15 (42,9 %) stellten sich hierbei als unmutiert und 20 (57,1 %) als hypermutiert heraus. Die CD38-Expression auf den B-Zellen wurde bei 88 Patienten gemessen. 67 (76,1 %) Patienten hatten eine Expression < 30 % und 21 (23,9 %) Patienten eine Expression  $\geq$  30 %. In zytogenetischen Analysen bei 68 Patienten konnten bei 62 (92,2 %) Aberrationen festgestellt werden. Bei 12 (19,4 %) dieser 62 Patienten fand man eine del13q14, bei 7 (11,3 %) eine Trisomie 12, bei 8 (12,9 %) eine del11q22 und bei 4 (6,5 %) eine del17p13. Anhand dieser Befunde wurden die 68 Patienten in

### 3 Ergebnisse

Prognosegruppen eingeteilt. 10 (14,7 %) Patienten gehörten hierbei zur Gruppe mit der günstigen Prognose, 8 (11,8 %) gehörten zur Gruppe mit der normalen Prognose, 12 (17,6 %) gehörten zur Risikogruppe und bei 38 (55,9 %) war keine Aussage zur Prognose möglich. Eine molekulare Diagnostik bezüglich einer TP53-Mutation wurde bei 41 Patienten durchgeführt, wobei bei 3 (7,3 %) der Patienten eine solche Mutation festgestellt werden konnte. Die restlichen 38 Patienten wiesen keine Mutation auf dem TP53-Gen auf (siehe Tabelle 9).

Bei 10 Patienten erfolgte eine Bestimmung der ZAP70-Expression. Ein Patient (10 %) zeigte eine positive ZAP70-Expression und 9 Patienten (90 %) wiesen keine ZAP70-Expression auf (siehe Tabelle 9).

30 der 103 Patienten (29,13 %) litten nach den in Kapitel 2.3.6 definierten Kriterien an einer Hochrisiko-CLL (siehe Tabelle 9).

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 9: Deskriptive Analyse der prognostischen Marker**

Variable	n	
CLL Population [%], Mittelwert (SD)	100	65,59 (19,45)
CLL Population [%], Median (p25-75)	100	70 (51 – 80)
CLL Population [%], Minimum - Maximum	100	15 – 98
β-2-Mikroglobulin [mg/l], Median (p25-75)	49	3,7 (2,7 – 5,15)
β-2-Mikroglobulin [mg/l], Minimum - Maximum	49	1,7 – 16,8
CD38	88	
< 30 %, n (%)		67 (76,1)
≥ 30 %, n (%)		21 (23,9)
TP53-Mutation n (%)	41	3 (7,3)
Genomische Aberrationen	62	
Del 13q, n (%)		12 (19,4)
Trisomie 12, n (%)		7 (11,3)
Del 11q, n (%)		8 (12,9)
Del 17p13, n (%)		4 (6,5)
Zytogenetik Klassifikation	68	
n/a, n %		38 (55,9)
Günstig, n (%)		10 (14,7)
Normal, n (%)		8 (11,8)
Risiko, n (%)		12 (17,6)
IGVH	35	
Unmutiert, n (%)		15 (42,9)
Mutiert, n (%)		20 (57,1)
ZAP70	10	
Negativ, n (%)		9 (90)
Positiv, n (%)		1 (10)
Hochrisiko-CLL, n (%)	103	30 (29,13)

## 3 Ergebnisse

### 3.1.5 Therapie

58 (55,8 %) der 103 Patienten erhielten im gesamten Beobachtungszeitraum mindestens eine Therapie gegen die Erkrankung. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme konnte bei 102 Patienten ermittelt werden, ob sie eine Therapie erhalten hatten (26 Patienten (25,5 %)), zu dieser Zeit unter Therapie standen (7 Patienten (6,9 %)) oder bis zu diesem Zeitpunkt keine Therapie erhalten hatten (69 Patienten (67,6 %)). Die maximale Anzahl an Therapien betrug neun und die minimale Anzahl null. 44,2 % (46 von 103) Patienten erhielten als Therapieregime den CD20-Antikörper Rituximab, dies sind 79,3 % der jemals therapierten Patienten (siehe Tabelle 10).

**Tabelle 10: Deskriptive Analyse der Therapien**

Variable	n	
Jemals Therapie erhalten, n (%)	103	58 (56,3)
Therapie nach BE, n (%)	103	50 (48,5)
Therapieindikation BE	102	
Erhalten, n (%)		26 (25,5)
Nein, n (%)		69 (67,6)
Stehend, n (%)		7 (6,9)
Anzahl der Therapien, Median (p25-75)	103	1 (0 – 2)
Anzahl der Therapien, Minimum - Maximum	103	0 – 9
Jemals Rituximab erhalten, n (%)	103	46 (44,7)
Jemals Rituximab erhalten, n (%) von jemals Therapie erhalten	58	46 (79,3)

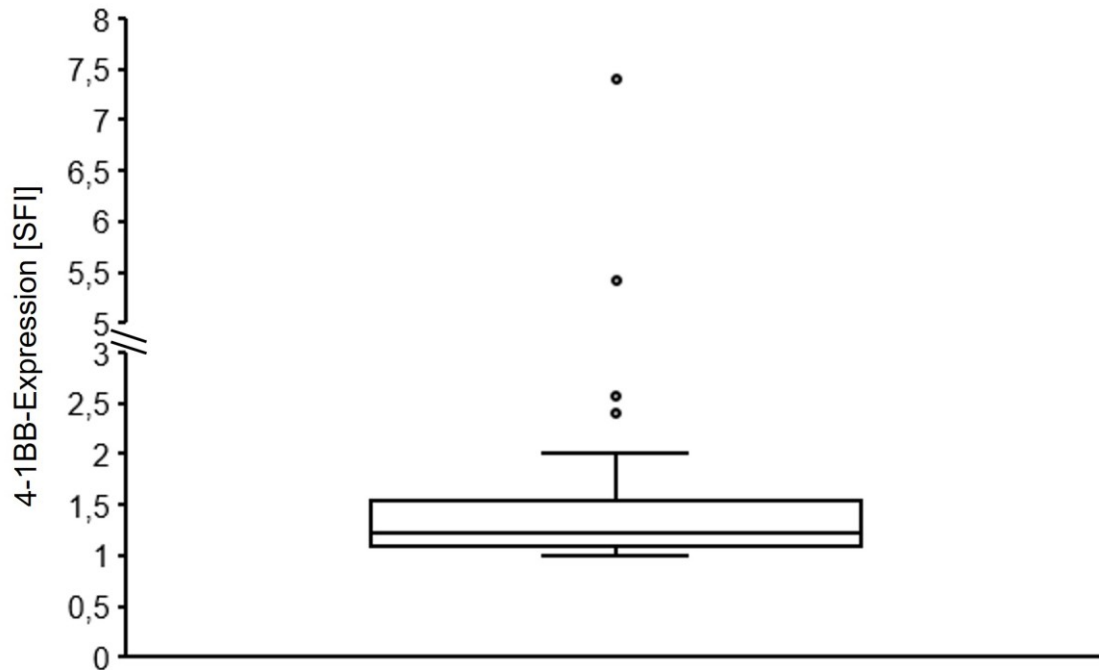
BE = Blutentnahme

## 3 Ergebnisse

### 3.1.6 4-1BB, 4-1BBL, G1TR und G1TRL

Die 4-1BB-, 4-1BBL-, G1TR- und G1TRL-Expression auf den CLL-Zellen wurde bei 74 (71,8 %) Patienten bestimmt (siehe Tabelle 11).

Die mediane Expression von 4-1BB lag bei 1,23 SFI (p25-75: 1,1 – 1,61), die maximale Expression bei 7,4 SFI und die minimale Expression bei 1 SFI (alle Expressionen < 1 sind negativ). Entsprechend der Studie von Schmoehl et al.<sup>127</sup>, wurde als cut-off-Wert für die SFI von 4-1BB ein Wert von 1,2 SFI gewählt. 42 Patienten (56,8 %) zeigten eine 4-1BB-Expression  $\leq$  1,2 SFI oder waren negativ und 32 Patienten zeigten eine Expression  $>$  1,2 SFI (siehe Abbildung 6 und Tabelle 11).

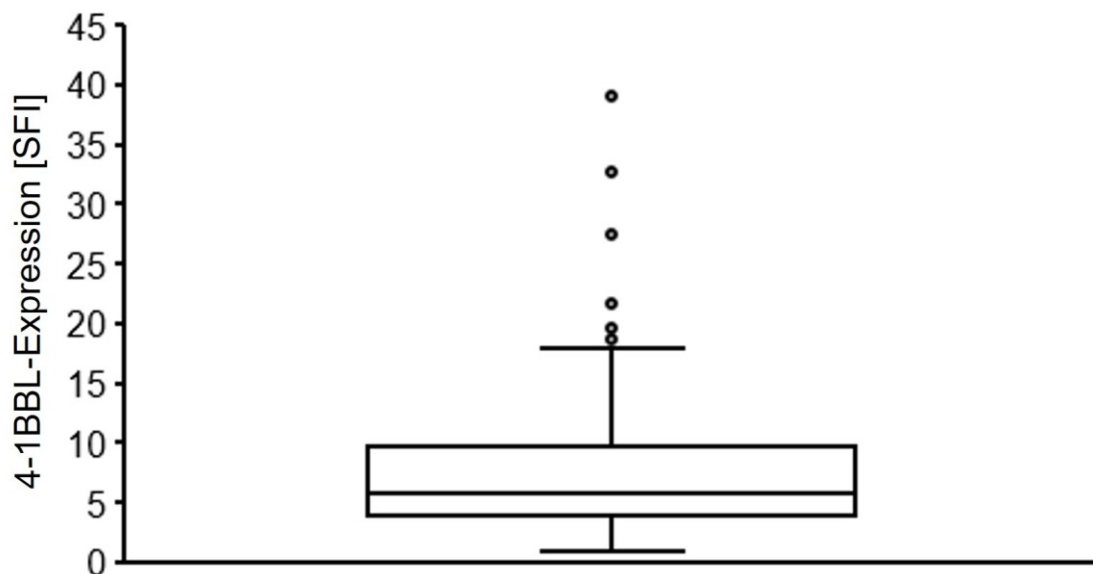


**Abbildung 6:** Box Plot zur Darstellung der Expression von 4-1BB in der Patientengruppe: Spezifische Fluoreszenzindices von 4-1BB von 74 Probanden, bestimmt mittels FACS. Unterer Whisker (Minimum) bei 1 SFI; oberer Whisker (Maximum) bei 7,4 SFI; Median bei 1,23 SFI; Interquartilsabstand 1,1 SFI - 1,61 SFI

### 3 Ergebnisse

Die maximale Expression von 4-1BBL lag bei 39 SFI und die minimale bei 0,91 SFI. Der Median der 4-1BBL-Expression lag bei 5,68 SFI (p25-75: 3,83 – 9,68). Sowohl in der Gruppe mit einer 4-1BBL-Expression  $\leq 5,68$  SFI als auch in der Gruppe mit einer Expression  $> 5,68$  SFI befanden sich 37 Patienten

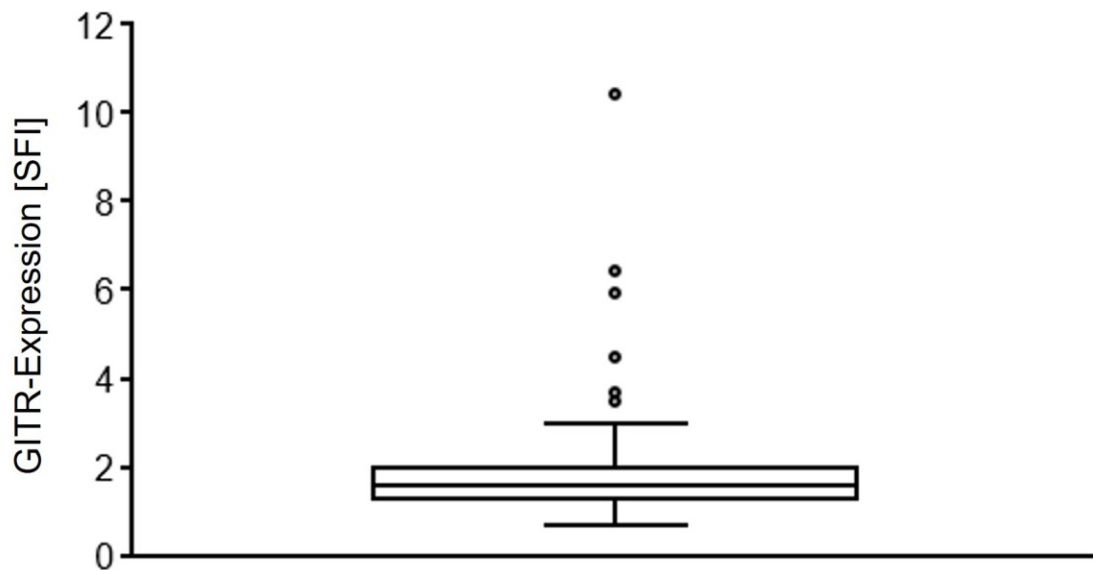
(siehe Abbildung 7 und Tabelle 11).



**Abbildung 7: Box Plot zur Darstellung der Expression von 4-1BBL in der Patientengruppe: Spezifische Fluoreszenzindices von 4-1BBL von 74 Probanden, bestimmt mittels FACS. Unterer Whisker (Minimum) bei 0,91 SFI; oberer Whisker (Maximum) bei 39 SFI; Median bei 5,68 SFI; Interquartilsabstand 3,83 SFI – 9,68 SFI**

### 3 Ergebnisse

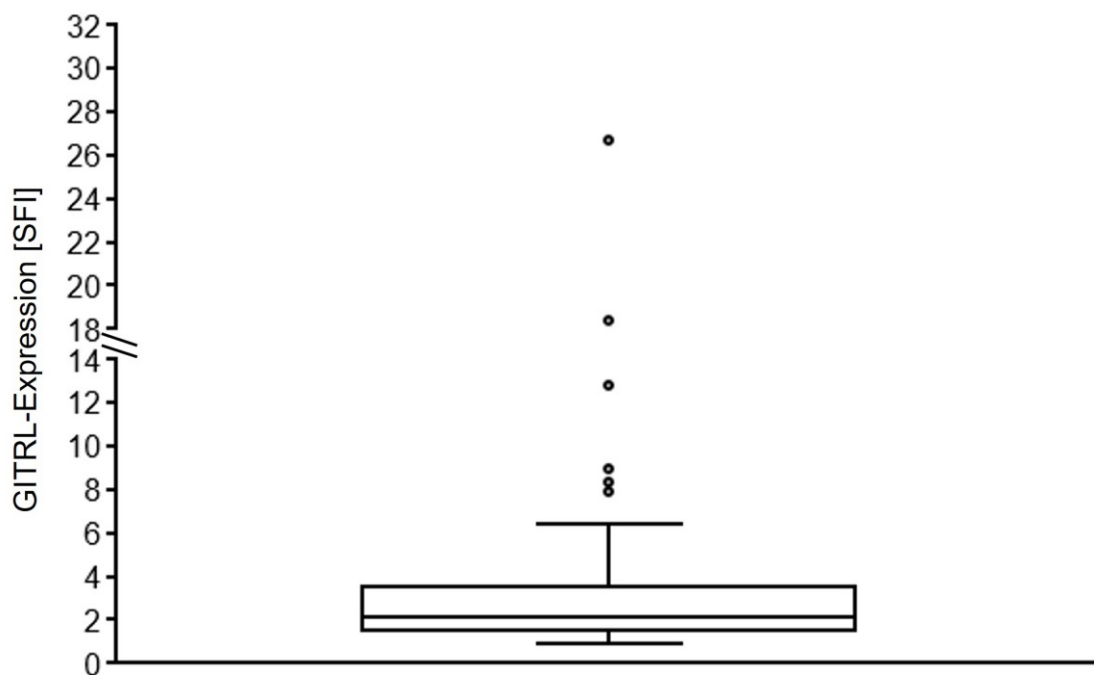
GITR zeigte seine maximale Ausprägung bei einem Wert von 10,4 SFI und die minimale Ausprägung bei 0,68 SFI. Die mediane Expression betrug 1,6 SFI (p25-75: 1,3 – 2). Nach der Einteilung der Patienten anhand ihrer GITR-Expressionen befanden sich 23 Patienten in der Gruppe mit der GITR-Expression  $\leq 1,39$  SFI, 25 Patienten befanden sich in der Gruppe mit einer GITR-Expression zwischen 1,39 SFI und 1,7 SFI und 26 Patienten befanden sich in der Gruppe mit einer GITR-Expression  $> 1,7$  SFI (siehe Abbildung 8 und Tabelle 11).



**Abbildung 8:** Box Plot zur Darstellung der Expression von GITR in der Patientengruppe: Spezifische Fluoreszenzindices von GITR von 74 Probanden, bestimmt mittels FACS. Unterer Whisker (Minimum) bei 0,68 SFI; oberer Whisker (Maximum) bei 10,4 SFI; Median bei 1,6 SFI; Interquartilsabstand 1,3 SFI – 2 SFI

### 3 Ergebnisse

Der Patient mit der stärksten Ausprägung von GITRL hatte einen Wert von 26,7 SFI, während der Patient mit der geringsten Ausprägung von GITRL einen Wert von 0,9 SFI aufwies. Der Median betrug 2,12 SFI (p25-75: 1,49 – 3,52). Nachdem die Patienten anhand der Quartile der GITRL-Expression in vier unterschiedliche Gruppen eingeteilt wurden, befanden sich 18 Patienten (24,3 %) in der Gruppe mit einer GITRL-Expression  $\leq 1,49$  SFI, 19 Patienten (25,7 %) in den Gruppen mit einer GITRL-Expression  $> 1,49$  SFI – 2,12 SFI und  $> 2,12$  SFI – 3,52 SFI und weitere 18 Patienten (24,3 %) in der Gruppe mit einer GITRL-Expression  $> 3,52$  SFI (siehe Abbildung 9 und Tabelle 11).



**Abbildung 9: Box Plot zur Darstellung der Expression von GITRL in der Patientengruppe: Spezifische Fluoreszenzindices von GITRL von 74 Probanden, bestimmt mittels FACS. Unterer Whisker (Minimum) bei 0,9 SFI; oberer Whisker (Maximum) bei 26,7 SFI; Median bei 2,12 SFI; Interquartilsabstand 1,49 SFI – 3,52 SFI**

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 11: Deskriptive Analyse der 4-1BB-, 4-1BBL-, GITR- und GITRL-Expressionen**

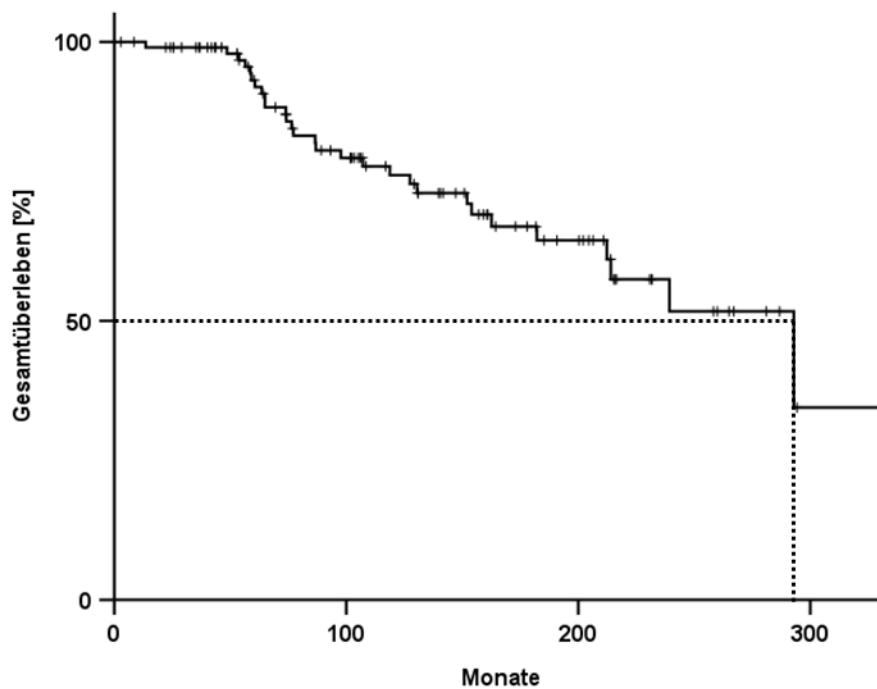
Variable	n	
4-1BB [SFI], Median (p25-75)	74	1,23 (1,1 – 1,61)
4-1BB [SFI], Minimum – Maximum	74	1 – 7,4
4-1BB Gruppen	74	
≤ 1,2 SFI, n (%)		42 (56,8)
> 1,2 SFI, n (%)		32 (43,2)
4-1BBL [SFI], Median (p25-75)	74	5,68 (3,83 – 9,68)
4-1BBL [SFI], Minimum – Maximum	74	0,91 – 39
4-1BBL Gruppen	74	
≤ 5,68 SFI, n (%)		37 (50)
> 5,68 SFI, n (%)		37 (50)
GITR [SFI], Median (p25-75)	74	1,6 (1,3 – 2)
GITR [SFI], Minimum – Maximum	74	0,68 – 10,4
GITR Gruppen	74	
≤ 1,39 SFI, n (%)		23 (31,1)
1,39 SFI – 1,7 SFI, n (%)		25 (33,8)
> 1,7 SFI, n (%)		26 (35,1)
GITRL [SFI], Median (p25-75)	74	2,12 (1,49 – 3,52)
GITRL [SFI], Minimum – Maximum	74	0,9 – 26,7
GITRL Gruppen	74	
≤ 1,49 SFI, n (%)		18 (24,3)
> 1,49 SFI – 2,12 SFI, n (%)		19 (25,7)
> 2,12 SFI – 3,52 SFI, n (%)		19 (25,7)
> 3,52 SFI, n (%)		18 (24,3)

## 3 Ergebnisse

### 3.1.7 Gesamtüberleben

Das mediane *follow-up* der Patienten betrug 107,2 Monate (p25-75 60,4 – 185,2). 57 (55,3 %) Patienten konnten nicht bis zum 01.08.2019 nachverfolgt werden und sind damit *lost to follow-up*. Innerhalb des Beobachtungszeitraums von 26 Jahren verstarben von anfänglich 103 Patienten 29 (28,2 %) (siehe Tabelle 12).

Die Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier ergab ein 5-JÜR der Gesamtpopulation von 93,1 % (95 %-KI: 87,8 – 98,4) und ein 10-JÜR von 76,1 % (95 %-KI: 66,7 – 85,5). Die mediane Gesamtüberlebenszeit ab der Erstdiagnose der Patienten betrug 292,9 Monate (95 %-KI: 191 – 394,9) (siehe Abbildung 10).



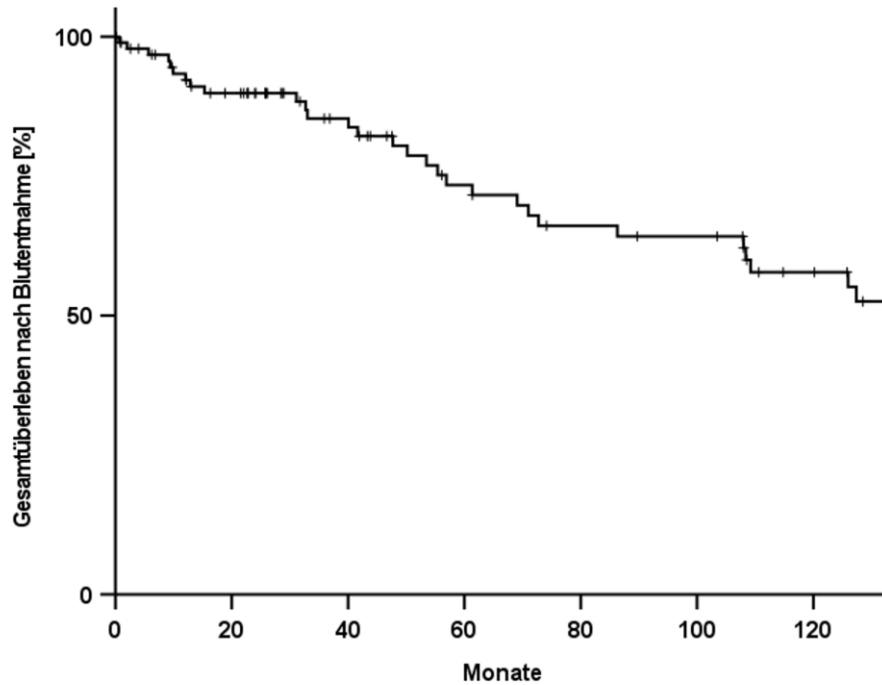
**Abbildung 10: Deskriptive Analyse des Gesamtüberlebens der gesamten Patientengruppe: statistische Analyse des Gesamtüberlebens mittels einer Kaplan-Meier-Kurve; 5-JÜR: 93,01%; 10-JÜR: 76,1%; medianes OS: 292,9 Monate.**

**Tabelle 12: Deskriptive Analyse der Parameter Lost to follow-up, Follow-up und verstorben**

Variable	n	
Lost to follow-up, n (%)	103	57 (55,3)
Follow-up [Monate], Median (p25-75)		107,2 (60,4 – 185,2)
Verstorben, n (%)	103	29 (28,2)

### 3 Ergebnisse

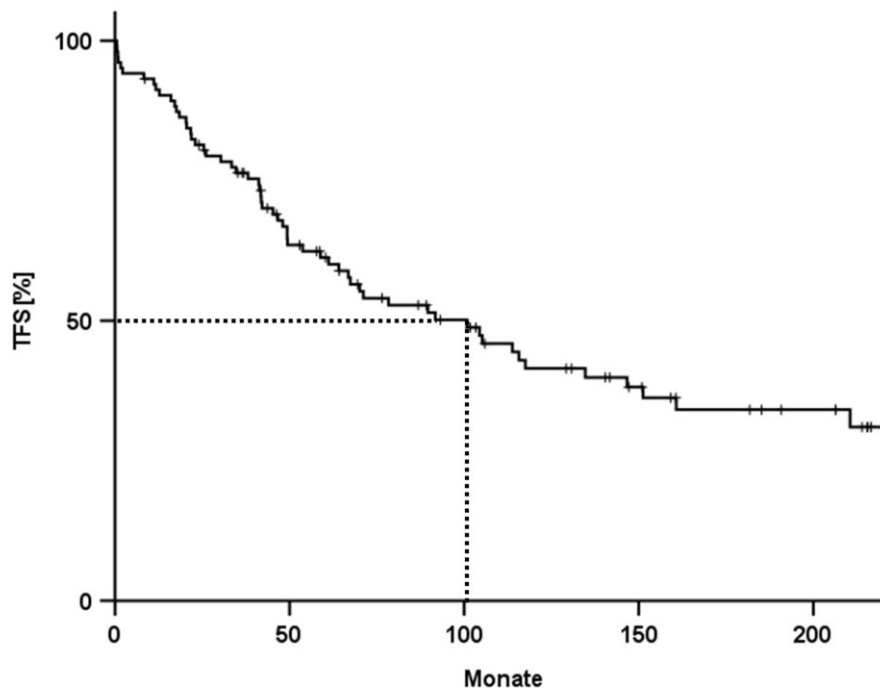
Das 5-JÜR nach der BE betrug 73,4 % (95 %-KI: 62,8 – 84) und das 10-JÜR 57,8 % (95 %-KI: 45,1 – 70,5). Das mediane Überleben wurde bei der Bestimmung des Gesamtüberlebens nach der Blutentnahme nicht erreicht (siehe Abbildung 11).



**Abbildung 11: Deskriptive Analyse des Gesamtüberlebens nach der Blutentnahme der gesamten Patientengruppe: statistische Analyse des Gesamtüberlebens mittels einer Kaplan-Meier-Kurve; 5-JÜR: 73,4 %; 10-JÜR: 57,8 %; medianes OS: nicht erreicht.**

### 3.1.8 Therapiefreies Überleben

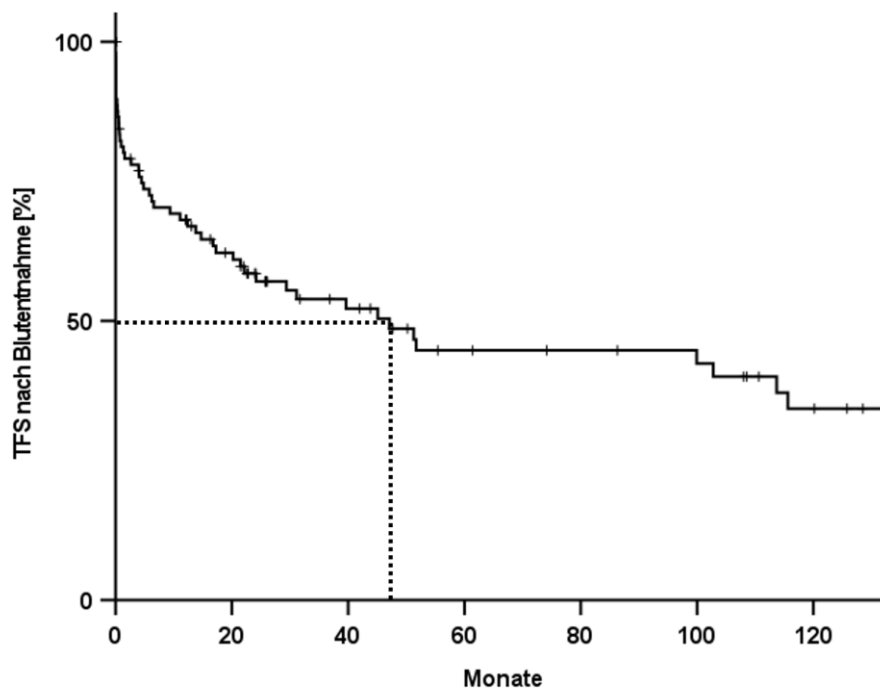
Wie in Kapitel 3.1.5 erwähnt, erhielten 58 (56,3 %) der 103 Patienten eine Therapie. Von den gesamten 103 Patienten hatten 61,3 % (95 %-KI: 51,5 – 71,1) fünf Jahre nach der Erstdiagnose noch keine Therapie erhalten. Zehn Jahren nach der Erstdiagnose hatten noch 41,5 % (95 %-KI: 30,9 – 52,1) keine Therapieindikation. Das mediane TFS betrug 100,9 Monate (95 %-KI: 58,9 – 143) (siehe Abbildung 12).



**Abbildung 12: Deskriptive Analyse des TFS ab ED der gesamten Patientengruppe: statistische Analyse des Gesamtüberlebens mittels einer Kaplan-Meier-Kurve; 5-Jahres-TFS: 61,3 %; 10-Jahres-TFS: 41,5 %; medianes TFS: 100,9 Monate.**

### 3 Ergebnisse

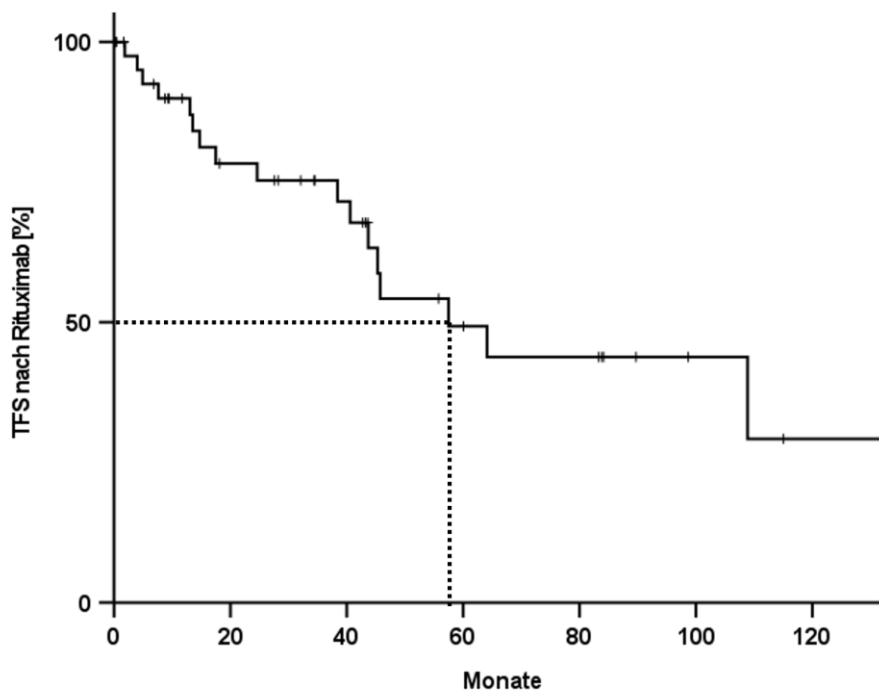
50 (48,54 %) der insgesamt 103 Patienten erhielt nach der Blutentnahme eine Therapie. Die mediane Dauer bis zu dieser Therapie betrug 47,11 Monate (95 %-KI: 23,98 – 70,25). Das 5-Jahres-TFS betrug nach der Blutentnahme 44,7 % (95 %-KI: 33,1 – 56,3) und das 10-Jahres-TFS 34,3 % (95 %-KI: 21,8 – 46,8) (siehe Abbildung 13).



**Abbildung 13: Deskriptive Analyse des TFS nach der Blutentnahme der gesamten Patientengruppe: statistische Analyse des Gesamtüberlebens mittels einer Kaplan-Meier-Kurve; 5-Jahres-TFS: 44,7 %; 10-Jahres-TFS: 34,3 %; medianes TFS: 47,11 Monate.**

### 3.1.9 Therapiefreies Überleben nach Rituximab

Von den 46 (44,7 %) Patienten, die Rituximab als Therapeutikum erhielten, erhielten 17 (37 %) nach Ende der Behandlung mit Rituximab erneut eine Therapie. Die mediane Zeit bis dieses Ereignis eintrat betrug 57,5 Monate (95 %-KI: 33 – 82). Das 5-Jahres-TFS nach Rituximab betrug 49,3 % (95 %-KI: 29,9 – 68,7) und das 10-Jahres-TFS nach Rituximab betrug 29,2 % (95 %-KI: 2,3 – 56,1) (siehe Abbildung 14).



**Abbildung 14:** Deskriptive Analyse des TFS nach Rituximab der gesamten Patientengruppe: statistische Analyse des Gesamtüberlebens mittels einer Kaplan-Meier-Kurve; 5-Jahres-TFS: 49,3 %; 10-Jahres-TFS: 29,2 %; medianes TFS: 57,5 Monate.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1.10 Patientendaten

**Tabelle 13: Ausschnitt 1 aus der Datentabelle zur Analyse**

PatID	Alter bei ED [Jahre]	Alter bei BE [Jahre]	Ge-schlecht	Binet Initialsta-dium	Binet Zeit-punkt BE	Rai Initialsta-dium	Rai Zeitpunkt BE	CLL-Po-pulation [%]	Lympho-zyten / $\mu$ l Zeitpunkt BE	Hämo-globin [g/dl] Zeit-punkt BE	Throm-bozyten / $\mu$ l Zeit-punkt BE	Anämie [Hb < 10g/dl]	Throm-bozytopenie [ < 100.000/ $\mu$ l]	Leukope-nie [ < 4.000 $\mu$ l/l]
1	56	65	w	A	A	0	0	40	54100	11,9	294000	nein	nein	nein
2	50	54	m	A	A	0	0	76	73800	14,4	186000	nein	nein	nein
3	52	59	w	B	B	2	3	20	320330	100	158000	nein	nein	nein
4	36	36	m	B	B	1	1	47	12913	16,8	346000	nein	nein	nein
5	65	66	m	C	C	4	4	80	14002	11,4	66000	nein	ja	nein
6	75	87	m	A	A	1	1	39	28290	13,2	212000	nein	nein	nein
7	65	69	w	C	C	4	4	62	7795	14,1	18000	nein	ja	nein
8	79	81	w	A	C	2	3	65	18234	9,8	268000	ja	nein	nein
9	44	53	m	A	n/a	0	n/a	93	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
10	65	67	w	A	A	1	1	70	12760	12,7	354000	nein	nein	nein
11	60	62	w	A	C	1	4	30	127340	9,4	87000	ja	ja	nein
12	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
13	50	57	m	A	A	1	1	72	59900	13,6	213000	nein	nein	nein
14	39	44	w	A	A	0	0	72	62741	13	277000	nein	nein	nein
15	73	77	w	A	A	0	0	69	31870	12,9	243000	nein	nein	nein
16	56	62	m	A	A	0	0	57	25786	14,1	191000	nein	nein	nein
17	61	63	m	A	A	1	1	60	54610	14,9	145000	nein	nein	nein
18	60	60	w	C	C	4	4	98	215000	7,3	51000	ja	ja	nein
19	54	57	w	B	B	1	1	80	14227	13,9	224000	nein	nein	nein
20	64	65	m	A	A	0	1	45	53616	13,9	271000	nein	nein	nein
21	66	72	w	A	B	n/a	2	51	100704	11	111000	nein	nein	nein

### 3 Ergebnisse

PatID	Alter bei ED [Jahre]	Alter bei BE [Jahre]	Geschlecht	Binet Initialstadium	Binet Zeitpunkt BE	Rai Initialstadium	Rai Zeitpunkt BE	CLL-Population [%]	Lymphozyten / $\mu$ l Zeitpunkt BE	Hämoglobin [g/dl] Zeitpunkt BE	Thrombozyten / $\mu$ l Zeitpunkt BE	Anämie [Hb < 10g/dl]	Thrombozytopenie [ < 100.000/ $\mu$ l]	Leukopenie [ < 4.000 / $\mu$ l]
22	44	56	w	A	A	0	2	80	32737	10,6	178000	nein	nein	nein
23	37	37	m	B	C	2	4	15	5366	14,6	14000	nein	ja	nein
24	80	83	w	n/a	n/a	n/a	n/a	65,7	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
25	67	73	m	A	B	n/a	2	70	101392	15,1	127000	nein	nein	nein
26	67	84	m	A	B	n/a	2	70	42620	13,6	180000	nein	nein	nein
27	63	67	w	A	A	n/a	0	71	53534	14	280000	nein	nein	nein
28	62	67	w	A	A	0	1	70	94307	12,6	248000	nein	nein	nein
29	74	79	m	n/a	A	n/a	1	69	76489	12,4	158000	nein	nein	nein
30	56	60	w	A	B	0	2	40	87750	13	253000	nein	nein	nein
31	70	71	m	B	C	2	4	80	239800	11,2	103000	nein	nein	nein
32	63	67	m	A	B	2	2	68	25058	11,3	119000	nein	nein	nein
33	75	75	m	B	B	3	3	74	224670	10	246000	ja	nein	nein
34	62	67	m	A	B	1	2	80	94598	12	116000	nein	nein	nein
35	59	69	m	C	C	4	4	77	38355	12,5	92000	nein	ja	nein
36	54	64	m	A	A	1	2	57	24307	15,6	208000	nein	nein	nein
37	54	69	m	C	B	4	2	52	18513	13,3	138000	nein	nein	nein
38	43	44	m	A	A	1	1	62	20537	15	178000	nein	nein	nein
39	61	81	m	A	C	0	3	n/a	82830	9,4	107000	ja	nein	nein
40	63	70	m	A	C	n/a	4	45	8183	10,5	48000	nein	ja	nein
41	51	61	m	B	B	1	1	52	52070	14,9	161000	nein	nein	nein
42	72	74	m	A	A	0	0	45	40270	13,8	205000	nein	nein	nein
43	68	71	m	B	B	2	2	59	34087	12	138000	nein	nein	nein
44	38	40	m	A	B	0	1	50	35170	14,1	207000	nein	nein	nein
45	64	66	m	A	A	2	0	61	14700	12,5	137000	nein	nein	nein

### 3 Ergebnisse

PatID	Alter bei ED [Jahre]	Alter bei BE [Jahre]	Geschlecht	Binet Initialstadium	Binet Zeitpunkt BE	Rai Initialstadium	Rai Zeitpunkt BE	CLL-Population [%]	Lymphozyten / $\mu$ l Zeitpunkt BE	Hämoglobin [g/dl] Zeitpunkt BE	Thrombozyten / $\mu$ l Zeitpunkt BE	Anämie [Hb < 10g/dl]	Thrombozytopenie [ < 100.000/ $\mu$ l]	Leukopenie [ < 4.000 / $\mu$ l]
46	72	73	m	B	B	1	3	81	117854	10,4	209000	nein	nein	nein
47	55	60	m	A	A	2	2	43	29290	13,8	202000	nein	nein	nein
48	75	77	m	B	C	2	4	44	38490	13,6	99000	nein	ja	nein
49	64	67	m	A	A	2	1	70	64050	13,3	155000	nein	nein	nein
50	36	43	m	B	B	2	2	75	129954	12,5	207000	nein	nein	nein
51	66	67	m	A	A	1	2	60	28089	15,6	314000	nein	nein	nein
52	49	53	w	A	B	1	3	65	211860	10,6	222000	nein	nein	nein
53	56	69	m	n/a	C	n/a	4	65	33399	11,6	60000	nein	ja	nein
54	43	43	w	A	A	0	0	47	7741	13,5	313000	nein	nein	nein
55	68	70	m	A	C	n/a	4	52	220261	14,1	109000	nein	nein	nein
56	67	73	m	A	A	0	1	90	81680	13,8	120000	nein	nein	nein
57	73	83	m	A	A	n/a	2	50	13516	12,5	183000	nein	nein	nein
58	47	49	m	A	A	1	1	60	34984	15,1	207000	nein	nein	nein
59	67	70	m	A	A	0	0	51	14668	15,3	199000	nein	nein	nein
60	79	79	m	A	B	2	3	92	30754	10,2	201000	nein	nein	nein
61	69	69	m	A	A	0	0	76	20080	13,1	188000	nein	nein	nein
62	62	71	m	A	A	0	2	90	158780	12,1	191000	nein	nein	nein
63	56	64	m	A	A	2	2	n/a	32788	15,6	126000	nein	nein	nein
64	66	66	m	B	A	2	2	80	76838	12,6	300000	nein	nein	nein
65	71	73	m	B	C	2	3	92	45842	9,9	247000	ja	nein	nein
66	51	52	w	A	A	0	1	81	39292	13,2	279000	nein	nein	nein
67	61	74	w	B	B	1	1	90	30593	13,4	186000	nein	nein	nein
68	50	69	w	A	C	n/a	3	39	110900	7,3	215000	ja	nein	nein
69	69	75	w	A	B	n/a	2	22	20649	12	143000	nein	nein	nein

### 3 Ergebnisse

PatID	Alter bei ED [Jahre]	Alter bei BE [Jahre]	Geschlecht	Binet Initialstadium	Binet Zeitpunkt BE	Rai Initialstadium	Rai Zeitpunkt BE	CLL-Population [%]	Lymphozyten / $\mu$ l Zeitpunkt BE	Hämoglobin [g/dl] Zeitpunkt BE	Thrombozyten / $\mu$ l Zeitpunkt BE	Anämie [Hb < 10g/dl]	Thrombozytopenie [ < 100.000/ $\mu$ l]	Leukopenie [ < 4.000 / $\mu$ l]
70	74	86	w	A	C	1	4	90	72389	10,3	71000	ja	ja	nein
71	69	82	w	A	A	n/a	1	29	121150	11,9	166000	nein	nein	nein
72	55	61	m	A	B	0	2	50	84970	15	253000	nein	nein	nein
73	51	51	w	A	A	1	1	35	20600	13,3	418000	nein	nein	nein
74	41	50	w	A	B	n/a	2	96	176120	11,1	138000	nein	nein	nein
75	65	67	w	A	A	0	2	70	38448	11,5	110000	nein	nein	nein
76	48	48	m	B	B	1	1	91	103290	13,5	167000	nein	nein	nein
77	42	43	w	B	B	1	1	70	31486	12,3	331000	nein	nein	nein
78	52	57	w	A	A	0	0	57	34415	15,5	242000	nein	nein	nein
79	56	64	w	A	A	0	0	83	22045	12,6	229000	nein	nein	nein
80	66	75	m	n/a	B	n/a	2	82	20638	13,2	137000	nein	nein	nein
81	63	89	m	A	B	n/a	2	74	148270	13,1	132000	nein	nein	nein
82	65	66	m	A	A	2	2	80	146761	12,4	116000	nein	nein	nein
83	51	55	m	A	A	0	1	51	28540	13,8	175000	nein	nein	nein
84	72	77	w	A	A	0	1	75	88699	13	195000	nein	nein	nein
85	52	62	m	B	C	2	4	61	59147	12,3	69000	nein	ja	nein
86	40	49	m	A	A	n/a	2	90	65035	15,2	225000	nein	nein	nein
87	67	69	w	A	A	0	0	33	43984	14,2	271000	nein	nein	nein
88	67	71	w	A	B	0	1	33	94819	12,5	221000	nein	nein	nein
89	69	73	m	A	A	2	2	90	115689	13	138000	nein	nein	nein
90	45	47	w	B	B	1	2	23	68410	11,8	157000	nein	nein	nein
91	71	75	w	B	C	2	3	80	47750	9,6	132000	ja	nein	nein
92	71	76	w	B	C	2	4	80	59150	9,5	93000	ja	ja	nein
93	56	59	m	A	B	n/a	2	86	136130	15,9	187000	nein	nein	nein

### 3 Ergebnisse

PatID	Alter bei ED [Jahre]	Alter bei BE [Jahre]	Geschlecht	Binet Initialstadium	Binet Zeitpunkt BE	Rai Initialstadium	Rai Zeitpunkt BE	CLL-Population [%]	Lymphozyten / $\mu$ l Zeitpunkt BE	Hämoglobin [g/dl] Zeitpunkt BE	Thrombozyten / $\mu$ l Zeitpunkt BE	Anämie [Hb < 10g/dl]	Thrombozytopenie [ < 100.000/ $\mu$ l]	Leukopenie [ < 4.000 $\mu$ /l]
94	64	79	m	C	C	3	4	80	13609	12,5	87000	nein	ja	nein
95	71	75	m	A	B	0	3	n/a	129840	10,5	184000	nein	nein	nein
96	54	68	m	A	C	n/a	3	85	180640	9,4	227000	ja	nein	nein
97	72	72	m	A	B	2	2	70	25290	15,4	125000	nein	nein	nein
98	52	56	m	B	B	1	1	77	39970	14,6	153000	nein	nein	nein
99	66	74	w	A	B	0	2	85	54084	12,7	105000	nein	nein	nein
100	60	70	w	A	C	n/a	4	76	142493	10,3	97000	nein	ja	nein
101	50	50	w	A	B	2	2	59	26158	12,9	120000	nein	nein	nein
102	46	46	m	C	C	4	4	94	217530	11,9	78000	nein	ja	nein
103	67	76	m	B	C	1	4	85	272583	7,9	21000	ja	ja	nein
104	64	67	m	A	A	n/a	0	85	68697	13,5	266000	nein	nein	nein

ED = Erstdiagnose; BE = Blutentnahme; m = männlich; w = weiblich

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 14: Ausschnitt 2 aus der Datentabelle zur Analyse**

PatID	β-2-Mikro- globuline [mg/l]	ZAP70	CD38-Ex- pression	TP53- Mutati- onsstatus	IGVH- Mutati- onsstatus	Deletion 17p13	Zytogene- tik	CLL IPI Score	jemals Therapie erhalten	Thera- pieindika- tion Zeit- punkt BE	Zeitraum ED- erste Therapie [Tage]	Anzahl der The- rapien	Zeitraum BE - nächste Therapie [Tage]	Therapie bei Thera- pieindika- tion
1	3,6	n/a	neg	n/a	n/a	nein	günstig	n/a	nein	Ja	n/a	0	n/a	n/a
2	n/a	n/a	0.06	neg	hyperm- tiert	nein	n/a	n/a	nein	Nein	n/a	0	n/a	n/a
3	5	n/a	n/a	neg.	unmutiert	nein	n/a	5	ja	Ja	2340	1	42631	ja
4	2,3	n/a	pos	n/a	n/a	nein	Risiko	n/a	ja	nein	1604	5	40233	ja
5	n/a	n/a	0.02	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	ja	850	1	39693	ja
6	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
7	n/a	neg	0.06	neg	unmutiert	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
8	n/a	n/a	pos	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	stehend	572	2	n/a	ja
9	n/a	n/a	0.02	neg	hyperm- tiert	nein	günstig	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
10	1,7	n/a	0.01	neg	n/a	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
11	4,2	n/a	n/a	neg	hyperm- tiert	nein	n/a	3	ja	ja	769	1	43566	ja
12	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
13	n/a	n/a	0.01	neg	hyperm- tiert	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
14	2,2	n/a	neg.	n/a	n/a	nein	n/a	n/a	ja	nein	4899	1	42112	ja
15	n/a	n/a	0.08	neg	n/a	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
16	n/a	n/a	pos	n/a	hyperm- tiert	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a

### 3 Ergebnisse

PatID	β-2-Mikro- globuline [mg/l]	ZAP70	CD38-Ex- pression	TP53- Mutati- onsstatus	IGVH- Mutati- onsstatus	Deletion 17p13	Zytogene- tik	CLL IPI Score	jemals Therapie erhalten	Thera- pieindika- tion Zeit- punkt BE	Zeitraum ED- erste Therapie [Tage]	Anzahl der The- rapien	Zeitraum BE - nächste Therapie [Tage]	Therapie bei Thera- pieindika- tion
17	n/a	n/a	0.02	n/a	hypermultiert	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
18	n/a	n/a	0.03	pos	unmutiert	ja	Risiko	n/a	ja	ja	21	4	41350	ja
19	2	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
20	n/a	n/a	0.5	pos.	n/a	nein	n/a	n/a	ja	nein	871	1	39504	ja
21	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	stehend	1559	8	n/a	ja
22	4,4	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	nein	2618	4	40477	ja
23	n/a	n/a	0.8	n/a	n/a	nein	normal	n/a	ja	nein	680	2	40653	ja
24	n/a	n/a	0.05	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	N/A	n/a	0	n/a	n/a
25	3,6	n/a	neg.	neg	hypermultiert	n/a	n/a	4	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
26	3,6	n/a	neg.	neg	hypermultiert	n/a	n/a	4	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
27	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
28	n/a	n/a	neg.	neg	hypermultiert	nein	Risiko	n/a	ja	nein	5370	2	42560	ja
29	2,7	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	nein	2232	1	40126	ja
30	n/a	n/a	0.26	neg.	unmutiert	nein	normal	n/a	ja	nein	1650	3	42300	nein
31	4,5	n/a	0.96	neg	unmutiert	nein	n/a	6	ja	ja	391	1	43075	ja
32	n/a	n/a	neg	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	ja	1400	1	38710	ja
33	4,9	n/a	0.06	neg.	n/a	nein	günstig	n/a	ja	ja	55	1	42012	ja
34	4	n/a	pos	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	nein	2044	1	39354	ja
35	7,5	n/a	n/a	neg.	n/a	nein	n/a	n/a	ja	nein	31	1	n/a	ja

### 3 Ergebnisse

PatID	β-2-Mikro- globuline [mg/l]	ZAP70	CD38-Ex- pression	TP53- Mutati- onsstatus	IGVH- Mutati- onsstatus	Deletion 17p13	Zytogene- tik	CLL IPI Score	jemals Therapie erhalten	Thera- pieindika- tion Zeit- punkt BE	Zeitraum ED- erste Therapie [Tage]	Anzahl der The- rapien	Zeitraum BE - nächste Therapie [Tage]	Therapie bei Thera- pieindika- tion
36	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
37	5,3	n/a	neg.	n/a	n/a	nein	n/a	n/a	ja	nein	3864	5	40071	ja
38	3,5	n/a	neg	pos.	n/a	nein	Risiko	n/a	ja	nein	1967	3	40574	ja
39	n/a	n/a	n/a	neg	hyperm- tiert	nein	n/a	n/a	nein	ja	n/a	0	n/a	n/a
40	4,5	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	stehend	2142	2	n/a	ja
41	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
42	n/a	n/a	0.12	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
43	3,8	n/a	neg	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
44	n/a	n/a	0.14	n/a	hyperm- tiert	nein	günstig	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
45	n/a	n/a	0.07	neg.	hyperm- tiert	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
46	n/a	n/a	neg	n/a	n/a	nein	Risiko	n/a	ja	ja	535	4	40062	ja
47	3,9	n/a	0.68	neg.	hyperm- tiert	nein	normal	3	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
48	16,8	neg	0.25	neg.	n/a	nein	normal	n/a	ja	nein	1274	2	43237	ja
49	2,3	neg	neg.	neg.	hyperm- tiert	nein	n/a	2	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
50	6,7	n/a	schwach pos	n/a	n/a	nein	günstig	n/a	ja	ja	27	3	39041	ja
51	3,2	n/a	neg.	neg.	unmutiert	nein	Risiko	4	ja	nein	3513	1	42223	ja

### 3 Ergebnisse

PatID	β-2-Mikro- globuline [mg/l]	ZAP70	CD38-Ex- pression	TP53- Mutati- onsstatus	IGVH- Mutati- onsstatus	Deletion 17p13	Zytogene- tik	CLL IPI Score	jemals Therapie erhalten	Thera- pieindika- tion Zeit- punkt BE	Zeitraum ED- erste Therapie [Tage]	Anzahl der The- rapien	Zeitraum BE - nächste Therapie [Tage]	Therapie bei Thera- pieindika- tion
52	n/a	n/a	0.81	neg.	hyperm- tiert	nein	Risiko	n/a	ja	nein	1796	1	42256	nein
53	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	n/a	n/a	ja	nein	731	5	39338	ja
54	1,8	n/a	0.4	n/a	n/a	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
55	6,2	n/a	neg.	n/a	n/a	nein	günstig	n/a	ja	stehend	685	2	n/a	ja
56	3	n/a	0.47	neg.	n/a	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
57	9,7	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
58	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
59	1,8	n/a	neg.	neg.	hyperm- tiert	nein	n/a	1	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
60	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	ja	276	3	39858	ja
61	n/a	n/a	0.02	neg.	n/a	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
62	3,4	n/a	0.23	neg.	unmutiert	nein	n/a	4	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
63	2,1	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
64	6,3	n/a	pos.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	nein	1396	3	40802	ja
65	7,8	n/a	pos.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	ja	724	4	39035	ja
66	1,7	n/a	neg.	neg.	n/a	nein	n/a	n/a	ja	nein	3803	1	42500	ja
67	n/a	n/a	teilweise pos.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	nein	3926	1	n/a	ja
68	n/a	n/a	0.95	neg.	hyperm- tiert	n/a	n/a	n/a	ja	ja	7032	1	41783	ja
69	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	stehend	1407	9	n/a	ja
70	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	ja	2376	4	39132	nein

### 3 Ergebnisse

PatID	β-2-Mikro- globuline [mg/l]	ZAP70	CD38-Ex- pression	TP53- Mutati- onsstatus	IGVH- Mutati- onsstatus	Deletion 17p13	Zytogene- tik	CLL IPI Score	jemals Therapie erhalten	Thera- pieindika- tion Zeit- punkt BE	Zeitraum ED- erste Therapie [Tage]	Anzahl der The- rapien	Zeitraum	Therapie bei Thera- pieindika- tion
													BE - nächste Therapie [Tage]	
71	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
72	n/a	neg	0.02	n/a	unmutiert	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
73	n/a	n/a	0.14	neg.	unmutiert	nein	n/a	2	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
74	3,5	n/a	n/a	neg.	hyperm- tiert	nein	n/a	1	ja	ja	3370	1	43438	ja
75	2,7	n/a	0.66	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	nein	1383	2	39577	ja
76	4,4	neg	0.19	neg	unmutiert	nein	normal	5	ja	nein	615	1	43363	ja
77	n/a	n/a	0.6	n/a	n/a	nein	Risiko	n/a	ja	nein	426	4	38783	ja
78	3,7	n/a	0.04	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
79	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/A
80	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	ja	2994	1	39445	ja
81	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
82	2,4	n/a	0.75	neg.	n/a	nein	normal	n/a	ja	stehend	73	2	n/a	ja
83	n/a	n/a	n/a	n/a	unmutiert	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
84	3,9	n/a	0.75	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	nein	1116	8	39249	ja
85	n/a	n/a	pos	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	ja	1157	7	39120	ja
86	1,7	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
87	n/a	n/a	0.18	n/a	n/a	ja	2	n/a	ja	nein	1647	3	39710	ja
88	n/a	n/a	0.18	n/a	n/a	ja	2	n/a	ja	nein	1647	3	39708	ja
89	n/a	n/a	neg	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	stehend	1376	7	n/a	ja
90	3,9	neg	0.02	n/a	n/a	nein	normal	n/a	ja	ja	373	1	40901	ja
91	2,7	n/a	0.07	n/a	n/a	nein	günstig	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	nein

### 3 Ergebnisse

PatID	β-2-Mikro- globuline [mg/l]	ZAP70	CD38-Ex- pression	TP53- Mutati- onsstatus	IGVH- Mutati- onsstatus	Deletion 17p13	Zytogene- tik	CLL IPI Score	jemals Therapie erhalten	Thera- pieindika- tion Zeit- punkt BE	Zeitraum ED- erste Therapie [Tage]	Anzahl der The- rapien	Zeitraum BE - nächste Therapie [Tage]	Therapie bei Thera- pieindika- tion
92	2,7	n/a	0.07	n/a	n/a	nein	günstig	n/a	nein	ja	n/a	0	n/a	nein
93	2,9	n/a	0.3	neg	unmutiert	nein	2	3	ja	ja	1014	1	42960	ja
94	5,8	pos	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	nein	3065	4	41012	ja
95	6,9	neg	0.1	neg.	unmutiert	ja	2	10	ja	ja	1512	1	42019	ja
96	n/a	n/a	0.5	neg.	hyperm- tiert	nein	normal	n/a	ja	ja	5052	1	42545	ja
97	n/a	neg	0.07	n/a	unmutiert	n/a	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
98	n/a	n/a	0.02	n/a	n/a	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a
99	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	ja	2253	2	39025	ja
100	6,9	n/a	neg	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	nein	4499	1	41020	nein
101	n/a	n/a	0.78	neg.	n/a	nein	günstig	n/a	ja	nein	586	2	39650	ja
102	5,7	neg	0.08	neg.	unmutiert	nein	günstig	5	ja	ja	18	1	42233	ja
103	n/a	n/a	neg.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	ja	ja	3488	3	38969	ja
104	n/a	n/a	0.01	neg.	hyperm- tiert	nein	n/a	n/a	nein	nein	n/a	0	n/a	n/a

n/a = not available

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 15: Ausschnitt 3 aus der Datentabelle zur Analyse**

PatID	lost to follow-up	Verstorben	OS [Mo-nate]	TFS [Mo-nate]	Rituximab erhalten	Nach Rituximab erneute Therapie	TFS nach Rituximab [Mo-nate]	Nach BE Therapie erhalten	OS nach BE [Mo-nate]	TFS nach BE [Mo-nate]	4-1BB-Expression [SFI]	4-1BBL-Expression [SFI]	GITR-Expression [SFI]	GITRL-Expression [SFI]
1	ja	lebend	103,38	103,38	nein	n/a	n/a	nein	0	0	0,87	4,75	1,74	1,48
2	ja	lebend	69,48	69,48	nein	n/a	n/a	nein	21,52	21,52	1,22	1,06	1,01	1,09
3	ja	lebend	105,09	70,06	ja	nein	28,23	ja	28,49	0,26	2,57	10,48	1,95	2,14
4	nein	tot	74,18	48,02	ja	ja	4,01	ja	72,77	51,29	1,2	9,4	3,7	2,8
5	ja	lebend	53,09	25,45	nein	n/a	n/a	ja	46,69	21,52	1,3	4,6	2,1	1,5
6	ja	lebend	147,17	147,17	nein	n/a	n/a	nein	0	0	1,14	3,4	1,3	1,45
7	nein	lebend	52,86	52,86	nein	n/a	n/a	nein	2,6	2,6	1,24	1,5	1,87	1,5
8	nein	tot	127,43	17,13	ja	nein	84,13	nein	107,99	107,99	0,9	12,4	1,1	2,1
9	ja	lebend	130,81	130,81	nein	n/a	n/a	nein	22,01	22,01	0,86	1,28	1,21	1,21
10	ja	lebend	35,15	35,15	nein	n/a	n/a	nein	13,08	13,08	n/a	n/a	n/a	n/a
11	ja	lebend	25,43	23,02	ja	nein	0,16	ja	0,85	0,69	2,41	1,6	1,6	1,6
12	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	1,61	7,36	0,7	3,14
13	ja	lebend	101,74	101,74	nein	n/a	n/a	nein	23,95	23,95	1,35	6,07	0,78	1,78
14	ja	lebend	204,53	146,68	ja	nein	43,61	ja	143,54	99,94	1,4	4,7	2,5	5
15	ja	lebend	41,79	41,79	nein	n/a	n/a	nein	0	0	1,75	4,58	1,58	1,83
16	nein	lebend	213,96	213,96	nein	n/a	n/a	nein	144,96	144,96	0,8	3,1	1,4	2,1
17	ja	lebend	36,43	36,43	nein	n/a	n/a	nein	12,19	12,19	n/a	n/a	n/a	n/a
18	nein	tot	13,53	0,63	ja	ja	1,87	ja	12,88	0,03	n/a	n/a	n/a	n/a
19	ja	lebend	181,8	181,8	nein	n/a	n/a	nein	145,32	145,32	1,1	4,5	1,7	3

### 3 Ergebnisse

PatID	lost to follow-up	Verstorben	OS [Mo-nate]	TFS [Mo-nate]	Rituximab erhalten	Nach Rituximab erneute Therapie	TFS nach Rituximab [Mo-nate]	Nach BE Therapie erhalten	OS nach BE [Mo-nate]	TFS nach BE [Mo-nate]	4-1BB-Expression [SFI]	4-1BBL-Expression [SFI]	GITR-Expression [SFI]	GITRL-Expression [SFI]
20	nein	tot	86,6	26,08	nein	n/a	n/a	ja	69,09	11,1	1	3,4	1,6	2,5
21	ja	lebend	139,82	46,68	ja	ja	13,54	nein	61,41	61,41	1	6,4	1,7	1
22	ja	lebend	294,28	78,38	ja	nein	98,69	ja	143,77	45,11	1,5	7	3,5	3,4
23	nein	lebend	108,51	20,36	ja	nein	83,31	ja	103,46	17,28	7,4	32,6	10,4	18,5
24	nein	tot	86,89	86,89	nein	n/a	n/a	nein	50,2	50,2	0,95	2,53	1,21	1,16
25	ja	lebend	215,51	215,51	nein	n/a	n/a	nein	134,8	134,8	1,2	5,8	2	2,1
26	ja	lebend	215,51	215,51	nein	n/a	n/a	nein	12,19	12,19	0,68	1,95	0,71	1
27	ja	lebend	190,8	190,8	nein	n/a	n/a	nein	150,64	150,64	1,2	6,4	2	2,9
28	nein	lebend	210,94	160,78	ja	nein	34,54	ja	150,18	115,65	1	7,2	6,4	3,1
29	nein	tot	73,92	66,83	ja	nein	0,49	ja	9,95	9,36	1,1	11,9	1,9	26,7
30	nein	tot	60,64	49,4	ja	ja	4,93	ja	9,13	2,69	1,64	20,31	1,48	3,18
31	ja	lebend	22,17	11,71	ja	nein	9,33	ja	9,76	0,43	n/a	n/a	n/a	n/a
32	ja	lebend	202,1	41,92	nein	n/a	n/a	ja	156,88	0,76	1,1	4,6	1,4	1,2
33	ja	lebend	2,83	1,65	ja	nein	0,1	ja	1,02	0	n/a	n/a	n/a	n/a
34	nein	tot	182,16	61,2	ja	nein	115,05	ja	127,41	12,39	1,2	3,6	1,7	1,6
35	nein	lebend	264,98	0,93	nein	n/a	n/a	nein	150,24	150,24	0,4	2,6	0,7	0,9
36	nein	lebend	266,98	266,98	nein	n/a	n/a	nein	149,92	149,92	1,5	5,2	2,5	1,8
37	ja	lebend	281,11	115,69	ja	ja	43,71	ja	107,83	29,41	0,9	2,5	1,3	1,3
38	ja	lebend	164,36	58,89	ja	ja	64,11	ja	151,46	51,71	1,6	7	1,6	2,6
39	nein	tot	239,32	239,32	nein	n/a	n/a	nein	0,66	0,66	n/a	n/a	n/a	n/a
40	ja	lebend	106,93	64,13	nein	n/a	n/a	nein	18,86	18,86	1,3	14	2,4	3,9

### 3 Ergebnisse

PatID	lost to follow-up	Verstorben	OS [Mo-nate]	TFS [Mo-nate]	Rituximab erhalten	Nach Rituximab erneute Therapie	TFS nach Rituximab [Mo-nate]	Nach BE Therapie erhalten	OS nach BE [Mo-nate]	TFS nach BE [Mo-nate]	4-1BB-Expression [SFI]	4-1BBL-Expression [SFI]	GITR-Expression [SFI]	GITRL-Expression [SFI]
41	ja	lebend	140,47	140,47	nein	n/a	n/a	nein	24,15	24,15	n/a	n/a	n/a	n/a
42	ja	lebend	25,56	25,56	nein	n/a	n/a	nein	0	0	n/a	n/a	n/a	n/a
43	ja	lebend	64,19	64,19	nein	n/a	n/a	nein	22,64	22,64	1,2	5,7	1,5	1,8
44	ja	lebend	46,25	46,25	nein	n/a	n/a	nein	26,12	26,12	n/a	n/a	n/a	n/a
45	ja	lebend	24,08	24,08	nein	n/a	n/a	nein	0	0	n/a	n/a	n/a	n/a
46	ja	lebend	131,01	16,02	ja	ja	45,32	ja	114,83	1,38	1,1	4,2	2,1	5,9
47	ja	lebend	93,23	93,23	nein	n/a	n/a	nein	43,83	43,83	n/a	n/a	n/a	n/a
48	nein	lebend	53,81	38,14	nein	n/a	n/a	ja	28,75	16,79	n/a	n/a	n/a	n/a
49	ja	lebend	57,72	57,72	nein	n/a	n/a	nein	25,76	25,76	5,43	4,47	0,73	3,72
50	ja	lebend	231,83	0,81	ja	ja	108,91	ja	144,92	0	1,1	1,5	1,3	1
51	nein	lebend	161,01	105,18	ja	ja	40,58	ja	148,4	102,8	1	9,6	3	2,47
52	ja	lebend	102,5	53,77	ja	nein	43,25	ja	47,57	4,07	n/a	n/a	n/a	n/a
53	nein	tot	212,32	21,89	ja	nein	11,73	ja	56,9	6,24	1	19,6	1,7	2,7
54	ja	lebend	129,24	129,24	nein	n/a	n/a	nein	128,53	128,53	1,4	9,9	2,2	8,3
55	nein	tot	53,68	20,51	ja	nein	0,03	ja	31,15	31,15	1,23	5,7	1,3	1,2
56	nein	tot	76,48	76,48	nein	n/a	n/a	nein	12,06	12,06	n/a	n/a	n/a	n/a
57	ja	lebend	160,64	160,64	nein	n/a	n/a	nein	31,74	31,74	1	10,6	2,4	3
58	ja	lebend	150,89	150,89	nein	n/a	n/a	nein	125,8	125,8	1	18,6	1,5	4,1
59	ja	lebend	141,75	141,75	nein	n/a	n/a	nein	108,55	108,55	1	21,6	5,9	7,9
60	nein	tot	48,59	8,26	ja	ja	14,72	ja	40,08	0,56	2	27,4	1,5	12,8
61	nein	lebend	36,86	36,86	nein	n/a	n/a	nein	36,86	36,86	n/a	n/a	n/a	n/a

### 3 Ergebnisse

PatID	lost to follow-up	Verstorben	OS [Mo-nate]	TFS [Mo-nate]	Rituximab erhalten	Nach Rituximab erneute Therapie	TFS nach Rituximab [Mo-nate]	Nach BE Therapie erhalten	OS nach BE [Mo-nate]	TFS nach BE [Mo-nate]	4-1BB-Expression [SFI]	4-1BBL-Expression [SFI]	GITR-Expression [SFI]	GITRL-Expression [SFI]
62	nein	lebend	105,98	105,98	nein	n/a	n/a	nein	4,01	4,01	n/a	n/a	n/a	n/a
63	nein	lebend	259,95	259,95	nein	n/a	n/a	nein	163,81	163,81	2	7,4	2,8	2,2
64	nein	tot	77,23	41,8	ja	ja	7,62	ja	71,03	39,66	1,7	11,6	1,6	6,4
65	nein	tot	56,47	21,68	ja	nein	27,54	ja	32,72	0,03	1,4	3,9	1,5	3,8
66	ja	lebend	157,03	113,86	ja	nein	32,11	ja	145,81	113,71	1,8	6,2	1,6	1,1
67	ja	lebend	172,9	117,54	nein	n/a	n/a	nein	16,33	16,33	1,1	6,3	1,8	1,7
68	ja	lebend	286,79	210,54	ja	nein	55,8	ja	56,12	0,33	n/a	n/a	n/a	n/a
69	nein	tot	154,04	42,13	ja	ja	24,61	nein	86,31	86,31	0,9	7,2	1,9	1,7
70	nein	tot	214,03	71,14	nein	n/a	n/a	ja	61,37	5,82	0,9	6,7	1	1,2
71	nein	lebend	185,18	185,18	nein	n/a	n/a	nein	22,83	22,83	n/a	n/a	n/a	n/a
72	ja	lebend	60,38	60,38	nein	n/a	n/a	nein	0	0	n/a	n/a	n/a	n/a
73	ja	lebend	8,54	8,54	nein	n/a	n/a	nein	0	0	n/a	n/a	n/a	n/a
74	nein	lebend	116,95	100,9	nein	n/a	n/a	ja	6,28	0,03	n/a	n/a	n/a	n/a
75	nein	lebend	177,96	41,41	ja	ja	57,51	ja	146,34	13,8	1,1	4	1,7	1,3
76	nein	lebend	28,98	18,41	ja	nein	8,77	ja	28,98	20,21	n/a	n/a	n/a	n/a
77	nein	tot	63,5	12,75	ja	ja	38,42	ja	53,49	3,98	2,8	7,4	1,7	3,3
78	ja	lebend	206,41	206,41	nein	n/a	n/a	nein	146,27	146,27	1,2	5	2,2	2,9
79	ja	lebend	216,56	216,56	nein	n/a	n/a	nein	110,62	110,62	1	15,6	1,8	8,9
80	ja	lebend	230,75	89,64	ja	nein	132,44	ja	133,36	0,95	1	39	1	3,6
81	ja	lebend	330,85	330,85	nein	n/a	n/a	nein	25,73	25,73	n/a	n/a	n/a	n/a
82	ja	lebend	76,91	2,19	ja	ja	45,74	nein	74,15	74,15	1	2,66	0,9	1,11

### 3 Ergebnisse

PatID	lost to follow-up	Verstorben	OS [Mo-nate]	TFS [Mo-nate]	Rituximab erhalten	Nach Rituximab erneute Therapie	TFS nach Rituximab [Mo-nate]	Nach BE Therapie erhalten	OS nach BE [Mo-nate]	TFS nach BE [Mo-nate]	4-1BB-Expression [SFI]	4-1BBL-Expression [SFI]	GITR-Expression [SFI]	GITRL-Expression [SFI]
83	ja	lebend	43,69	43,69	nein	n/a	n/a	nein	0	0	n/a	n/a	n/a	n/a
84	nein	tot	162,61	33,41	ja	nein	60,07	ja	109,21	6,57	1,1	4,8	1,7	2,4
85	nein	tot	152,1	34,64	ja	ja	17,52	ja	41,69	4,83	2,2	7	1,4	1,6
86	ja	lebend	258,25	258,25	nein	n/a	n/a	nein	145,81	145,81	1,2	4,6	1,3	1,7
87	nein	tot	64,98	49,31	ja	nein	1,68	ja	33,02	22,14	1,9	3,5	1,5	1,8
88	nein	tot	64,98	49,31	ja	nein	1,68	ja	15,34	4,47	1,5	4,1	1,3	1,5
89	nein	tot	97,63	41,2	ja	ja	13,08	nein	47,71	47,71	1,6	10,7	4,5	18,4
90	nein	lebend	101,94	11,17	ja	nein	89,71	ja	89,73	0,03	n/a	n/a	n/a	n/a
91	nein	lebend	74,01	206,41	nein	n/a	n/a	nein	25,99	25,99	n/a	n/a	n/a	n/a
92	nein	lebend	74,01	216,56	nein	n/a	n/a	nein	22,83	22,83	1,63	5,66	1,57	3,51
93	ja	lebend	40,14	30,36	ja	nein	6,84	ja	6,87	0,03	0,91	0,91	0,68	1,14
94	nein	tot	292,94	91,77	nein	n/a	n/a	ja	108,39	47,11	1,5	17,9	1,7	3,8
95	nein	tot	59,1	45,27	ja	nein	9,43	ja	9,46	0,03	1,29	5,61	1,69	1,57
96	ja	lebend	200,3	151,26	ja	nein	34,34	ja	35,91	1,58	n/a	n/a	n/a	n/a
97	nein	tot	58,64	58,64	nein	n/a	n/a	nein	55,43	55,43	n/a	n/a	n/a	n/a
98	ja	lebend	89,22	89,22	nein	n/a	n/a	nein	41,96	41,96	n/a	n/a	n/a	n/a
99	nein	tot	107,19	67,46	nein	n/a	n/a	ja	5,68	0,03	1,4	2,8	1,3	1,9
100	ja	lebend	231,64	134,7	ja	nein	83,86	ja	108,03	24,18	1,08	5,2	0,71	3,54
101	nein	tot	130,52	17,54	ja	nein	18,14	ja	126	14,72	1,2	4,4	2,5	2,4
102	ja	lebend	43,33	0,54	ja	nein	42,75	ja	43,34	0,59	n/a	n/a	n/a	n/a
103	nein	tot	118,79	104,43	nein	n/a	n/a	ja	2	0	0,8	3,3	0,7	1,3

### 3 Ergebnisse

PatID	lost to follow-up	Verstorben	OS [Mo-nate]	TFS [Mo-nate]	Rituximab erhalten	Nach Rituximab erneute Therapie	TFS nach Rituximab [Mo-nate]	Nach BE Therapie erhalten	OS nach BE [Mo-nate]	TFS nach BE [Mo-nate]	4-1BB-Expression [SFI]	4-1BBL-Expression [SFI]	GITR-Expression [SFI]	GITRL-Expression [SFI]
104	ja	lebend	159,17	159,17	nein	n/a	n/a	nein	120,18	120,18	1	15,3	1,2	3,6

### 3.2 Überlebenszeitanalysen

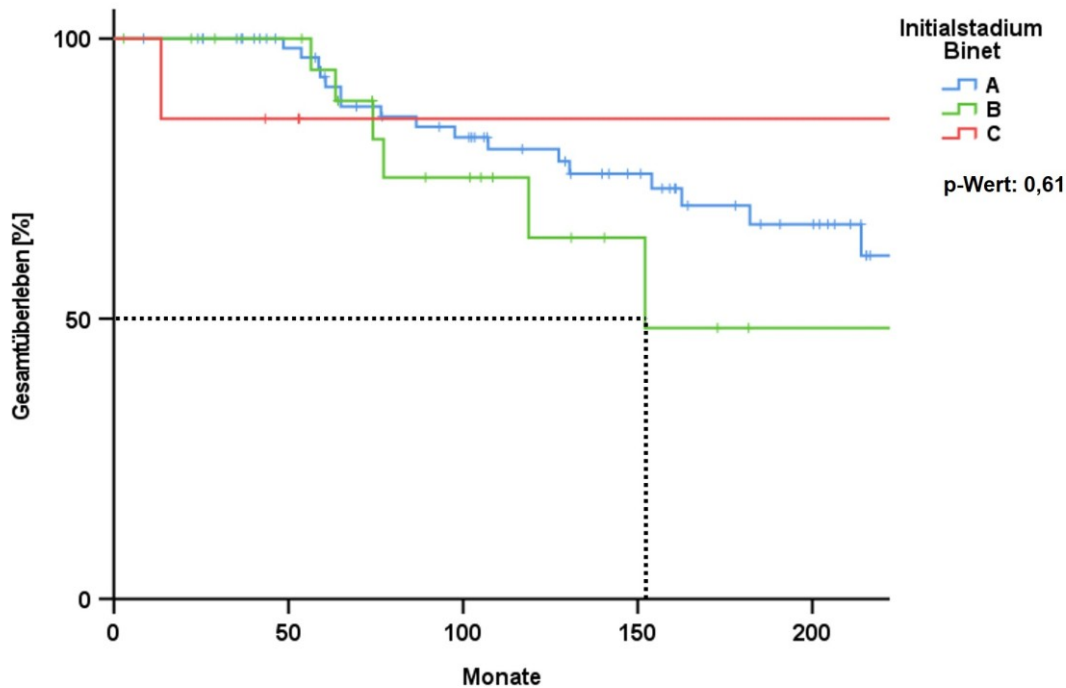
#### 3.2.1 Stadieneinteilung

##### 3.2.1.1 Binet

Von allen Patienten, die sich zum Zeitpunkt der Erstdiagnose in Stadium A befanden, lebten nach fünf Jahren noch 93,2 % (95 %-KI: 86,7 – 99,7) und nach 10 Jahren noch 80,3 % (95 %-KI: 69,7 – 90,9). 94,4 % (95 %-KI: 83,8 – 100) der Patienten, die sich bei der Erstdiagnose in Stadium B befanden, überlebten die ersten 5 Jahre nach der Diagnose und 64,5 % (95 %-KI: 37,8 – 91,2) überlebten 10 Jahre (siehe Abbildung 15).

Das 5- und das 10-JÜR der Patienten, die sich bei der Erstdiagnose in Stadium C befanden, betrug 85,7 % (95 %-KI: 61,6 – 100). Das mediane Überleben wurde bei den Patienten in Stadium A nicht erreicht, bei den Patienten in Stadium B betrug es 152,1 Monate (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) und bei den Patienten in Stadium C war es mit 292,9 Monaten am längsten (95 %-KI: Berechnung nicht möglich). Der Unterschied zwischen den verschiedenen Initialstadien war nicht signifikant ( $p=0,61$ ) (siehe Abbildung 15).

### 3 Ergebnisse

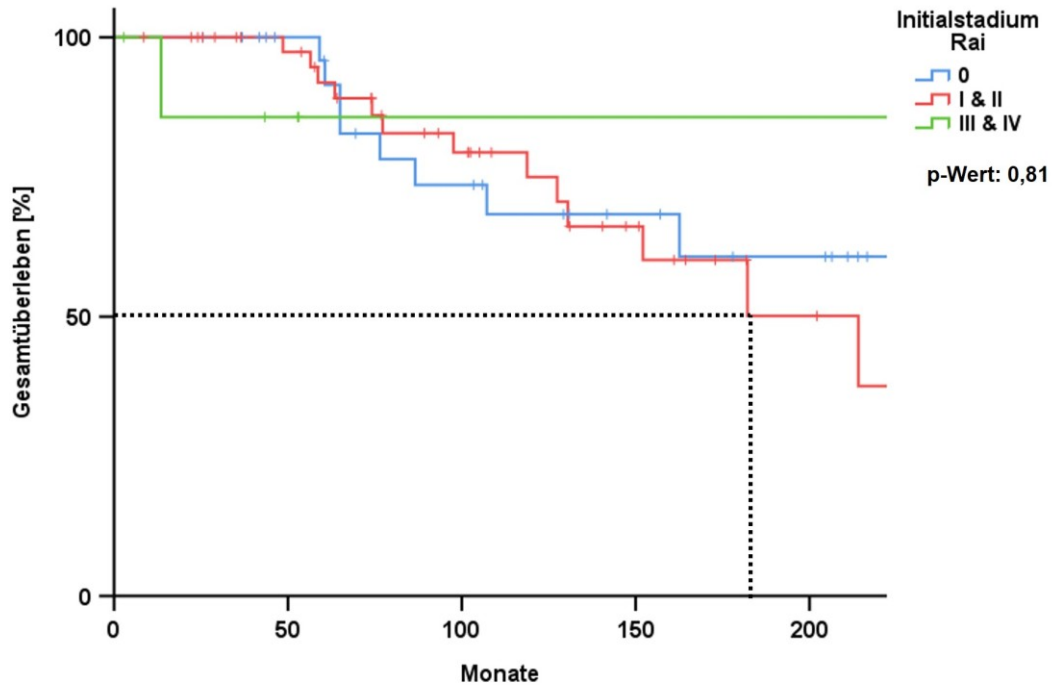


**Abbildung 15: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen in unterschiedlichen Initialstadien nach Binet: Stadium A: 5-JÜR: 93,2 %; 10-JÜR: 80,3 %; medianes OS: nicht erreicht; Stadium B: 5-JÜR: 94,4 %; 10-JÜR: 64,5 %; medianes OS: 152,1 Monate; Stadium C: 5-JÜR: 85,7 %; 10-JÜR: 85,7 %; medianes OS: 292,9 Monate; Log Rank  $p=0,61$**

#### 3.2.1.2 Rai

Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die Patienten in drei Risikogruppen eingeteilt (siehe Kapitel 1.2.3). Die Patienten in der Gruppe mit dem niedrigen Risiko zeigten ein 5-Jahre-Überleben von 95,8 % (95 %-KI: 87,8 – 100), ein 10-JÜR von 68,3 % (95 %-KI: 48,7 – 87,9) und mit 239,3 Monaten (95 %-KI: 129,3 – 349,3) ein längeres medianes Überleben als die Patienten in der Gruppe mit dem intermediären Risiko. Das mediane Überleben in dieser Gruppe betrug 214 Monate (95 %-KI: 137,1 – 291), das 5-JÜR 91,9 % (95 %-KI: 83,1 – 100) und das 10-JÜR 75 % (95 %-KI: 59,5 – 90,5). Die Patienten in der Gruppe mit dem höchsten Risiko zeigten sowohl ein 5-JÜR als auch ein 10-JÜR von 85,7 % (95 %-KI: 59,8 – 100). Das mediane Überleben war mit 292,9 Monaten (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) in dieser Gruppe am längsten. Beim Gesamtvergleich der Gruppen mithilfe des Log Rank Tests stellten sich die Überlebensunterschiede als nicht signifikant ( $p=0,81$ ) heraus (siehe Abbildung 16).

### 3 Ergebnisse

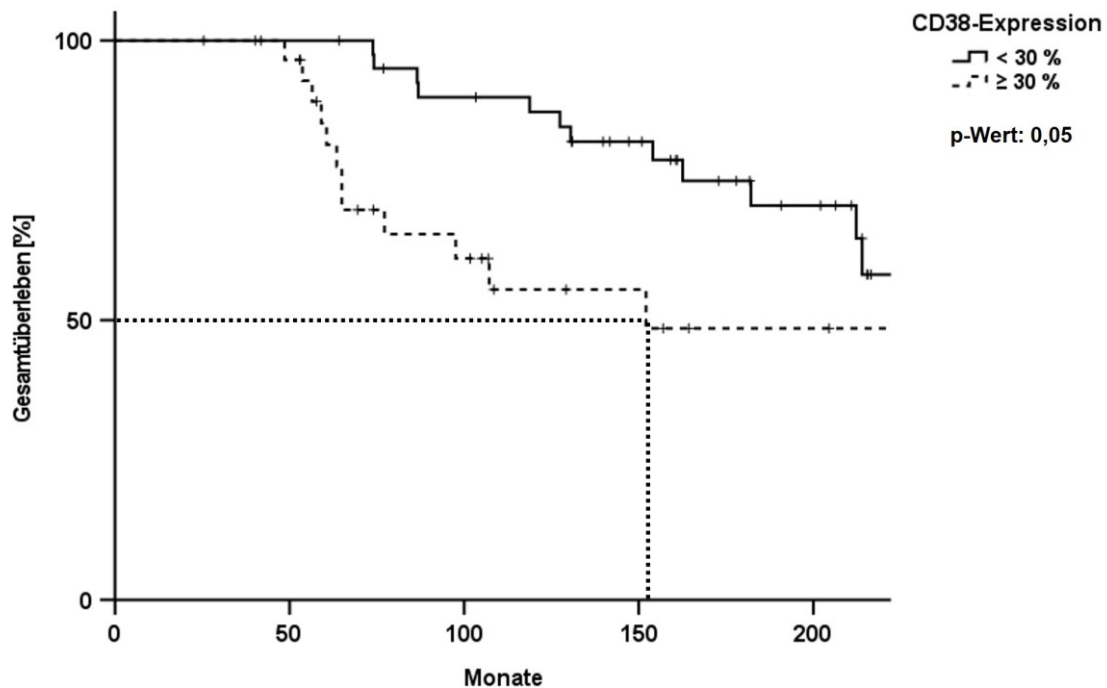


**Abbildung 16: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen in unterschiedlichen Initialstadien nach Rai: Stadium 0: 5-JÜR: 95,8 %; 10-JÜR: 68,3 %; medianes OS: 239,3 Monate; Stadium I & II: 5-JÜR: 91,9 %; 10-JÜR: 75 %; medianes OS: 214 Monate; Stadium III & IV: 5-JÜR: 85,7 %; 10-JÜR: 85,7 %; medianes OS: 292,9 Monate; Log Rank  $p=0,81$**

### 3.2.2 Prognosefaktoren

#### 3.2.2.1 CD38-Expression

Patienten die eine CD38-Expression  $< 30\%$  auf ihren B-Zellen aufwiesen zeigten ein 5-JÜR von  $92,7\%$  (95 %-KI:  $85,84 - 99,56$ ) und ein 10-JÜR von  $75,1\%$  (95 %-KI:  $62,56 - 87,64$ ). Das mediane Überleben dieser Gruppe wurde im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. Die Patienten die eine CD38-Expression  $\geq 30\%$  aufwiesen zeigten mit einem 5-JÜR von  $94,7\%$  (95 %-KI:  $84,70 - 100$ ), einem 10-JÜR von  $67,7\%$  (95 %-KI:  $46,34 - 89,1$ ) und einem medianen Überleben von  $162,62$  Monaten (95 %-KI:  $112,65 - 212,58$ ) ein signifikant kürzeres Überleben als die Patienten mit einer CD38-Expression  $< 30\%$  ( $p=0,05$ ) (siehe Abbildung 17).

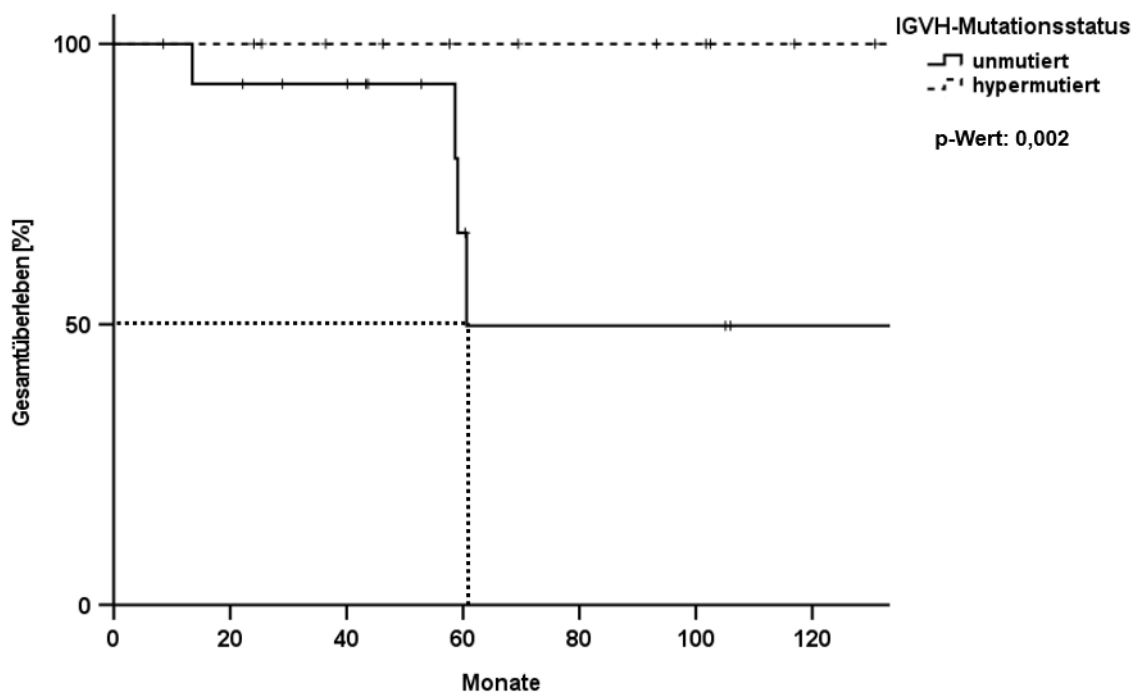


**Abbildung 17: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen mit einer CD38-Expression  $< 30\%$  und  $\geq 30\%$ : CD38-Expression  $< 30\%$ : 5-JÜR:  $92,7\%$ ; 10-JÜR:  $75,1\%$ ; medianes OS: nicht erreicht; CD38-Expression  $\geq 30\%$ : 5-JÜR:  $94,7\%$ ; 10-JÜR:  $67,7\%$ ; medianes OS:  $162,62$  Monate; Log Rank  $p=0,05$**

### 3.2.2.2 Immunglobulin-VH-(IGVH)-Mutationsstatus

Für die Patienten, die einen hypermutierten IGVH-Status aufwiesen, ließ sich bei der Analyse nach Kaplan-Meier ein signifikant längeres OS nachweisen als für die Patienten mit einem unmutierten IGVH-Status ( $p=0,002$ ).

Während in der Gruppe der Patienten mit IGVH unmutierter CLL nach 5 Jahren noch 66,3 % (95 %-KI: 33,8 – 98,8) der Patienten lebten, lebten in der IGVH hypermutierten Gruppe noch 100 % (95 %-KI: Berechnung nicht möglich). Auch nach 10 Jahren hatte sich das Überleben der IGVH hypermutierte Patienten nicht reduziert, während es bei den IGVH unmutierten Patienten bei 49,7 % (95 %-KI: 12,5 – 86,9) lag. Das mediane Überleben für die IGVH unmutierten Patienten betrug 60,6 Monate (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) und das für die hypermutierten Patienten 239,3 Monate (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) (siehe Abbildung 18).

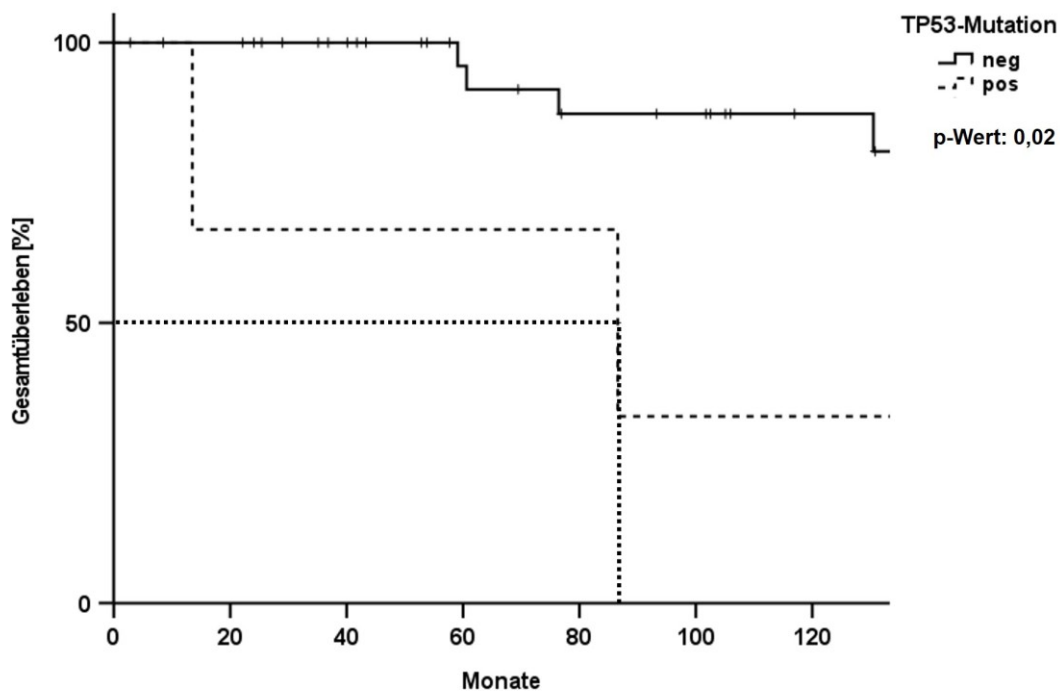


**Abbildung 18:** Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen mit unterschiedlichem IGVH-Mutationsstatus: IGVH unmutiert: 5-JÜR: 66,3 %; 10-JÜR: 49,7 %; medianes OS: 60,6 Monate; IGVH hypermutiert: 5-JÜR: 100 %; 10-JÜR: 100 %; medianes OS: 239,3 Monate; Log Rank  $p=0,002$

### 3 Ergebnisse

#### 3.2.2.3 TP53-Mutation

Der Überlebensunterschied zwischen den Patienten mit einer TP53-Mutation und den Patienten ohne diese Mutation erwies sich als signifikant. Die Patienten ohne TP53-Mutation zeigten ein 5-JÜR von 95,8 % (95 %-KI: 87,8 – 100) und ein 10-JÜR von 87,3 % (95 %-KI: 73,8 – 100). Das mediane Überleben wurde bei diesen Patienten innerhalb des Beobachtungszeitraums nicht erreicht. Bei den Patienten mit einer TP53-Mutation zeigte sich mit 66,7 % (95 %-KI: 14,4 – 100) 5-JÜR, 33,3 % (95 %-KI: 0 – 76,4) 10-JÜR und einem medianen Überleben von 85,6 Monaten (95 %-KI: 0 – 203,5) ein signifikant kürzeres Gesamtüberleben ( $p=0,02$ ) (siehe Abbildung 19).



**Abbildung 19: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen mit unterschiedlichem TP53-Mutationsstatus: TP53-Mutation negativ: 5-JÜR: 95,8 %; 10-JÜR: 87,3 %; medianes OS: nicht erreicht; TP53-Mutation positiv: 5-JÜR: 66,7 %; 10-JÜR: 33,3 %; medianes OS: 85,6 Monate; Log Rank  $p=0,02$**

### 3.2.3 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL

#### 3.2.3.1 4-1BB

Die Patienten, bei denen die 4-1BB-Expression gemessen wurde, wurden wie in Kapitel 2.4 beschrieben, in zwei Gruppen unterteilt. Patienten mit der niedrigen Expression zeigten ein 5-JÜR von 100 % (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) und ein 10-JÜR von 87,2 % (95 %-KI: 81,9 – 92,5). Das mediane Überleben wurde bei diesen Patienten nicht erreicht. Die Patienten mit der höheren 4-1BB-Expression hingegen zeigten ein 5-JÜR von 85,2 % (95 %-KI: 78,4 – 92) und ein 10-JÜR von 55,5 % (95 %-KI: 35,3 – 65,8). Außerdem zeigte sich für diese ein medianes Überleben von 152,1 Monaten (95 %-KI: 22,5 – 281,7). Unter Anwendung des Log Rank Tests stellte sich dieser Unterschied als signifikant heraus ( $p=0,02$ ) (siehe Abbildung 20A).

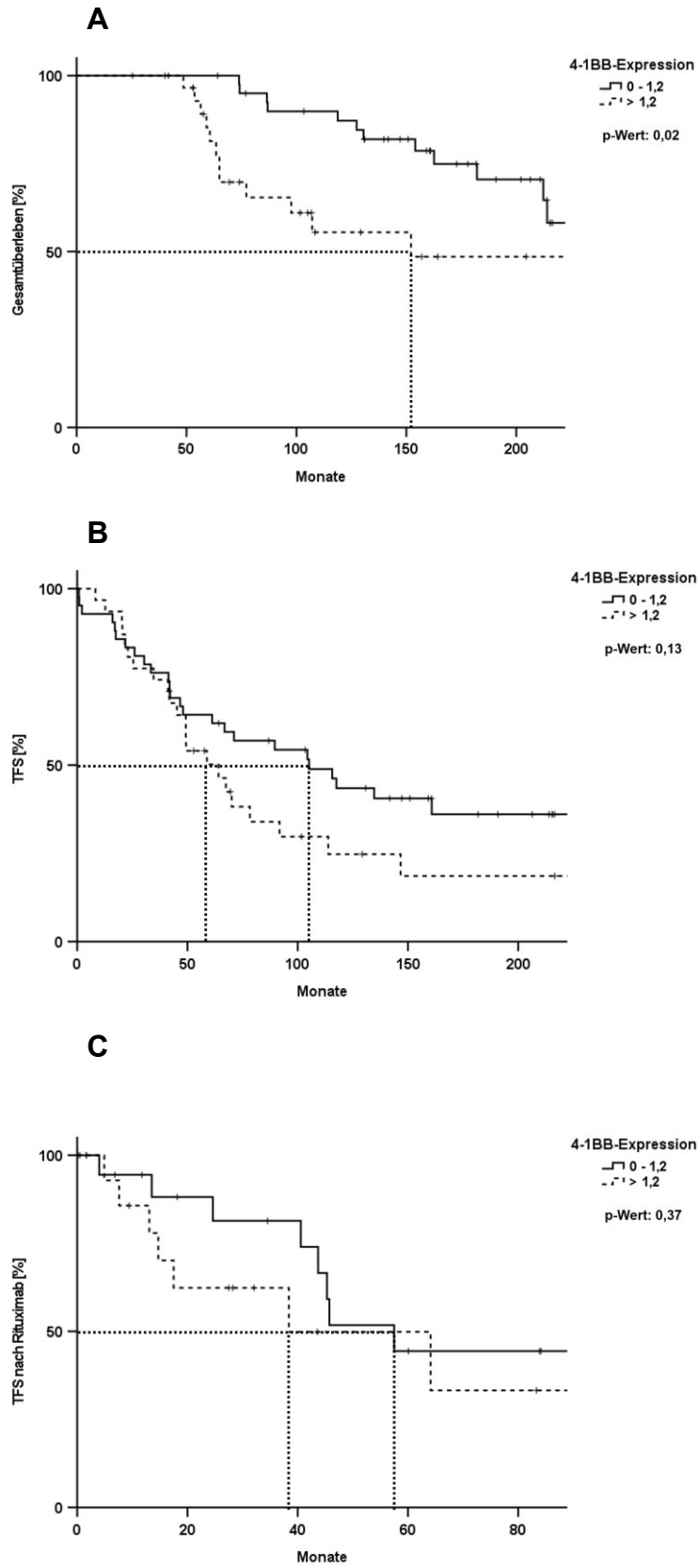
Bei der Untersuchung bezüglich des TFS zeigte sich, dass die Patienten in der Gruppe mit einer 4-1BB-Expression von 0 SFI - 1,2 SFI ein medianes TFS von 105,2 Monaten (95 %-KI: 52 – 158,3) hatten und die Patienten mit der höheren Expression von 4-1BB ein medianes TFS von 64,1 Monaten (95 %-KI: 42,1 – 86,2). Nach fünf Jahren hatten noch 64,3 % (95 %-KI: 49,8 – 78,8) der Patienten mit der niedrigen 4-1BB-Expression keine Therapie erhalten und nach zehn Jahren noch 43,5 % (95 %-KI: 28 – 59). Bei den Patienten mit der höheren 4-1BB-Expression hingegen zeigten nur 50,2 % (95 %-KI: 32,2 – 68,2) ein 5-Jahres-TFS und nur 24,8 % (95 %-KI: 7,7 – 41,9) ein 10-Jahres-TFS. In der Kaplan-Meier-Analyse zeigte sich dieser Unterschied als nicht signifikant ( $p=0,13$ ) (siehe Abbildung 20B).

Als drittes wurde das TFS nach Rituximab bei den beiden Gruppen untersucht. 44,4 % (95 %-KI: 18,3 – 70,5) der Patienten in der Gruppe mit der niedrigeren 4-1BB-Expression hatten fünf Jahre nach der Therapie mit Rituximab noch keine erneute Therapie erhalten, während es in der Gruppe mit der höheren 4-1BB-Expression 49,9 % (95 %-KI: 19,5 – 80,3) waren. Das mediane TFS nach Rituximabtherapie betrug in der Gruppe mit der niedrigeren Expression 57,5 Monate

### 3 Ergebnisse

(95 %-KI: 36 – 79) und in der Gruppe mit der höheren Expression 38,4 Monate (95 %-KI: 0 – 86,2). In der Analyse durch den Log Rank Test zeigte dieser Unterschied keine Signifikanz ( $p=0,37$ ) (siehe Abbildung 20C).

### 3 Ergebnisse



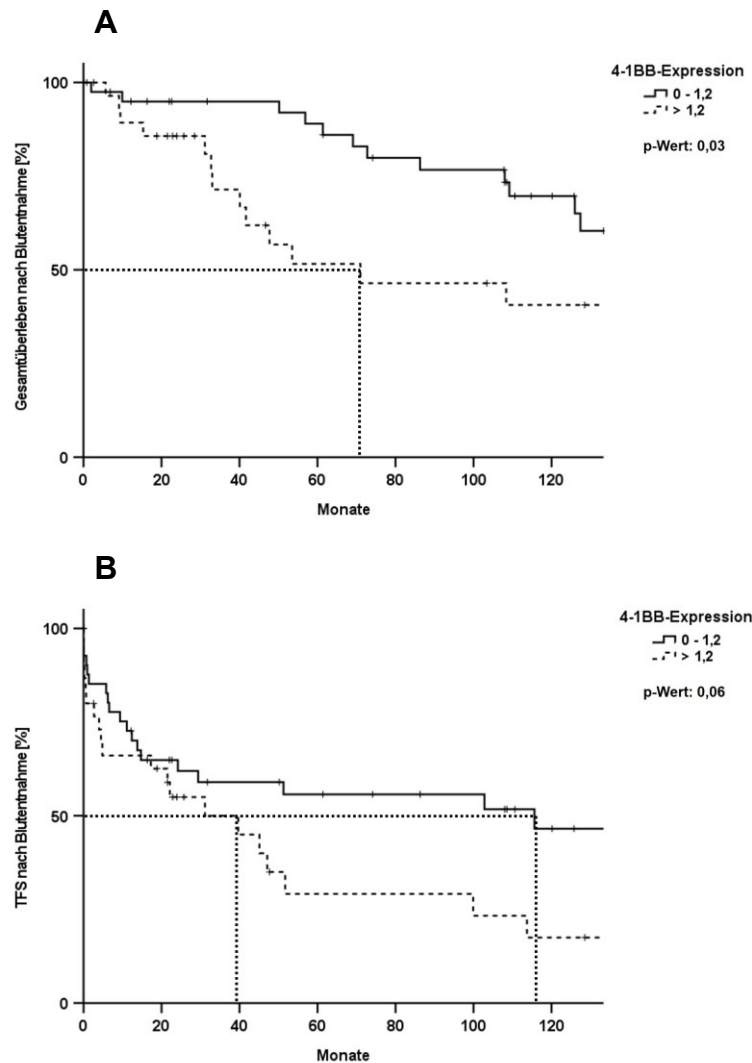
**Abbildung 20: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A), TFS (B) und TFS nach Rituximab (C) der Patientengruppen mit unterschiedlicher 4-1BB-Expression: SFI von 4-1BB bestimmt mittels FACS**

### 3 Ergebnisse

Die Patienten mit einer niedrigeren 4-1BB-Expression zeigten ein 5-JÜR nach der Blutentnahme von 89 % (95 %-KI: 78,8 – 99,2) und ein 10-JÜR von 69,7 % (95 %-KI: 53,8 – 85,6). Das mediane Überleben wurde in dieser Gruppe im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. Die Patienten mit der höheren 4-1BB-Expression erreichten ein medianes Überleben nach der Blutentnahme von 72 Monaten (95 %-KI: 0 – 141,44). Etwa die Hälfte (51,6 % (95 %-KI: 30,4 – 72,8)) dieser Patienten lebten noch 5 Jahre nach der Blutentnahme und 40,6 % (95 %-KI: 19,04 – 62,2) lebten noch 10 Jahre nach der Blutentnahme. Dieses erwies sich im Log Rank Test als signifikant ( $p=0,03$ ) (siehe Abbildung 21A).

Außerdem zeigten die Patienten mit der niedrigen 4-1BB-Expression ein längeres TFS nach der Blutentnahme als die Patienten mit der hohen 4-1BB-Expression. Dies zeigte sich im 5-Jahres-TFS und im 10-Jahres-TFS das bei der Gruppe mit der niedrigen 4-1BB-Expression 55,7 % (95 %-KI: 39,6 – 71,8) und 46,6 % (95 %-KI: 28,8 – 64,4) betrug und in der Gruppe mit der hohen 4-1BB-Expression 29,2 % (95 %-KI: 9,8 – 48,6) und 17,5 % (95 %-KI: 0,4 – 34,6). Auch das mediane TFS nach der Blutentnahme zeigte sich mit 115,65 Monaten (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) in der Gruppe mit der niedrigen 4-1BB-Expression länger als das mediane TFS nach der Blutentnahme in der Gruppe der Patienten mit der hohen 4-1BB-Expression, das bei 31,15 Monaten (95 %-KI: 0 – 64,58) lag. Dieses Ergebnis zeigte jedoch keine Signifikanz ( $p=0,06$ ) (siehe Abbildung 21B).

### 3 Ergebnisse



**Abbildung 21: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A) und TFS (B) nach der Blutentnahme der Patientengruppen mit unterschiedlicher 4-1BB-Expression: SFI von 4-1BB bestimmt mittels FACS**

#### 3.2.3.2 4-1BBL

Zur Überlebenszeitanalyse bezüglich der 4-1BBL-Expression wurden, wie in Kapitel 2.4 erwähnt, zwei Gruppen mit einem cut-off-Wert von 5,68 SFI verglichen. Die Patienten mit einer 4-1BBL-Expression von 0 SFI – 5,68 SFI zeigten ein 5-JÜR von 93,6 % (95 %-KI: 85,2 – 100) und ein 10-JÜR von 72,3 % (95 %-KI: 55,8 – 88,8). Die Gruppe der Patienten mit einer 4-1BBL-Expression > 5,68 SFI wies ein 5-Jahres-Überleben von 94,4 % (95 %-KI: 87 – 100) und ein 10-JÜR von 77,4 % (95 %-KI: 63,7 – 91,1) auf. Das mediane Überleben wurde bei der Gruppe mit der 4-1BBL-Expression von 0 SFI – 5,68 SFI nicht erreicht, während es bei

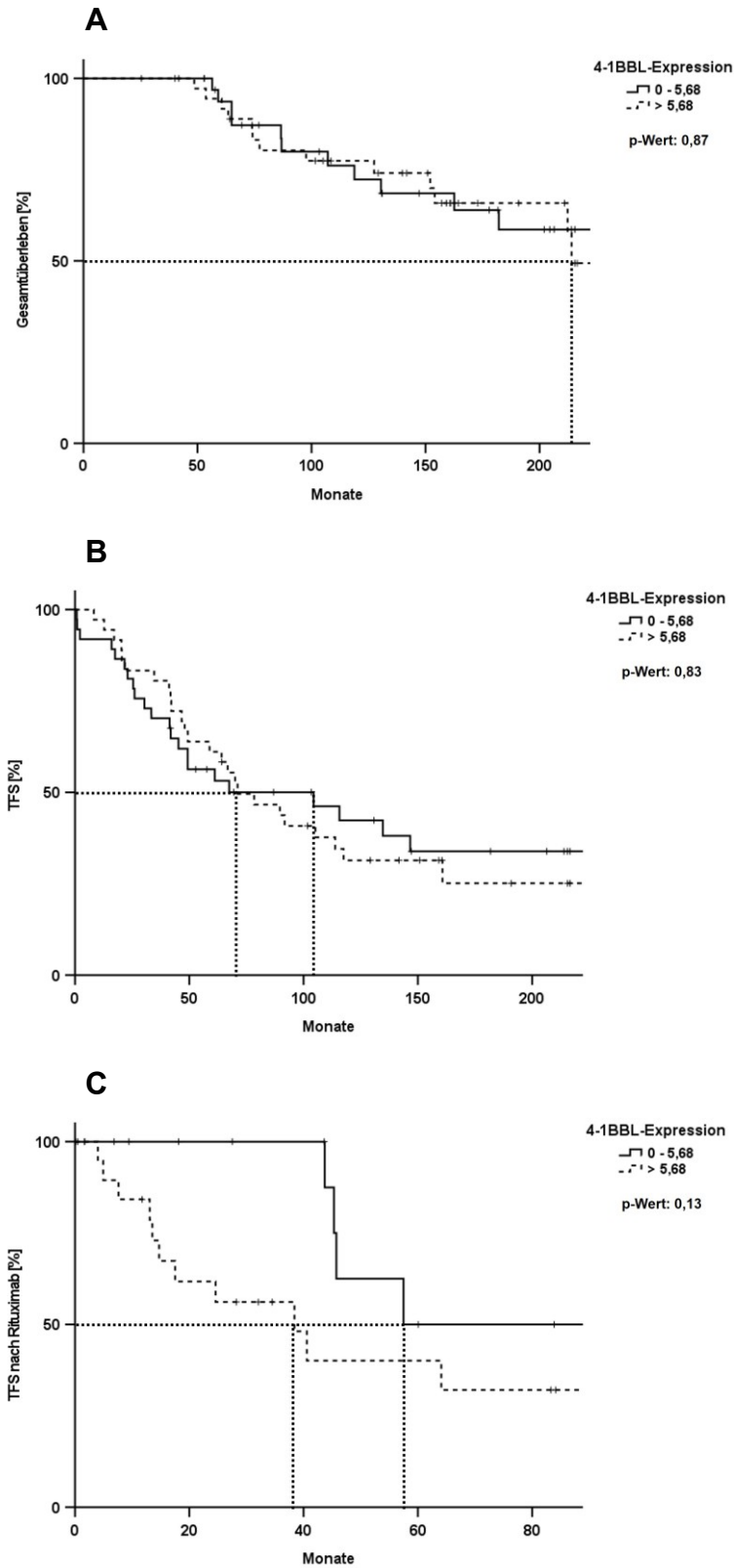
### 3 Ergebnisse

der Gruppe mit der Expression  $> 5,68$  SFI 214 Monate (95 %-KI: 156,5 – 271,5) betrug. Im Log Rank Test zeigte sich, dass dieser Unterschied nicht signifikant ist ( $p=0,87$ ) (siehe Abbildung 22A).

In der Kaplan-Meier-Analyse hinsichtlich des TFS zeigten die Patienten mit einer niedrigen 4-1BBL-Expression (0 SFI – 5,68 SFI) ein medianes TFS von 104,4 Monaten (95 %-KI: 24,3 – 184,6), die Patienten mit einer höheren 4-1BBL-Expression ( $> 5,68$  SFI) erhielten im Median nach 71,1 Monate (95 %-KI: 39 – 103,3) ihre erste Therapie. 56,3 % (95 %-KI: 40,2 – 72,4) der Patienten hatten in der Gruppe mit der niedrigen 4-1BBL-Expression nach fünf Jahren noch keine Therapie erhalten. In der Gruppe mit der höheren 4-1BBL-Expression waren es 61,1 % (95 %-KI: 45,2 – 77). Nach zehn Jahren hatten 42,4 % (95 %-KI: 25,3 – 59,5) der Patienten mit einer 4-1BBL-Expression von 0 SFI – 5,68 SFI weiterhin keine therapierelevante Progression, während es bei den Patienten mit einer 4-1BBL-Expression von  $> 5,68$  SFI 31,4 % (95 %-KI: 15,7 – 47,1) der Patienten waren. Dieser Unterschied erwies sich im Log Rank Test jedoch als nicht signifikant ( $p=0,83$ ) (siehe Abbildung 22B).

Wie auch schon bei der 4-1BB-Expression wurde auch bei der 4-1BBL-Expression eine Kaplan-Meier-Analyse in Hinsicht auf das TFS nach einer Therapie mit Rituximab durchgeführt. Die Patienten mit einer niedrigeren 4-1BBL-Expression zeigten fünf Jahre nach der Rituximabtherapie ein TFS von 50 % (95 %-KI: 15,3 – 84,7). Bei den Patienten mit der höheren 4-1BBL-Expression hatten fünf Jahre nach der Rituximabtherapie noch 40,1 % (95 %-KI: 15,2 – 65) der Patienten keine erneute Therapie erhalten. Der Median des TFS nach Rituximab lag bei den Patienten mit der niedrigen 4-1BBL-Expression bei 57,5 Monaten (95 %-KI: 0 – 115,9) und bei der hohen Expression bei 38,4 Monaten (95 %-KI: 14,1 – 62,7). Nach der Durchführung des Log Rank Tests zeigte sich mit einem p-Wert von 0,13, dass der Überlebensunterschied zwischen den beiden Patientengruppen nicht signifikant war (siehe Abbildung 22C).

### 3 Ergebnisse



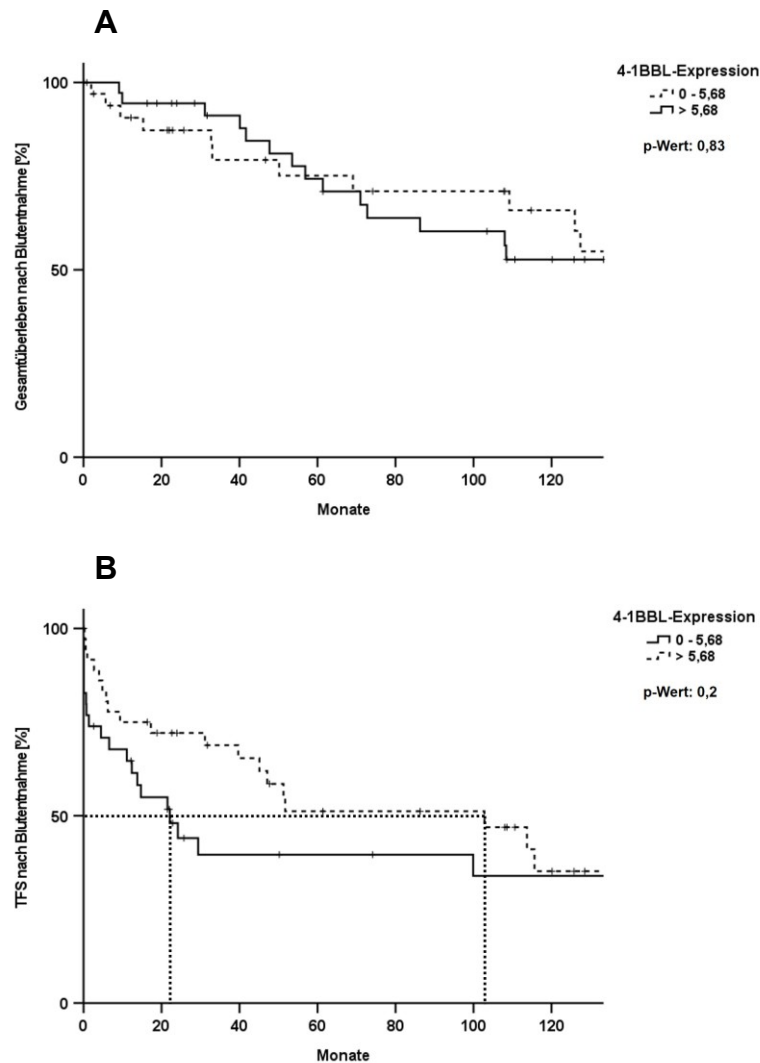
**Abbildung 22: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A), TFS (B) und TFS nach Rituximab (C) der Patientengruppen mit unterschiedlicher 4-1BBL-Expression: SFI von 4-1BBL bestimmt mittels FACS**

### 3 Ergebnisse

Die Analyse des Gesamtüberlebens nach der Blutentnahme bezüglich 4-1BBL ergab, dass Patienten mit einer niedrigeren 4-1BBL-Expression ein 5-JÜR von 75,1 % (95 %-KI: 58,9 – 91,4) und ein 10-JÜR von 60,4 % (95 %-KI: 40,4 – 80,4) zeigten, während die Patienten mit einer höheren 4-1BBL-Expression mit einem 5-JÜR von 74,3 % (95 %-KI: 58,5 – 89,5) und einem 10-JÜR von 52,7 % (95 %-KI: 34,5 – 70,9) ein minimal kürzeres Gesamtüberleben nach der Blutentnahme zeigten. Das Mediane Überleben wurde in beiden Gruppen nicht erreicht. Dieser Unterschied zeigte sich mit einem p-Wert von 0,83 als nicht signifikant (siehe Abbildung 23A).

Die Patienten in der Gruppe mit der niedrigeren 4-1BBL-Expression zeigten im Median ein TFS nach der Blutentnahme von 22,14 Monaten (95 %-KI: 9,37 – 34,91), ein 5-Jahres-TFS von 39,6 % (95 %-KI: 21,8 – 57,4) und ein 10-Jahres-TFS von 34 % (95 %-KI: 15,6 – 52,4). Die Patienten in der Gruppe mit der höheren 4-1BBL-Expression zeigten wiederum ein medianes TFS nach der Blutentnahme von 102,8 Monaten (95 %-KI: 34,1 – 171,51), ein 5-Jahres-TFS von 51,2 % (95 %-KI: 33,6 – 68,9) und ein 10-Jahres-TFS von 35,2 % (95 %-KI: 15,6 – 54,8). Der Unterschied zeigte sich als nicht signifikant ( $p=0,2$ ) (siehe Abbildung 23B).

### 3 Ergebnisse



**Abbildung 23: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A) und TFS (B) nach der Blutentnahme der Patientengruppen mit unterschiedlicher 4-1BBL-Expression: SFI von 4-1BBL bestimmt mittels FACS**

#### 3.2.3.3 G1TR

Wie in Kapitel 2.4 beschrieben, wurden die Patienten anhand ihrer G1TR-Expression in Terzile unterteilt. In der Gruppe mit einer G1TR-Expression  $\leq 1,39$  SFI zeigten die Patienten ein 5-JÜR von 95,2 % (95 %-KI: 86,2 – 100) und ein 10-JÜR von 72,5 % (95 %-KI: 51,7 – 93,3). In der Gruppe mit einer G1TR-Expression  $> 1,39$  SFI – 1,7 SFI lebten fünf Jahre nach der Erstdiagnose noch 87 % (95 %-KI: 73,3 – 100) der Patienten und 10 Jahre nach der Erstdiagnose noch 63,8 % (95 %-KI: 43,6 – 84) der Patienten. Die Patienten in der Gruppe mit der höchsten G1TR-Expression ( $> 1,7$  SFI), zeigten mit einem 5-JÜR von 100 % (95 %-KI:

### 3 Ergebnisse

Berechnung nicht möglich) und einem 10-JÜR von 87,5 % (95 %-KI: 74,2 – 100) das längste Gesamtüberleben. Das mediane Überleben wurde nur in der Gruppe mit einer GITR-Expression  $> 1,39$  SFI – 1,7 SFI erreicht und betrug dort 182,2 Monate (95 %-KI: 136,5 – 227,8). Dieser Überlebensunterschied zwischen den drei Gruppen ist signifikant ( $p=0,03$ ) (siehe Abbildung 24A).

In der Kaplan-Meier-Analyse hinsichtlich des TFS zeigte die Gruppe mit einer GITR-Expression  $\leq 1,39$  SFI ein medianes TFS von 104,4 Monaten (95 %-KI: 51,2 – 157,6), ein 5-Jahres-TFS von 68,2 % (95 %-KI: 48,8 – 87,6) und ein 10-Jahres-TFS von 39,2 % (95 %-KI: 16,5 - 61,9). In der Gruppe mit einer GITR-Expression  $> 1,39$  SFI – 1,7 SFI kam es mit 46,7 Monaten (95 %-KI: 35,2 – 58,2) zu einem deutlich kürzeren medianen TFS. Das 5-Jahres TFS betrug 34,1 % (95 %-KI: 15,1 – 53,1) und das 10-Jahres-TFS 19,9 % (95 %-KI: 3,2 – 36,6). Die Gruppe mit der höchsten GITR-Expression wies mit 117,5 Monaten (95 %-KI: 21,7 – 213,4) das längste TFS auf. Nach fünf Jahren hatten in dieser Gruppe 73,1 % (95 %-KI: 56 – 90,2) der Patienten noch keine Therapie erhalten und nach 10 Jahren 48,1 % (95 %-KI: 28,3 – 67,9).

Die das TFS betreffenden Unterschiede erwiesen sich im Log Rank Test als nicht signifikant ( $p=0,1$ ) (siehe Abbildung 24B).

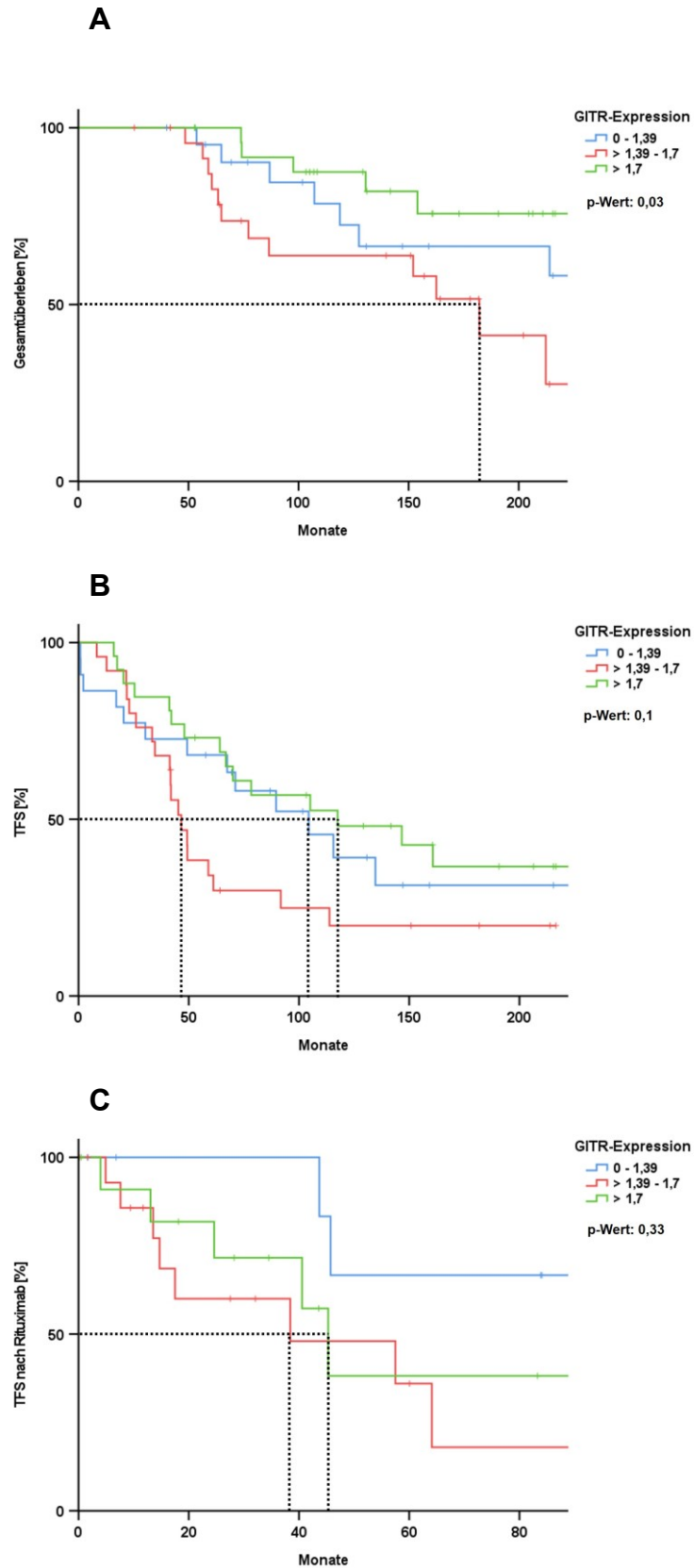
Bezüglich des TFS nach Rituximab-Therapie zeigten die Patienten in der Gruppe mit der niedrigsten GITR-Expression das längste mediane TFS. Es betrug 108,9 Monate (95 %-KI: 14,4 – 203,5). In der Gruppe mit einer GITR-Expression  $> 1,39$  SFI – 1,7 SFI lag das mediane TFS nach Rituximab bei 38,4 Monaten (95 %-KI: 0 – 89,1) und war somit am kürzesten. Die Patienten in der Gruppe mit der höchsten GITR-Expression zeigten im Median ein TFS nach Rituximab von 45,7 Monaten (95 %-KI: 26,7 – 64,8). Das 5-Jahres-TFS nach Rituximab lag in der Gruppe mit der niedrigsten GITR-Expression bei 66,7 % (95 %-KI: 29,1 – 100), in der Gruppe mit einer GITR-Expression  $> 1,39$  SFI – 1,7 SFI bei 36 % (95 %-KI: 5,4 – 66,6) und in der Gruppe mit der höchsten GITR-Expression bei 38,2 % (95 %-KI: 0,4 – 76). Das 10-Jahres-TFS nach Rituximab wurde nur in der Gruppe mit der niedrigsten GITR-Expression erreicht und betrug dort 33,3 %

### 3 Ergebnisse

(95 %-KI: 0 – 83,3). Nach der Durchführung eines Log Rank Tests zeigte sich, dass die Unterschiede dieser TFS nach Rituximab nicht signifikant sind ( $p=0,33$ )

(siehe Abbildung 24C).

### 3 Ergebnisse



**Abbildung 24: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A), TFS (B) und TFS nach Rituximab (C) der Patientengruppen mit unterschiedlicher GITR-Expression: SFI von GITR bestimmt mittels FACS**

### 3 Ergebnisse

Wie auch für die vorausgegangenen Parameter 4-1BB und 4-1BBL wurde auch für GITR das Gesamtüberleben und das TFS nach der Blutentnahme analysiert.

Das Gesamtüberleben nach der Blutentnahme zeigte sich bei den Patienten mit der höchsten GITR-Expression am längsten. Das 5-JÜR nach der Blutentnahme betrug 90,5 % (95 %-KI: 77,8 – 100) und das 10-JÜR 79,9 % (95 %-KI: 62,1 – 97,7), das mediane Überleben wurde nicht erreicht. Das zweitlängste Gesamtüberleben nach der Blutentnahme zeigte die Gruppe mit der niedrigsten GITR-Expression. Hier wurde das mediane Überleben auch nicht erreicht, das 5-JÜR lag bei 71 % (95 %-KI: 48,9 – 93,1) und das 10-JÜR bei 54,7 % (95 %-KI: 28,4 – 81) (siehe Abbildung 25A).

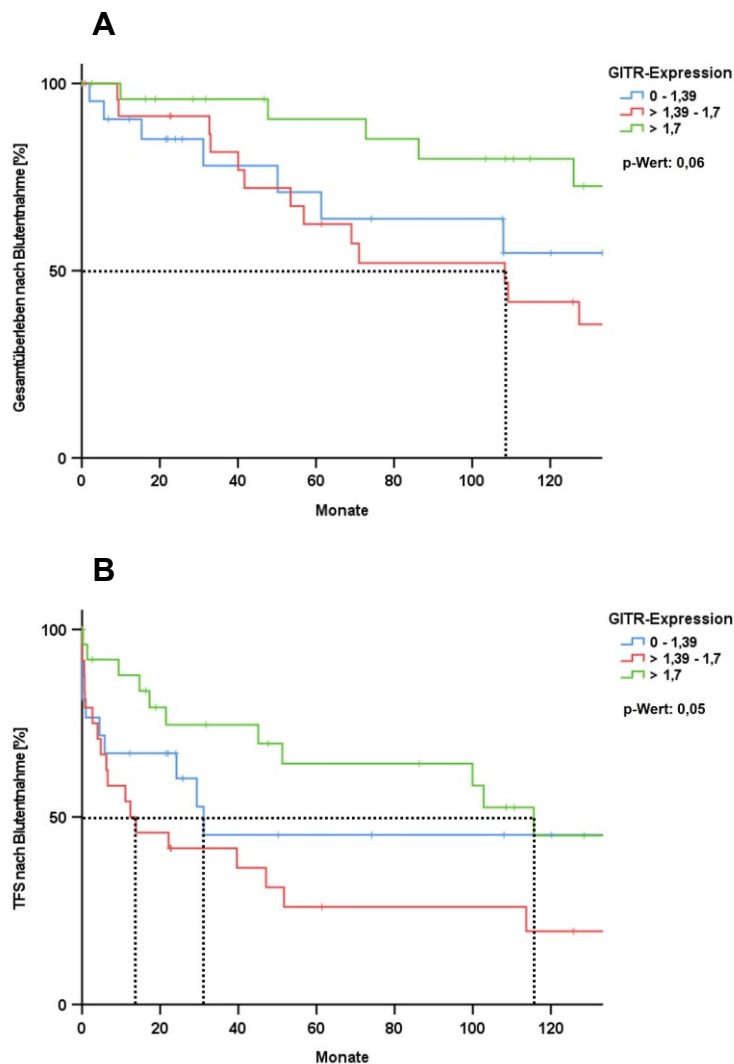
Das kürzeste Gesamtüberleben nach der Blutentnahme zeigten die Patienten mit einer GITR-Expression  $> 1,39$  SFI – 1,7 SFI. Bei ihnen lag das mediane Überleben bei 108,39 Monaten (95 %-KI: 52,46 – 164,31), das 5-JÜR nach der Blutentnahme lag bei 62,5 % (95 %-KI: 41,9 – 83,1) und das 10-JÜR bei 41,6 % (95 %-KI: 20 – 63,2). Der Überlebensunterschied zeigte sich jedoch anders als beim Gesamtüberleben nach der Erstdiagnose mit einem p-Wert von 0,06 als nicht signifikant (siehe Abbildung 25A).

Entsprechend dem Gesamtüberleben nach der Blutentnahme zeigte sich auch das TFS nach der Blutentnahme in der Gruppe mit der höchsten GITR-Expression mit einem medianen TFS von 115,65 Monaten (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) am längsten, das mediane TFS der Gruppe mit der niedrigsten GITR-Expression zeigte sich mit 31,15 Monaten (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) am zweitlängsten und das mediane TFS der Patienten mit einer GITR-Expression  $> 1,39$  SFI – 1,7 SFI zeigte sich mit 12,39 Monaten (95 %-KI: 0 – 31,1). am kürzesten (siehe Abbildung 25B).

Das 5-Jahres- und 10-Jahres-TFS lag bei der Gruppe mit der höchsten GITR-Expression bei 64,2 % (95 %-KI: 44 – 84,8) und 45,1 % (95 %-KI: 21,8 – 68,4), das der Gruppe mit der niedrigsten GITR-Expression lag bei 45,2 % (95 %-KI: 20,7 – 69,7) und das der Gruppe mit einer GITR-Expression  $> 1,39$  SFI – 1,7 SFI lag bei 26 % (95 %-KI: 7,4 – 44,6) und 19,5 % (95 %-KI: 1,7 – 37,3). Insgesamt

### 3 Ergebnisse

zeigte sich der Überlebensunterschied mit einem p-Wert von 0,05 als signifikant (siehe Abbildung 25B).



**Abbildung 25: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A) und TFS (B) nach der Blutentnahme der Patientengruppen mit unterschiedlicher GITR-Expression: SFI von GITR bestimmt mittels FACS**

#### 3.2.3.4 GITRL

Zur Überlebenszeitanalyse nach Kaplan-Meier wurden die Werte der GITRL-Expression in Quartile unterteilt (siehe Kapitel 2.4). Die Patienten mit einer GITRL-Expression im ersten Quartil zeigten ein 5-JÜR von 94,1 % (95 %-KI: 82,9 – 100) und ein 10-JÜR von 80,1 % (95 %-KI: 57,7 – 100). Von den Patienten mit GITRL-Werten im zweiten Quartil überlebten 93,3 % (95 %-KI: 80,8 – 100) die ersten fünf Jahre nach der Erstdiagnose und 10 Jahre nach der Erstdiagnose lebten noch 71,1 % (95 %-KI: 47 – 95,2) der Patienten.

### 3 Ergebnisse

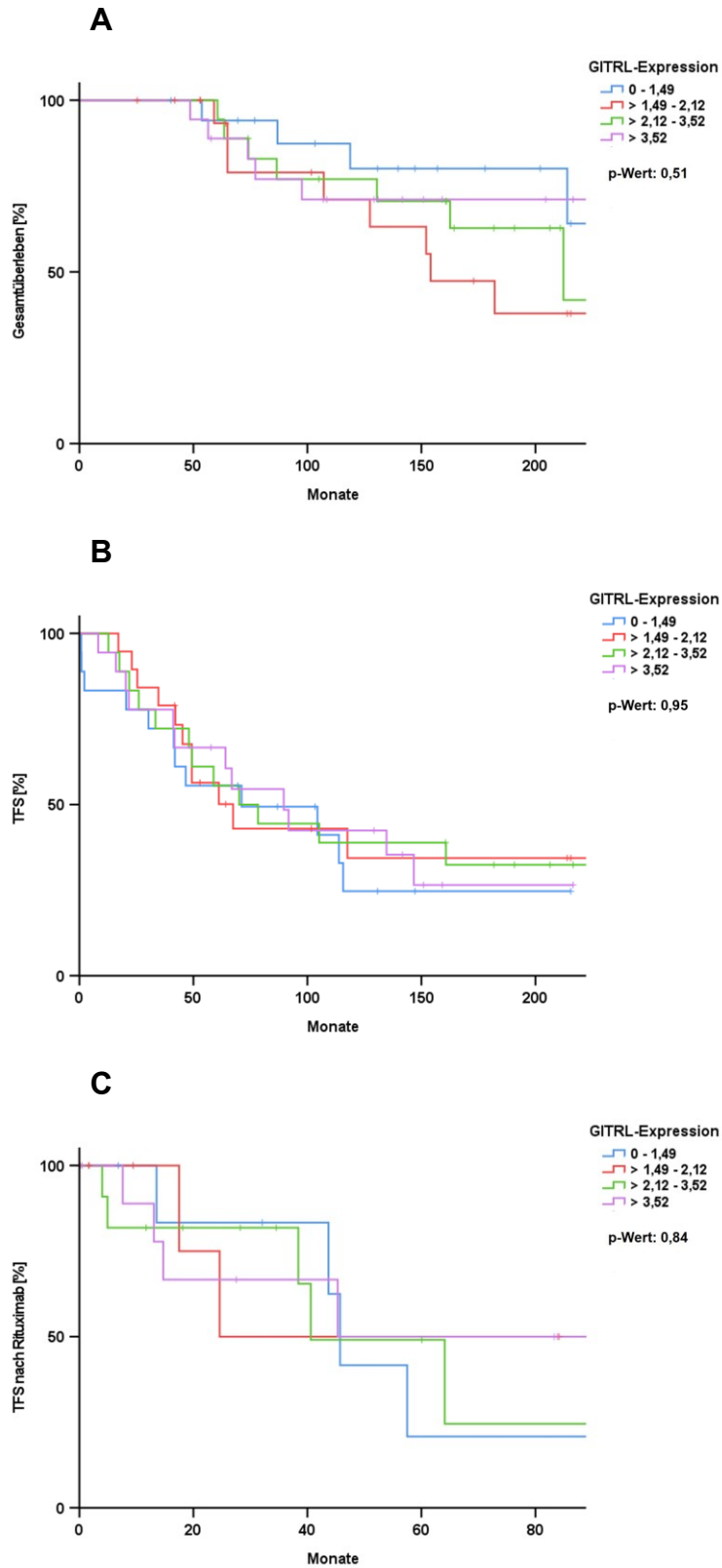
Für die Patienten mit einer GITRL-Expression im dritten Quartil lag das 5-JÜR bei 100 % (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) und das 10-JÜR bei 77 % (95 %-KI: 57,2 – 96,8). Das, die Patienten mit der höchsten GITRL-Expression (viertes Quartil) betreffende 5-JÜR wurde mit 88,9 % (95 %-KI: 74,4 – 100) und das 10-JÜR mit 71,1 % (95 %-KI: 49,7 – 92,5) ermittelt. Das mediane Überleben wurde bei den Patienten mit einer GITRL-Expression  $\leq 1,49$  SFI nicht erreicht, bei den Patienten mit einer Expression über 1,49 SFI bis einschließlich 2,12 SFI lag es bei 154 Monaten (95 %-KI: 107,1 – 201), bei einer Expression zwischen  $> 2,12$  SFI und 3,52 SFI bei 212,3 Monaten (95 %-KI: 124 – 300,6) und bei einer GITRL-Expression  $> 3,52$  SFI bei 292,9 Monaten (95 %-KI: nicht ermittelbar). Insgesamt zeigten die Patienten mit der niedrigsten GITRL-Expression, das längste Überleben. Im Log Rank Test erwies sich dieser Unterschied jedoch als nicht signifikant ( $p=0,51$ ) (siehe Abbildung 26A).

Bei der Kaplan-Meier-Analyse der GITRL-Expression hinsichtlich des TFS ergab sich für die Patienten im ersten Quartil ein 5-Jahres-TFS von 55,6 % (95 %-KI: 32,7 – 78,5), ein 10-Jahres-TFS von 24,7 % (95 %-KI: 1,8 – 47,6) und ein medianes TFS von 71,1 Monaten (95 %-KI: 0 – 164,9). Die Patienten im zweiten Quartil wiesen ein 5-Jahres-TFS von 56,4 % (95 %-KI: 33,7 – 79,1), ein 10-Jahres-TFS von 34,4 % (95 %-KI: 9,1 – 58,7) und ein medianes TFS von 67,5 Monaten (95 %-KI: 35,2 – 99,7) auf. Die Patienten im dritten Quartil zeigten ein 5-Jahres-TFS von 55,6 % (95 %-KI: 32,7 – 78,5), ein 10-Jahres-TFS von 38,9 % (95 %-KI: 16,4 – 61,4) und ein medianes TFS von 70,1 Monate (95 %-KI: 29,5 – 110,6). Im vierten Quartil, lebten 66,7 % (95 %-KI: 44,9 – 88,5) der Patienten die ersten fünf Jahre nach der Erstdiagnose ohne Therapie. Zehn Jahre nach der Erstdiagnose hatten 42,4 % (95 %-KI: 18,9 – 65,9) der Patienten noch keine Therapie erhalten. Das mediane TFS in diesem Quartil betrug 89,6 Monate (95 %-KI: 53,7 – 125,6). Das unterschiedlich lange TFS der Patienten mit den unterschiedlichen GITRL-Expressionen erwies sich im Log Rank Test als nicht signifikant ( $p=0,95$ ) (siehe Abbildung 26B).

### 3 Ergebnisse

Die dritte Kaplan-Meier-Analyse, die für die GITRL-Expression durchgeführt wurde, bezog sich auf das TFS nach erhaltener Therapie mit Rituximab. Die Unterschiede der Quartile, mit einem 5-Jahres-TFS-nach-Rituximab von 20,8 % (95 %-KI: 0 – 56,9) und einem medianen TFS-nach-Rituximab von 45,7 Monaten (95 %-KI: 41,5 – 50) im ersten Quartil, einem 5-Jahres-TFS-nach-Rituximab von 50 % (95 %-KI: 1 – 99) und einem medianen TFS-nach-Rituximab von 24,6 Monaten (95 %-KI: Berechnung nicht möglich) im zweiten Quartil, einem 5-Jahres-TFS-nach-Rituximab von 49,1 % (95 %-KI: 11,5 – 86,7) und einem medianen TFS-nach-Rituximab von 40,6 Monaten (95 %-KI: 16,9 – 64,3) im dritten Quartil und einem 5-Jahres-TFS-nach-Rituximab von 50 % (95 %-KI: 13,5 – 86,5) und einem medianen TFS-nach-Rituximab von 45,3 Monaten (95 %-KI: 26,7 – 64,8) im vierten Quartil, erwiesen sich als nicht signifikant ( $p=0,84$ ) (siehe Abbildung 26C).

### 3 Ergebnisse



**Abbildung 26: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A), TFS (B) und TFS nach Rituximab (C) der Patientengruppen mit unterschiedlicher GITRL-Expression: SFI von GITRL bestimmt mittels FACS**

### 3 Ergebnisse

Es wurde eine Kaplan-Meier-Analyse bezüglich des Gesamtüberlebens nach der Blutentnahme bei den Gruppen mit unterschiedlicher GITRL-Expression durchgeführt. Hier zeigten die Patienten mit der niedrigsten GITRL-Expression ein 5-JÜR nach der Blutentnahme von 76,7 % (95 %-KI: 53,2 – 100) und ein 10-JÜR von 68,2 % (95 %-KI: 42,1 – 94,3), das mediane Überleben wurde nicht erreicht. Die Patienten mit einer GITRL-Expression > 1,49 SFI – 2,12 SFI zeigten ein 5-JÜR von 65 % (95 %-KI: 39,7 – 90,3), ein 10-JÜR von 46,4 % (95 %-KI: 18,2 – 74,6) und ein medianes Überleben von 107,99 Monaten (95 %-KI: 45,41 – 170,58).

Bei den Patienten mit der dritthöchsten GITRL-Expression lag das 5-JÜR bei 81 % (95 %-KI: 61,4 – 100), das 10-JÜR bei 60,7 % (95 %-KI: 36 – 85,4) und das mediane Überleben wurde auch hier nicht erreicht.

In der Patientengruppe mit der höchsten GITRL-Expression lag ein 5-JÜR von 75,6 % (95 %-KI: 54,6 – 96,6) und ein 10-JÜR von 61,6 % (95 %-KI: 37,1 – 86,1) vor. Das mediane Überleben wurde auch hier nicht erreicht.

Die unterschiedlichen Überlebenszeiten zeigten sich im Log-Rank-Test jedoch als nicht signifikant ( $p=0,52$ ) (siehe Abbildung 27A).

Des Weiteren erfolgte eine Kaplan-Meier-Analyse bezüglich des TFS nach der Blutentnahme. Hier zeigte sich in der Gruppe mit der niedrigsten GITRL-Expression ein medianes TFS von 31,15 Monaten (95 %-KI: 4,99 – 57,3), ein 5-Jahres-TFS von 44,9 % (95 %-KI: 17,9 – 71,9) und ein 10-Jahres-TFS von 22,4 % (95 %-KI: 0 – 56,3) (siehe Abbildung 27A).

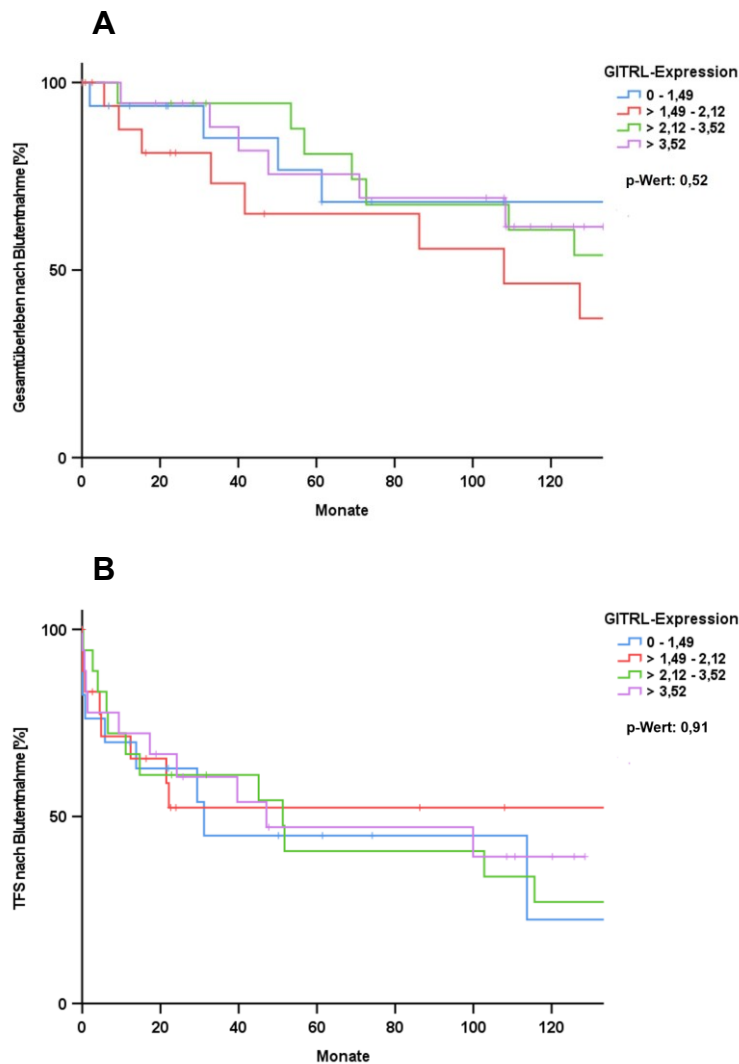
Die Patienten mit einer GITRL-Expression > 1,49 SFI – 2,12 SFI zeigten ein 5-Jahres-TFS von 52,4 % (95 %-KI: 28,1 – 76,7), das mediane TFS wurde nicht erreicht.

Bei den Patienten mit der dritthöchsten GITRL-Expression zeigte sich ein 5-Jahres-TFS nach der Blutentnahme von 40,7 % (95 %-KI: 16,6 – 64,8), ein 10-Jahres-TFS von 27,2 % (95 %-KI: 5,1 – 49,3) und ein medianes TFS von 51,29 Monaten (95 %-KI: 7,46 – 95,11) (siehe Abbildung 27A).

Das 5-Jahres-TFS nach der Blutentnahme lag in der Gruppe mit der höchsten GITRL-Expression bei 47,1 % (95 %-KI: 23 – 71,2), das 10-Jahres-TFS lag bei

### 3 Ergebnisse

39,3 % (95 %-KI: 14,8 – 63,8) und das mediane TFS nach der Blutentnahme lag in dieser Gruppe bei 47,11 Monaten (95 %-KI: 0 – 133,1). Das Ergebnis zeigte sich mit einem p-Wert von 0,91 als nicht signifikant (siehe Abbildung 27A).



**Abbildung 27: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A) und TFS (B) nach der Blutentnahme der Patientengruppen mit unterschiedlicher GITRL-Expression: SFI von GITR bestimmt mittels FACS**

### 3.3 Cox-Regression

In der folgenden multivariaten Cox-Regression wurde betrachtet, wie sich die unterschiedlichen Faktoren auf das Gesamtüberleben der untersuchten Patienten auswirkten. Hierin einbezogen wurden das Alter der Patienten bei der Erstdiagnose, das Geschlecht der Patienten, das Binet Stadium bei der Erstdiagnose, sowie die möglichen neuen Prognosefaktoren 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL.

## 3 Ergebnisse

4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL wurden als kontinuierliche Variablen ohne die Unterteilung in Gruppen mit niedriger und hoher Expression analysiert (siehe Abbildung 28).

### 3.3.1 Alter und Geschlecht

Aus der Cox-Regression bezüglich des Alters der Patienten ließ sich erkennen, dass je älter der Patient bei der Erstdiagnose war, desto höher war das Ereignisrisiko (HR=1,08; 95 %-KI: 1,02 – 1,13). Diese Erkenntnis zeigte sich mit einem p-Wert von 0,01 als signifikant.

In Hinsicht auf das Geschlecht zeigte die Cox-Regression, dass die männlichen Patienten ein 4,9 % niedrigeres Risiko hatten, ein Ereignis zu erleiden (HR=0,95; 95 %-KI: 0,38 – 2,36) als die Patientinnen. Das Ergebnis erwies sich als nicht signifikant ( $p=0,91$ ) (siehe Abbildung 28).

### 3.3.2 Binet-Stadien

Die Patienten, die sich bei der Erstdiagnose im Stadium B nach Binet befanden, zeigten in der Cox-Analyse ein höheres Ereignisrisiko (HR=2,27; 95 %-KI: 0,81 – 6,34) als die Patienten in Stadium A, dieser Unterschied zeigte sich als nicht signifikant ( $p=0,12$ ). Die Patienten im Initialstadium C hingegen zeigten ein niedrigeres Ereignisrisiko als die Patienten in Stadium A (HR=0,14; 95 %-KI: 0,01 – 3,31), jedoch erwies sich dieses Ergebnis ebenfalls als nicht signifikant ( $p=0,22$ ) (siehe Abbildung 28).

### 3.3.3 4-1BB und 4-1BBL

In der hier durchgeführten Cox-Regression erwies sich die Expression von 4-1BB als signifikanter Parameter für die Überlebenswahrscheinlichkeit ( $p=0,03$ ). So zeigte sich, dass bei den hier untersuchten Patienten eine höhere 4-1BB-Expression mit einem niedrigeren Risiko für das Ereignis Tod verbunden war (HR=1,81; 95 %-KI: 1,05 – 3,14) (siehe Abbildung 28).

Die erhöhte Wahrscheinlichkeit des Ereigniseintritts Tod bei einer höheren Expression von 4-1BBL (HR=1,05; 95 %-KI: 0,94 – 1,17) erwies sich als nicht signifikant ( $p=0,39$ ) (siehe Abbildung 28).

### 3 Ergebnisse

#### 3.3.4 GTR und GITRL

Es wurde festgestellt, dass eine höhere Expression von GTR auf den CLL-Zellen bei den hier untersuchten Patienten zu einer erhöhten Überlebenswahrscheinlichkeit führte (HR=0,56; 95 %-KI:0,33 – 0,95), diese Feststellung zeigte sich mit einem p-Wert von 0,03 als signifikant (siehe Abbildung 28).

Die Cox-Regression für die GITRL-Expression erwies sich als nicht signifikant ( $p= 0,26$ ). Somit konnte nicht gezeigt werden, dass, wie bei einer HR von 1,12 (95 %-KI: 0,92 – 1,35) erwartet, eine höhere Expression von GITRL zu einer niedrigeren Überlebenswahrscheinlichkeit führt (siehe Abbildung 28).

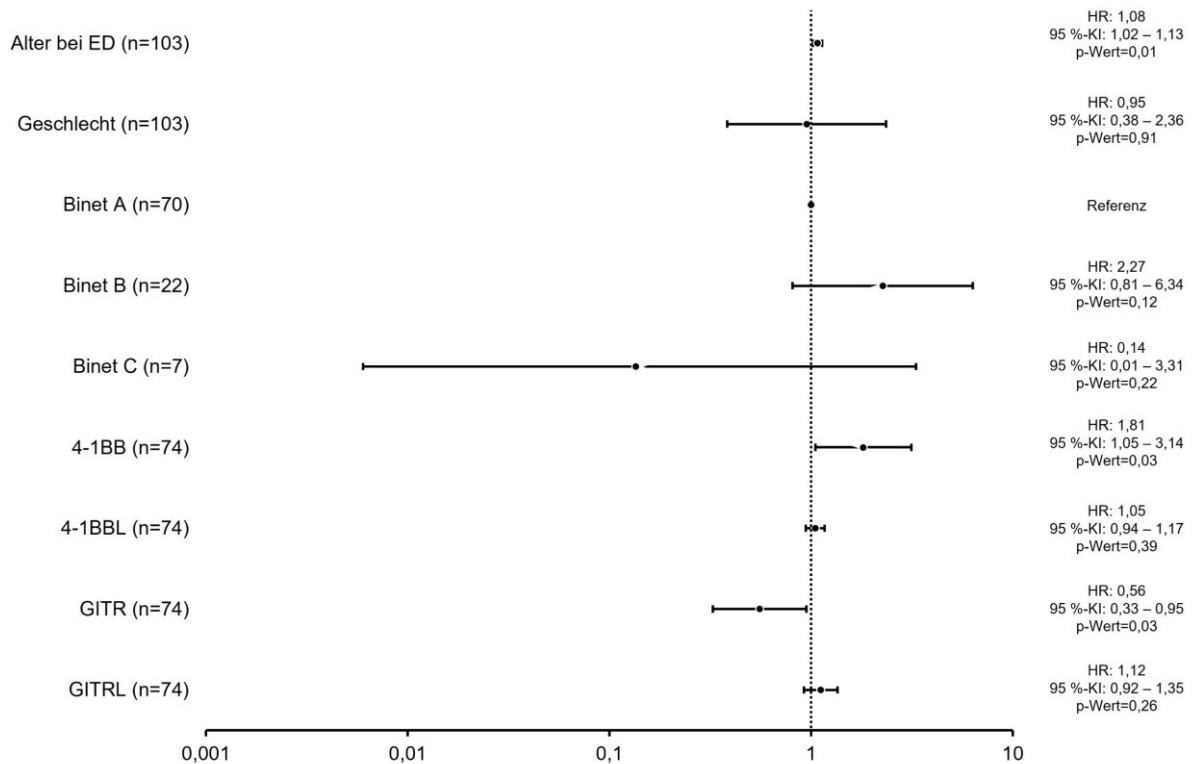


Abbildung 28: Forest Plot zur Cox-Regression für das OS; HR=Hazard Ratio; 95 %-KI=95 %-Konfidenzintervall.

### 4 Diskussion

Aufgrund der Entwicklung der therapeutischen Möglichkeiten zur Behandlung der CLL in den letzten Jahren gewinnen prognostische Marker zunehmend an Bedeutung. Die bisherige Bestimmung prognostischer Scores, wie z.B. des CLL-IPI-Scores, erfordert die Analyse genetischer Marker, was kostenintensiv ist. Zudem erwiesen sich diese genetischen Marker im Verlauf der Erkrankung nicht immer als konstant.<sup>54</sup> Dies führt häufig dazu, dass solche teuren prognostischen Marker selten oder gar nicht bestimmt werden.

Da die Diagnose der CLL weiterhin auf der Immunphänotypisierung der peripheren Lymphozyten basiert<sup>19</sup> würden prognostische Marker, die auch durch dieses Verfahren bestimmt werden, einen großen Vorteil mit sich bringen, da sie schnell und kostengünstig zu bestimmen wären.

Ziel dieser Arbeit ist es, vier dieser potenziellen prognostischen Marker (4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL), die durch Immunphänotypisierung bestimmbar sind, auf ihre prognostische Aussagekraft hin zu untersuchen. Hierzu wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen der Höhe der 4-1BB-, 4-1BBL-, GITR- und GITRL-Expression auf den CLL Zellen mit dem OS, TFS und TFS nach Rituximab der Patienten untersucht.

Des Weiteren wurden anhand der etablierten Prognosefaktoren weitere Überlebenszeitanalysen durchgeführt.

#### 4.1 Erkrankungsalter

Das mediane Erkrankungsalter der CLL-Patienten in Deutschland liegt laut RKI<sup>140</sup> und der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie<sup>8</sup> zwischen 70 und 75 Jahren. Das mediane Erkrankungsalter der hier untersuchten Patienten lag mit 62 Jahren ca. 10 Jahre unter diesem Wert. Ein Erklärungsansatz hierfür könnte eine Stichprobenverzerrung sein. Diese wird hervorgerufen durch die Tatsache, dass die Patienten aus der hier durchgeführten Studie alle in einer Universitätsklinik behandelt wurden. Jüngere Patienten werden dank ihres besseren Allgemeinzustands häufiger in Studien mit neuen Therapiekonzepten eingeschlossen<sup>141</sup> und diese Studien werden vorwiegend an Universitätskliniken durchgeführt. Eine weitere Erklärung für die Altersdifferenz zwischen den

hier untersuchten Patienten und der Vergleichsgruppe der deutschen Patienten könnte die Manifestationsart der CLL sein. Wie in Kapitel 1.2.2 beschrieben, handelt es sich bei der CLL meist um eine Zufallsdiagnose, die durch eine Lymphozytose auffällig wird. Es ist demnach davon auszugehen, dass die Patienten der Vergleichsgruppe schon einen geraumen Zeitraum vor der Erstdiagnose an der Erkrankung leiden.

Wie schon zuvor in diversen Studien gezeigt, stellte das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose einen signifikanten unabhängigen Prognosefaktor dar.<sup>142–144</sup> Erklärt wird dies durch den besseren Allgemeinzustand der jüngeren Patienten. Sie leiden seltener an Komorbiditäten und sind hierdurch in der Lage aggressivere und in der Regel besser wirksame Therapieregime zu erhalten. Außerdem erfüllen sie häufiger die Einschlusskriterien für Studien und sind damit neueren, möglicherweise effektiveren Behandlung früher zugänglich.<sup>141</sup> Ältere Patienten hingegen vertragen diese aggressiven Therapieregime meist schlechter und erhalten deshalb weniger intensive Therapien, die seltener zu Remissionen und damit einem schlechteren OS führen.<sup>18,67,145</sup>

### 4.2 Geschlechterverteilung

Die Geschlechterverteilung der Patientenkohorte betrug 37,9 % Frauen und 62,1 % Männer. Dies entspricht ungefähr der gleichen Verteilung, die auch im Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016 vom Robert-Koch-Institut<sup>140</sup> veröffentlicht wurde (58,8 % Männer und 42,2 % Frauen). Auch Dores et al<sup>9</sup> veröffentlichten 2007, dass 58,6 % der an CLL erkrankten Personen Männer sind und nur 41,4 % Frauen.

Weitere Studien zeigten, dass Frauen nicht nur seltener an einer CLL erkranken, sondern, dass sie nach Auftreten der Erkrankung auch ein signifikant längeres OS aufweisen als Männer.<sup>143,146</sup> Dies mag zum einen daran liegen, dass Frauen im Allgemeinen eine höhere Lebenserwartung haben als Männer, jedoch zeigten weitere Untersuchungen, dass erkrankte Männer weit häufiger an einer Hochrisiko-CLL leiden als erkrankte Frauen. So zeigten Frauen mit einer IGVH-Hypermutation zwar immer noch ein signifikant längeres Überleben als Männer, die

dieselbe Hypermuation aufwiesen, jedoch konnte bei Frauen und Männern die beide keine IGVH-Hypermuation aufwiesen kein signifikanter Unterschied in der Gesamtüberlebenszeit festgestellt werden.<sup>146</sup> Dieser Befund konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden, da die Männer in der vorliegenden multivariaten Analyse kein signifikant niedrigeres Gesamtüberleben aufwiesen als die Frauen. Genauere Analysen der geschlechtsspezifischen Verteilung der Risikofaktoren (IGVH-Mutationsstatus, TP53-Mutationsstatus, genomische Aberrationen, ZAP70 etc.) könnten mögliche Erklärungsansätze für diese Abweichung von den allgemeinen Befunden liefern. Da solche Informationen in der vorliegenden Studie jedoch nur sehr eingeschränkt zur Verfügung standen, wurden keine Analysen in diese Richtung durchgeführt.

### 4.3 Gesamtüberleben

Laut der deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie<sup>8</sup> beträgt das 5-JÜR bei einer Erkrankung mit einer CLL ca. 73,2 % für Frauen und 71,2 % für Männer. Bei Shvidel et al.<sup>147</sup> zeigte sich 2011 in einer retrospektiven Studie mit 1325 Patienten in Israel ein medianes Überleben von 10,9 Jahren. Das analysierte Patientenkollektiv zeigte mit einem 5-JÜR von ca. 93 % und einem medianen Überleben von 292,94 Monaten (24,41 Jahre) ein wesentlich längeres Gesamtüberleben. Dies entspricht ungefähr den Erkenntnissen von Weide et al.<sup>148</sup>, die in ihrer Studie mit 724 deutschen Patienten eine 5-JÜR von 98 % feststellten. Ein Grund für diese Abweichungen von anderen Studien und Erkenntnissen ist wahrscheinlich erneut eine Stichprobenverzerrung durch die Behandlung an einer Universitätsklinik. Außerdem spielt das relativ junge Erkrankungsalter der Patienten in der hier durchgeführten Untersuchung eine Rolle, da diese wie zuvor bereits erwähnt ein längeres OS zeigen als Patienten, die erst in einem höheren Alter erkranken.<sup>142-144</sup> Außerdem fand die israelische Studie von 1970 – 2010 statt, das bedeutet rund 20 Jahre vor der hier durchgeführten Studie (1993 – 2019). Weide et al.<sup>148</sup> hingegen untersuchten mit ihrer Studie Patienten zwischen 1995 und 2017 und kommen auf ein ähnliches Ergebnis wie das Ergebnis der in dieser Arbeit besprochenen Studie. Diese Auswirkung des Untersuchungszeitraums auf das OS wird unterstützt durch Brenner et al.<sup>149</sup>, die 2008

zeigten, dass die 5-JÜR von CLL-Patienten in den USA zwischen den 1980er Jahren und den 2000er Jahren von 54,2 % auf 60,2 % anstieg. Weide et al.<sup>148</sup> wiesen zwischen 1995 und 2017 einen weiteren Anstieg des 5-JÜR nach. Diese positive Entwicklung im Laufe der Zeit ist mit der Verbesserung der Therapiemöglichkeiten zu erklären. Sowohl die Einführung der CD20-Antikörper als Kombinationspartner für die Chemotherapien im Jahr 2009, als auch die seit 2014 zugelassenen *small molecules* brachten für die Patienten einen erheblichen Vorteil bezüglich des OS.<sup>69,70,150</sup>

### 4.4 Therapiefreies Überleben

Da bei einem an CLL erkrankten Patienten in asymptomatischen, frühen Stadien weiterhin das *watchful waiting* Regime zum Einsatz kommt<sup>19</sup>, ist das Spektrum des PFS sehr groß. Es kann sich zwischen bereits bestehender Therapieindikation zum Zeitpunkt der Erstdiagnose und niemals eintretender Therapieindikation bewegen. Jain et al.<sup>151</sup> veröffentlichten 2015 in einem Review, dass die durchschnittliche Zeit zwischen der Erstdiagnose der CLL und der ersten Therapie, bei US-amerikanischen Patienten, vier bis fünf Jahre beträgt. In der untersuchten Gruppe betrug die durchschnittliche Dauer bis zur ersten Therapie 148,61 Monate (12,4 Jahre), das mediane TFS lag bei 100,90 Monaten (8,4 Jahre). *The international CLL-IPI working group*<sup>54</sup> kam mit ca. sieben Jahren, bei den Patienten, die sich in den Gruppen *low and intermediate risk* befanden, auf ein ähnliches PFS wie in der hier gezeigten Untersuchung. Wenn man die Tatsachen miteinbezieht, dass sich 70,7 % der hier untersuchten Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose im Binet Stadium A befanden, ca. 93 % der Patienten, die auf eine TP53-Mutation untersucht wurden, keine solche aufwiesen und sich das mediane Alter der Patienten bei 62 Jahren befand, könnte ein Vergleich mit den Ergebnissen der *The international CLL-IPI working group* möglich sein. Jedoch muss auch beachtet werden, dass die tatsächliche Berechnung des CLL-IPI-Scores wegen mangelnder Daten nur bei sehr wenigen der hier untersuchten Patienten möglich war. Dies liegt wahrscheinlich vorwiegend daran, dass die Analyse der einzelnen Risikofaktoren, die zur Bestimmung des CLL-IPI-

Scores notwendig sind, sehr aufwendig ist bzw. bei ED häufig noch nicht verfügbar war.

Insgesamt stellte sich die Datenlage in Studien über das PFS einer Patientengruppe, die nicht zuvor nach bestimmten Prognosefaktoren sortiert wurde als dünn heraus.

Letestu et al.<sup>152</sup> stellten in ihrer Studie über die Stärken der Routine Prognosefaktoren ein medianes PFS von 112 Monaten fest. Allerdings definierten sie das PFS als Zeitraum zwischen der Diagnose und dem Progress in das nächsthöhere Binet Stadium, während es sich in dieser Arbeit um das TFS, sprich den Zeitraum zwischen der Erstdiagnose und dem Beginn der ersten Therapie handelt. Da sich jedoch die Kriterien für einen Progress in ein höheres Binet Stadium teilweise mit den Kriterien der Therapieindikation überschneiden (siehe Kapitel 1.2.3)<sup>19,22</sup> kann eine, wenn auch nur eingeschränkte, Vergleichbarkeit zwischen den hier hervorgebrachten Ergebnissen für das TFS und denen von Letestu et al.<sup>152</sup> für das PFS hergestellt werden.

### **4.5 Therapiefreies Überleben nach Rituximab**

Unterschiedliche Studien zeigten, dass das mediane PFS nach einer Therapie mit Rituximab zwischen 42 und 80 Monaten liegt.<sup>69,100,153–155</sup>

In dieser Arbeit zeigten die Patienten nach einer Therapie mit Rituximab ein medianes TFS von 57,5 Monaten und bestätigten damit die Ergebnisse anderer Studien. Bezüglich des 3 - 6-Jahres-PFS zeigten die hier untersuchten Patienten leicht abweichende Ergebnisse von denen der anderen Studien.<sup>69,153,155</sup> Bei Hallek et al.<sup>69</sup> lag das 3-Jahres-PFS bei 65 %, bei Abrisqueta et al.<sup>155</sup> lag das 4-Jahres-PFS bei 74,8 % und bei Tam et al.<sup>153</sup> lag das 6-Jahres-PFS bei 60 %. Mögliche Gründe für die abweichenden Ergebnisse in der hier untersuchten Gruppe (5 Jahres-TFS 49,3 %) sind die Einschränkungen, die eine kleine Patientenzahl mit sich bringt. So erhielten nur 46 der in dieser Arbeit untersuchten Patienten eine Therapieregime, in welches Rituximab inkludiert wurde. Außerdem wurde in der hier durchgeführten Untersuchung nicht differenziert, ob die Patienten Rituximab als Erstlinientherapie oder als Zweit- bzw. Drittlinientherapie

erhielten, da zum Zeitpunkt der ersten Therapieindikation einem Teil der Patienten, Rituximab als Therapieform noch nicht zur Verfügung stand.

### **4.6 Stadieneinteilung nach Binet und Rai**

Seit Jahrzehnten werden CLL-Erkrankungen anhand der Binet- und Rai-Klassifikationen in prognostische Stadien eingeteilt.<sup>22,23</sup> Durch die klinisch relativ einfache Bestimmung der Kriterien (siehe Kapitel 1.2.3), die die Einteilung in die verschiedenen Binet und Rai Kriterien möglich macht, wird bis heute bei jedem Patienten eine Bestimmung des Binet oder Rai Stadiums durchgeführt.

Gemäß Rai et al.<sup>23</sup> aus dem Jahr 1975 erfolgt die Einteilung in fünf Stadien (0 – IV) . Zur Vereinfachung dieser Einteilung können die fünf Kategorien in drei Risikogruppen zusammengefasst werden (siehe Kapitel 1.2.3).

Binet et al.<sup>22</sup> veröffentlichten ihre Stadieneinteilung im Jahre 1981. Anders als bei der Stadieneinteilung nach Rai erfolgt die Stadieneinteilung nach Binet nicht in fünf, sondern in drei unterschiedliche Kategorien.

Wie in Kapitel 1.2.3 erwähnt ist sowohl durch die Einteilung nach Rai als auch durch die Einteilung nach Binet keine Aussage über den weiteren Verlauf der Erkrankung möglich.<sup>12</sup>

Die hier untersuchten Patienten zeigten in niedrigen Rai und Binet Stadien in der Kaplan-Meier-Analyse kein signifikant längeres Überleben und in der multivariaten Cox-Regression kein signifikant geringeres Risiko für das Ereignis Tod als die Patienten in höheren Stadien. Die Gründe hierfür könnten die Limitationen einer retrospektiven Studie sein. Da die Patienten zu sehr unterschiedlichen Zeitpunkten ihre Erstdiagnose erhielten (teilweise Jahrzehnte voneinander entfernt) wurden die körperlichen Untersuchungen zur Bestimmung der Binet und Rai Stadien von vielen unterschiedlichen Personen durchgeführt, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse erschweren kann. Zudem gab es Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Erstdiagnose kein Binet oder Rai Stadium bestimmt wurde. Bei diesen Patienten wurde anhand der Untersuchungsergebnisse, die in den Arztbriefen dokumentiert waren, versucht das Binet oder Rai Stadium im Nachhinein zu rekonstruieren. Diese Methode ist wesentlich fehleranfälliger, als wenn die

körperliche Untersuchung immer von derselben Person durchgeführt wird. Trotzdem lebten die Patienten in Stadium B und die Patienten mit einem intermediären Risiko nach Rai kürzer als die Patienten in Stadium A bzw. den Patienten mit einem niedrigen Risiko nach Rai. Nur die Patienten in Stadium C zeigten ein längeres medianes Überleben als die Patienten, die sich zum Zeitpunkt der Erstdiagnose in Stadium B befanden. Bei der Analyse nach Rai Stadien zeigten die Patienten in der Gruppe mit dem höchsten Risiko das längste Überleben. Dies liegt wahrscheinlich daran, dass sich zum Zeitpunkt der Erstdiagnose nur 7 von 99 Patienten (7,10 %) in Stadium C befanden und nur 8 von 82 Patienten (9,86 %) in der Gruppe mit dem höchsten Risiko nach Rai.

Die in dieser Arbeit untersuchten Patienten in Stadium A zeigten wie bei Binet et al.<sup>22</sup> ein medianes Überleben von weit über 10 Jahren. Die Patienten mit Stadium B zeigten mit 152,1 Monaten (ca. 12,7 Jahre) medianem Überleben ein wesentlich längeres Überleben als die Patienten bei Binet et al.<sup>22</sup> Auch die Patienten mit dem niedrigeren Risiko in der Stadieneinteilung nach Rai zeigten ein wesentlich längeres medianes Überleben als die Patienten in den gleichen Gruppen in der Studie von Rai et al.<sup>23</sup>. Erklärbar ist dies durch die unterschiedlichen Beobachtungszeiträume. Während in den 1970er Jahren vorwiegend Chlorambucil als Chemotherapeutikum verwendet wurde, erhielten die Patienten in dieser Untersuchung meist neuere Therapieregime, die zu einem deutlich längeren OS führen.<sup>66,67</sup>

### **4.7 CD38-Expression, IGVH-Mutationsstatus und TP53-Mutation**

Das transmembranöse Glykoprotein CD38 stellt einen prognostischen Faktor in der CLL dar. Mehrere Studien zeigen, dass Patienten mit einer erhöhten CD38-Expression ein kürzeres OS und PFS zeigen als Patienten mit einer niedrigen CD38-Expression.<sup>10,32,34</sup> Dies konnte auch in dieser Arbeit bestätigt werden.

Die hier durchgeführte Untersuchung zeigte bezüglich des medianen OS ähnliche Überlebenswahrscheinlichkeiten wie in der Studie von Damle et al.<sup>10</sup>. Dort zeigten die Patienten mit einer CD38-Expression < 30 % ein medianes Überleben, das innerhalb des Beobachtungszeitraums nicht erreicht wurde und die Patienten mit einer CD38-Expression ≥ 30 % ein medianes Überleben von ca. 10

## 4 Diskussion

Jahren. In der hier analysierten Patientengruppe zeigten die Patienten mit einer CD38-Expression  $< 30\%$  auch ein medianes Überleben, das im Beobachtungszeitraum nicht erreicht wurde und die Patienten mit einer CD38-Expression  $\geq 30\%$  zeigten ein medianes Überleben von ca. 13 Jahren (162,62 Monate). Die CD38-Expression mit einem cut-off-Wert von  $\geq 30\%$  konnte als prognostischer Faktor bestätigt werden auch, wenn dieser inzwischen kontrovers diskutiert wird.<sup>32,40</sup>

Ca. 50 – 60 % aller CLL-Patienten weisen eine IGVH-Hypermutation auf. Mehrere Studien zeigten, dass das Vorliegen der IGVH-Hypermutation ein unabhängiger positiver Prognosefaktor für die CLL ist.<sup>10,31,32,34</sup> So zeigen Patienten mit einer IGVH-Hypermutation ein längeres OS und PFS.<sup>29</sup>

Zusammen mit diversen genetischen Aberrationen zählt der IGVH-Mutationsstatus heutzutage zu den stärksten Prognosefaktoren der CLL.<sup>34</sup>

Durch die teure und labortechnisch aufwendige Bestimmung des IGVH-Mutationsstatus wurde diese Untersuchung jedoch nur bei relativ wenigen Patienten in der klinischen Routine durchgeführt.<sup>35</sup> Zudem wurde der IGHV-Mutationsstatus als prognostischer Marker erst Ende der 1990er-Jahre bzw. zu Beginn der 2000er-Jahre etabliert,<sup>10,31</sup> weshalb zum Zeitpunkt der Erstdiagnose viele der hier untersuchten Patienten eine Bestimmung des IGHV-Mutationsstatus noch nicht möglich war. Diese Tatsache zeigte sich auch bei den hier untersuchten Patienten, so wurde nur von 35 der 103 Patienten in dieser Untersuchung der IGVH-Mutationsstatus bestimmt. Wie anhand vorheriger Studien zu erwarten, wies auch hier zwischen 50 und 60 % (57,1 %) dieser 35 Patienten eine IGVH-Hypermutation auf. Trotz dieser kleinen Gruppe an Patienten zeigten die Patienten mit einer IGVH-Hypermutation ein signifikant längeres OS als die Patienten, die keine IGVH-Hypermutation aufwiesen ( $p=0,002$ ). Bezüglich des medianen Überlebens zeigten sich in der hier behandelten Studie ähnliche Ergebnisse wie 1999 bei Hamblin et al.<sup>31</sup>. Die IGVH unmutierten Patienten von Hamblin et al.<sup>31</sup> lebten im Median 117 Monate und die IGVH hypermutierten 293 Monate. Die hier untersuchten IGVH unmutierten Patienten zeigten ein medianes Überleben von 60,6 Monaten und die IGVH hypermutierten Patienten ein medianes

Überleben von 293,3 Monaten. Hiermit bestätigte sich die prognostische Funktion des IGVH-Mutationsstatus.

Eine weitere prognostisch wichtige Mutation ist die TP53 Mutation.<sup>51,53</sup> Die Mutation, die in engem Zusammenhang mit der Deletion 17p13 steht, wird mit einem kürzeren OS, PFS, einer schlechteren Wirksamkeit von Chemotherapeutika und einem häufigeren Auftreten von Richter-Transformationen assoziiert.<sup>50,53</sup>

Obwohl nur von 41 der hier untersuchten Patienten der TP53-Mutationsstatus bestimmt wurde, bestätigte sich, dass die Patienten mit einer TP53-Mutation ein signifikant kürzeres OS zeigen als die Patienten ohne eine TP53-Mutation ( $p=0.024$ ). Ähnlich wie bei Zenz et al.<sup>51</sup> 2010 (8,5 %) zeigten auch hier 7,3 % der 41 Patienten eine TP53-Mutation. Das mediane Überleben der Patienten war jedoch sowohl in der Gruppe der Patienten mit einer TP53-Mutation (86,6 Monate) als auch in der Gruppe der Patienten ohne eine TP53-Mutation (medianes Überleben nicht erreicht) wesentlich länger als das der Patienten bei Zenz et al.<sup>51</sup> (mit TP53-Mutation 29,2 Monate, ohne TP53-Mutation 84,6 Monate).

Wie für IGHV und CD38 konnte die Rolle als prognostischer Marker in der CLL auf für den TP53-Mutationsstatus bestätigt werden.

### **4.8 4-1BB und 4-1BBL**

Wie schon in Kapitel 1.4.3 erwähnt, wurde die Bedeutung von 4-1BB/4-1BBL bislang vorwiegend bezüglich seiner Funktion bei der T-Zell-Aktivierung untersucht. Hierbei führt eine Aktivierung von 4-1BB zu einer verstärkten Produktion von IL-2 durch die Effektor-T-Zellen, die dann wiederum zu einer Verstärkung der Proliferation und zytotoxischen Wirkung führt.<sup>116,121</sup>

Bei den B-Zellen beeinflusst 4-1BB/4-1BBL die Affinitätsreifung, Proliferation und Immunglobulinproduktion.<sup>124</sup> Es wurde gezeigt, dass eine erhöhte 4-1BB-Expression auf CLL-Zellen zu einer verstärkten Aktivierung des NF- $\kappa$ B-Signalweg führt. Diese Aktivierung führt zu einer erhöhten Proliferation und einem verlängerten Überleben der CLL-Zellen.<sup>156</sup>

Der NF- $\kappa$ B-Signalweg wird auch durch den BCR-Signalweg ausgelöst und dieser wird unter anderem speziell durch die Brutonkinase beeinflusst.<sup>157</sup> Wie in Kapitel

1.3.2 bereits ausgeführt wurde, haben Inhibitoren des BCR-Signalwegs in den letzten Jahren zu durchschlagenden Erfolgen bei der Therapie der CLL geführt. Ein Beispiel hierfür ist Ibrutinib, bei dem es sich um einen Brutonkinase-Inhibitor handelt. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass eine erhöhte Expression von 4-1BB auf den CLL-Zellen<sup>158</sup> möglicherweise zu einer verstärkten Aktivierung des NF- $\kappa$ B-Signalwegs führt und damit zu einem kürzeren OS dieser Patienten. Genau dieses Phänomen des signifikant kürzeren OS der Patienten mit einer erhöhten 4-1BB-Expression auf den CLL-Zellen konnte in der hier durchgeführten Untersuchung ebenfalls nachgewiesen werden. Hierfür wurde als cut-off-Wert entsprechend der Studie von Schmoehl et al.<sup>127</sup> ein SFI von 1,2 verwendet. Zudem zeigten die Patienten mit einer höheren 4-1BB-Expression ein signifikant höheres Risiko für das Ereignis Tod als die Patienten mit einer niedrigeren 4-1BB-Expression. Das Ergebnis des kürzeren OS und des höheren Risikos für Tod bei erhöhter 4-1BB-Expression auf CLL-Zellen steht im Widerspruch zur Bedeutung der erhöhten Expression von 4-1BB auf den malignen Zellen der AML, in welcher eine erhöhte 4-1BB-Expression auf den AML-Blasten mit einem längeren krankheitsfreien Überleben und einem niedrigeren Risiko für Tod assoziiert ist.<sup>127</sup> Dies ist möglicherweise mit der unterschiedlichen Biologie der Erkrankungen zu erklären.

Es konnte kein signifikanter Einfluss der Höhe der 4-1BBL-Expression auf den CLL-Zellen auf das OS der Patienten festgestellt werden. Das liegt eventuell am löslichen 4-1BBL der in unserer Untersuchung nicht analysiert wurde, denn Scholl et al.<sup>159</sup> wiesen nach, dass der lösliche 4-1BBL einen signifikanten Einfluss auf den Verlauf eines MDS (myelodysplastisches Syndrom) hat, während der zellgebundene 4-1BBL keinen Einfluss hat.

Choi et al.<sup>160</sup> zeigten, dass durch die Signaltransduktion von myeloiden Zellen periphere T-Zellen negativ reguliert werden. Durch diesen Mechanismus können CLL-Zellen möglichenfalls der T-Zell-Erkennung entgehen.

Des Weiteren beeinflussen CLL-Zellen durch 4-1BB/4-1BBL möglicherweise das microenvironment zu ihrem Vorteil. So führt die Signalwirkung von 4-1BB/4-1BBL auf den CLL-Zellen zur vermehrten Ausschüttung von IL-6, IL-8 und TNF<sup>126</sup>, die alle nachgewiesener Weise als negative Prognosefaktoren der CLL gelten.<sup>128–130</sup>

Außerdem führt TNF zu einer verstärkten Expression von 4-1BB auf den NK-Zellen.<sup>126</sup> Diese führte zwar bei Mäusen zu einer Aktivierung der NK-Zellen und damit einer Verstärkung der zytotoxischen Reaktion, beim Menschen trat jedoch in Form einer Unterdrückung der NK-Zell-Reaktion die genau gegenteilige Reaktion auf.<sup>125</sup>

Die durch TNF ausgelöste verstärkte Expression von 4-1BB auf den NK-Zellen führt zu einer verminderten natürlichen als auch Rituximab-induzierten Reaktion (Zytolyse, ADCC) der NK-Zellen.<sup>125</sup>

Diese negativen Wirkungen der 4-1BB-/4-1BBL-Expression auf den CLL-Zellen lässt die Schlussfolgerung aufkommen, dass die Patienten mit einer höheren Expression von 4-1BB und 4-1BBL nicht nur ein kürzeres OS, sondern auch ein kürzeres TFS aufweisen müssten. Zwar wiesen die Patienten mit einer höheren 4-1BB und 4-1BBL-Expression ein kürzeres medianes TFS auf als die Patienten mit einer niedrigeren Expression, jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant. Auch eine erwartete Verkürzung des TFS nach Rituximab durch die erhöhte 4-1BB-/4-1BBL-Expression und der daraus folgenden verminderten ADCC erwies sich als nicht signifikant.

### 4.9 GITR und GITRL

GITR/GITRL weisen eine starke Homologie mit 4-1BB/4-1BBL auf. Wie auch bei 4-1BB/4-1BBL ist die Bedeutung von GITR/GITRL vorwiegend für die T-Zellen untersucht und nicht für andere Zellen. Bis jetzt ist nur bekannt, dass die Expression von GITR auf der Zelloberfläche steigt sobald Zellen aktiviert werden und Makrophagen durch die bidirektionale Signalgebung durch GITRL Signale zur Proliferation und Steigerung der Phagozytose erhalten.<sup>136</sup>

Bezüglich der T-Zellen trägt die kostimulierende Wirkung von GITR dazu bei T-Zellen zu aktivieren und zu regulieren. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass eine Aktivierung von GITR durch agonistische Antikörper oder seinen Liganden GITRL zu einer Steigerung der Zytokinproduktion sowie zu einer Beeinflussung der Proliferation und Differenzierung der T-Zellen führt. Aus diesem Grund wird GITR in Untersuchungen immer wieder als Angriffspunkt für agonistische Antikörper genutzt, um die Anti-Tumorimmunität zu steigern.<sup>134,135</sup>

## 4 Diskussion

Liu et al.<sup>161</sup> zeigten, dass Plasmozytom Patienten mit einer niedrigen GITR-Expression auf den Myelomzellen ein signifikant verkürztes OS aufweisen. Diese Beobachtung wird dadurch erklärt, dass GITR den NF- $\kappa$ B-Signalweg in Myelomzellen herunterreguliert, was zu einer Hemmung der Zellproliferation und zur Induktion von Apoptose führt. Passend zu diesem Ergebnis zeigten die Patienten mit einer erhöhten GITR-Expression in der Cox-Regression ein signifikant geringeres Risiko für das Ereignis Tod als die Patienten mit einer niedrigeren GITR-Expression. In der Kaplan-Meier-Analyse zeigten die Patienten mit der höchsten GITR-Expression auch ein signifikant längeres Überleben, jedoch zeigten die Patienten in der Gruppe mit der mittleren GITR-Expression ( $> 1,39$  SFI –  $1,7$  SFI) das kürzeste Überleben. Hier ist anzumerken, dass die Cox-Regression mehr Einflussfaktoren (Alter, Binet etc.) berücksichtigt als die Kaplan-Meier-Analyse und deshalb aussagekräftiger ist. Das längere OS der Patienten mit der höchsten GITR-Expression lässt die Vermutung naheliegen, dass auch das TFS und das TFS nach Rituximab der Patienten mit erhöhter GITR-Expression länger sein sollte als dies der Patienten mit niedrigerer GITR-Expression. Hier konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Für die Kaplan-Meier-Analysen wurden als SFI-cut-off-Werte die SFI von GITR in Terzile unterteilt. Hätte eine Einteilung entsprechend des SFI-cut-off-Werts von Buechele et al.<sup>138</sup> ( $> 1,5$  SFI) stattgefunden, so hätte dies zu einem starken Ungleichgewicht der Patientenzahl in den einzelnen Gruppen geführt. Um einen möglichst differenzierten Blick auf die unterschiedlichen Überlebenszeiten zu werfen, wurde bei GITRL eine Einteilung anhand der Quartile in die einzelnen untersuchten Gruppen gewählt.

Die Auswirkung von GITR/GITRL auf die regulatorischen T-Zellen ist noch unklar. Während im Mausmodell eindeutig nachgewiesen wurde, dass durch GITR/GITRL-Aktivierung die suppressive Funktion der Treg Zellen geschwächt wird<sup>162</sup>, war dies beim Menschen nicht möglich<sup>163</sup>. Nur Bianchini et.al<sup>164</sup> konnten 2011 eine kleine Population an  $CD4^+CD25_{low}GITR^+$  T-Zellen nachweisen, die sich als regulatorisch erwiesen und deren regulatorische Funktion durch die Aktivierung von GITR supprimiert wurde. Eine weitere Theorie ist, dass die Effektor-T-Zellen durch die Aktivierung von GITR gegen die regulatorischen Signale der

Treg-Zellen resistent werden und die Treg-Zellen durch GITR zur Proliferation stimuliert werden.<sup>133</sup>

In der CLL zeigen sich die Treg-Zellen erhöht und unterdrücken die natürliche und Rituximab-induzierte Reaktion der NK-Zellen gegen die malignen B-Zellen.<sup>165</sup> Ein weiterer Punkt in dem 4-1BB und GITR bezüglich ihrer Funktion ähnliche Effekte zeigen ist die Bedeutung für die NK-Zellen. Büchele et al.<sup>138</sup> zeigten, dass CLL-Patienten eine signifikant erhöhte Expression von GITR auf ihren NK-Zellen und eine erhöhte GITRL-Expression auf ihren CLL-Zellen aufweisen. Diese Kombination führt wieder zu einer stark verminderten Zytolyse und ADCC gegen die CLL-Zellen. Außerdem kommt es dadurch zu einer vermehrten Ausschüttung von IL-6, IL-8 und TNF durch die CLL-Zellen. Diesen Effekt der verminderten ADCC durch vermehrte GITRL-Expression auf den CLL-Zellen konnte in dieser Untersuchung nicht nachgewiesen werden, da eine erhöhte GITRL-Expression keinen signifikanten Unterschied bezüglich des OS, TFS oder TFS nach Rituximab zeigte.

### **4.10 Limitationen**

Aufgrund von mangelnder Patientendaten erfolgte keine statistische Analyse der ZAP70 Bestimmung, des CLL-IPI-Scores und der  $\beta$ -2-Mikroglobulinkonzentration. Da bei über der Hälfte der Patienten, bei denen eine zytogenetische Analyse durchgeführt wurde, keine Aussage über die Einordnung in die Zytogenetik Klassifikation möglich war wurde auch hier keine weitere statistische Analyse durchgeführt. Zudem erfolgte keine genauere Analyse der CLL-Population, da aus den erhobenen Daten nur eine relative Analyse der Population möglich war.

### **4.11 Fazit und Ausblick**

Diese Arbeit liefert erste Hinweise, dass sowohl die 4-1BB-Expression als auch die GITR-Expression eine Rolle für die Prognose der CLL spielen kann. Obwohl die beiden Faktoren eine starke Homologie der Aminosäure Sequenzen aufweisen, zeigt sich, dass sich eine niedrige 4-1BB-Expression positiv auf die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten auswirkt, während sich bei GITR eine hohe Expression positiv auf das Überleben der Patienten auswirkt. Somit überwiegt

## 4 Diskussion

bei 4-1BB die Aktivierung des NF- $\kappa$ B-Signalwegs<sup>156</sup>, während bei GITR die Hemmung des NF- $\kappa$ B-Signalwegs überwiegt<sup>161</sup>. Für die Bedeutung von 4-1BB und GITR für das TFS der Patienten, sowie das TFS nach Rituximab konnten keine signifikanten Ergebnisse festgestellt werden. Dies sollte in weiteren Untersuchungen überprüft werden. Das Gleiche gilt auch für die Bedeutung von 4-1BBL und GITRL bezüglich des OS, TFS und TFS nach Rituximab. Die zu erwartenden Effekte, konnten in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden.

Insgesamt sollten zur Bestätigung der hier erhaltenen Ergebnisse weitere, idealerweise auch prospektive Studien folgen, die die Expression von 4-1BB und GITR auch auf einen Zusammenhang mit bereits etablierten Prognosefaktoren der CLL hin überprüfen. Weitere Forschungspunkte sind außerdem die Bedeutung von 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL für andere Zelltypen als T-Zellen und die genaue Funktionsweise hinter diesen Bedeutungen. Hierdurch wäre es möglich, dass die Expression von 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL als günstige und einfach zu bestimmende prognostische Faktoren der CLL etabliert werden können.

### 5 Zusammenfassung

Die chronische lymphatische Leukämie (CLL) gilt als indolentes lymphozytisches Non-Hodgkin-B-Zell-Lymphom mit leukämischem Verlauf. Die Behandlungserfolge mit neuen Substanzen, wie z.B. Bruton-Tyrosinkinase-Inhibitoren, haben die Therapiemöglichkeiten der CLL deutlich verbessert. Dennoch ist die CLL nach wie vor nur durch eine allogene Stammzelltransplantation heilbar, und die meisten Patienten benötigen im Laufe der Zeit mehrere verschiedene Therapieregime, wobei der Verlauf von Patient zu Patient sehr heterogen ist. Um eine Aussage über den Krankheitsverlauf und das Risiko einer raschen Progression treffen zu können, werden prognostische Marker benötigt. In den letzten Jahren wurden verschiedene molekulare und genetische Marker identifiziert, die zusammen mit klinischen und demographischen Parametern zur Risikoabschätzung herangezogen werden können. Aufgrund der aufwendigen Bestimmung im Labor ist die Erhebung molekularer und genetischer Marker mit einem erheblichen finanziellen Aufwand verbunden. Daher ist es wichtig, einfacher zu bestimmende Marker zu entwickeln, um bereits bei der Diagnosestellung zu wissen, ob ein aggressiver Verlauf der CLL zu erwarten ist.

Ziel dieser Arbeit ist es, in einer CLL-Population von 103 Patienten, die zwischen 1993 und 2019 am Universitätsklinikum Tübingen behandelt wurden, die Assoziation zwischen etablierten prognostischen Markern (Binet- und Rai-Stadium, CD38-Expression, IGVH-Mutationsstatus, TP53-Mutationsstatus) und dem Gesamtüberleben zu überprüfen. Zusätzlich sollen in dieser Population die Oberflächenmarker 4-1BB/4-1BBL und G1TR/G1TRL als potentielle, leichter zu erhebbende prognostische Marker in der CLL-Erkrankung und deren Einfluss auf den Krankheitsverlauf untersucht werden.

Die Patientenpopulation wurde retrospektiv hinsichtlich des Gesamtüberlebens (OS), des therapiefreien Überlebens (TFS) und des TFS nach Rituximab untersucht. Die Datenerhebung erfolgte anhand der digitalen Patientenakten und der Immunphänotypisierung (4-1BB/4-1BBL und G1TR/G1TRL) der CLL-Zellen. Die Analyse der Überlebenszeit wurde mit Hilfe der Kaplan-Meier-Analyse durchgeführt und die ermittelte Signifikanz wurde mit Hilfe des Log-Rank-Tests analysiert. Zusätzlich wurde eine multivariate Cox-Regression durchgeführt.

## 5 Zusammenfassung

Entgegen den Erwartungen zeigte sich in der hier untersuchten Patientengruppe kein signifikanter Unterschied im Überleben zwischen den verschiedenen Binet- und Rai-Stadien. Für die oben genannten etablierten prognostischen Marker konnte der Einfluss auf das Überleben bestätigt werden. Für die Expression von 4-1BBL und GITRL zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Überleben und kein signifikanter Unterschied im TFS und TFS nach Rituximab. Für die 4-1BB- und GTR-Expression auf den CLL-Zellen konnte kein signifikanter Unterschied für das behandlungsfreie Überleben der Patienten und das behandlungsfreie Überleben nach Rituximab festgestellt werden. Allerdings hatten Patienten mit erhöhter 4-1BB-Expression ein signifikant kürzeres OS als Patienten mit niedriger 4-1BB-Expression. Dagegen hatten Patienten mit erhöhter GTR-Expression ein signifikant längeres Überleben als Patienten mit niedriger GTR-Expression. Diese Ergebnisse konnten mittels Cox-Regression bestätigt werden.

Das verkürzte OS von Patienten mit erhöhter 4-1BB-Expression könnte darauf zurückzuführen sein, dass eine erhöhte 4-1BB-Expression auf CLL-Zellen zu einer verstärkten Aktivierung des NF- $\kappa$ B-Signalwegs führt. Diese Aktivierung führt zu einer erhöhten Proliferation und einem verlängerten Überleben der CLL-Zellen, was letztendlich mit einem verkürzten OS der Patienten assoziiert ist.

Die Funktion von GTR auf B-Zellen und CLL-Zellen ist bisher nur unzureichend verstanden. Ein möglicher Erklärungsansatz für das längere OS von Patienten mit erhöhter GTR-Expression auf CLL-Zellen ergibt sich aus Erkenntnissen zur Rolle der erhöhten GTR-Expression auf Myelomzellen bei Patienten mit Plasmozytom. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass eine niedrige GTR-Expression auf Myelomzellen mit einem signifikant verkürzten OS der Patienten assoziiert ist. Diese Beobachtung wird dadurch erklärt, dass GTR den NF- $\kappa$ B-Signalweg in Myelomzellen herunterreguliert, was zu einer Hemmung der Zellproliferation und zur Induktion von Apoptose führt.

Somit überwiegt bei 4-1BB die Aktivierung des NF- $\kappa$ B-Signalwegs, während bei GTR die Hemmung des NF- $\kappa$ B-Signalwegs überwiegt. Hiermit konnten 4-1BB und GTR als potenzielle prognostische Marker für die CLL identifiziert und ggf. als Angriffspunkte für neue Substanzen genutzt werden. Die in dieser Arbeit

## 5 Zusammenfassung

gewonnenen Erkenntnisse bieten einen Ansatzpunkt für die weitere Entwicklung besser zugänglicher prognostischer Marker für die CLL.

## 6 Anhang

### 6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Altersverteilung und altersspezifische Inzidenz der chronisch lymphatischen Leukämie im Großraum München 2007 – 2020 .....	2
Abbildung 2: Erstlinientherapie bei CLL: Graphische Darstellung zur Entscheidungsfindung bei behandlungsbedürftiger CLL. ....	15
Abbildung 3: Dot Plot der CD19/CD38-positiven Zellen eines Patienten entnommen aus einem FACS zur Berechnung der CD38-Expression in % .....	32
Abbildung 4: Gating Strategie zur Identifizierung der toten Zellen und der CLL-Zellen (Abbildungen entnommen aus Kaban et al.) <sup>141</sup> .....	35
Abbildung 5: Exemplarische Darstellung der Gating Strategie zur Bestimmung der Rezeptor- und Ligandenexpression (Abbildungen entnommen aus Kaban et al.) <sup>141</sup> .....	36
Abbildung 6: Box Plot zur Darstellung der Expression von 4-1BB in der Patientengruppe .....	47
Abbildung 7: Box Plot zur Darstellung der Expression von 4-1BBL in der Patientengruppe .....	48
Abbildung 8: Box Plot zur Darstellung der Expression von GITR in der Patientengruppe .....	49
Abbildung 9: Box Plot zur Darstellung der Expression von GITRL in der Patientengruppe .....	50
Abbildung 10: Deskriptive Analyse des Gesamtüberlebens der gesamten Patientengruppe .....	52
Abbildung 11: Deskriptive Analyse des Gesamtüberlebens nach der Blutentnahme der gesamten Patientengruppe .....	53
Abbildung 12: Deskriptive Analyse des TFS ab ED der gesamten Patientengruppe .....	54
Abbildung 13: Deskriptive Analyse des TFS nach der Blutentnahme der gesamten Patientengruppe .....	55
Abbildung 14: Deskriptive Analyse des TFS nach Rituximab der gesamten Patientengruppe .....	56

## 6 Anhang

Abbildung 15: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen in unterschiedlichen Initialstadien nach Binet .....	75
Abbildung 16: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen in unterschiedlichen Initialstadien nach Rai .....	76
Abbildung 17: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen mit einer CD38-Expression < 30 % und ≥ 30 % .....	77
Abbildung 18: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen mit unterschiedlichem IGVH-Mutationsstatus .....	78
Abbildung 19: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens der Patientengruppen mit unterschiedlichem TP53-Mutationsstatus .....	79
Abbildung 20: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A), TFS (B) und TFS nach Rituximab (C) der Patientengruppen mit unterschiedlicher 4-1BB-Expression .....	82
Abbildung 21: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A) und TFS (B) nach der Blutentnahme der Patientengruppen mit unterschiedlicher 4-1BB-Expression .....	84
Abbildung 22: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A), TFS (B) und TFS nach Rituximab (C) der Patientengruppen mit unterschiedlicher 4-1BBL-Expression .....	86
Abbildung 23: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A) und TFS (B) nach der Blutentnahme der Patientengruppen mit unterschiedlicher 4-1BBL-Expression .....	88
Abbildung 24: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A), TFS (B) und TFS nach Rituximab (C) der Patientengruppen mit unterschiedlicher GITR-Expression .....	91
Abbildung 25: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A) und TFS (B) nach der Blutentnahme der Patientengruppen mit unterschiedlicher GITR-Expression .....	93
Abbildung 26: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A), TFS (B) und TFS nach Rituximab (C) der Patientengruppen mit unterschiedlicher GITRL-Expression .....	96

## 6 Anhang

Abbildung 27: Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens (A) und TFS (B) nach der Blutentnahme der Patientengruppen mit unterschiedlicher GITRL-Expression .....	98
Abbildung 28: Forest Plot zur Cox-Regression für das OS .....	100

**6.2 Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Binet-Klassifikation ..... 4

Tabelle 2: Rai-Klassifikation ..... 5

Tabelle 3: Risiko Scores: Risiko Scores der einzelnen Prognosefaktoren zur Berechnung des CLL-IPI-Scores ..... 12

Tabelle 4: CLL-IPI-Score ..... 12

Tabelle 5: Kriterien zur Feststellung einer kompletten Remission (CR), partiellen Remission (PR) und einer progredienten Erkrankung (PD) ..... 21

Tabelle 6: Deskriptive Analyse der Patientengruppe ..... 40

Tabelle 7: Deskriptive Analyse der Stadieneinteilung nach Binet und Rai ..... 42

Tabelle 8: Deskriptive Analyse der hämatologischen Parameter ..... 43

Tabelle 9: Deskriptive Analyse der prognostischen Marker ..... 45

Tabelle 10: Deskriptive Analyse der Therapien ..... 46

Tabelle 11: Deskriptive Analyse der 4-1BB-, 4-1BBL-, G1TR- und G1TRL-Expressionen ..... 51

Tabelle 12: Deskriptive Analyse der Parameter Lost to follow-up, Follow-up und verstorben ..... 52

Tabelle 13: Ausschnitt 1 aus der Datentabelle zur Analyse ..... 57

Tabelle 14: Ausschnitt 2 aus der Datentabelle zur Analyse ..... 62

Tabelle 15: Ausschnitt 3 aus der Datentabelle zur Analyse ..... 68

## 7 Literaturverzeichnis

- 1 Arastéh K, Baenkler H-W, Bieber C, Brandt R, Chatterjee TT, eds. *Duale Reihe Innere Medizin*. 4. überarbeitete Auflage. Stuttgart: Thieme; 2018.
- 2 Hodgkin. On some Morbid Appearances of the Absorbent Glands and Spleen. *Med Chir Trans.* 1832;17:68-114. doi:10.1177/095952873201700106.
- 3 Fuchs M, Borchmann P, Greil R, Hitz F, Naumann R, Sasse S. Deutsche Gesellschaft fuer Haematologie und medizinische Onkologie, ed. Hodgkin Lymphom. Dezember 2023. <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/hodgkin-lymphom/@@guideline/html/index.html>. Zuletzt geprüft am: 16.09.2024.
- 4 Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al., eds. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Revised 4th edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017.
- 5 The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. A Clinical Evaluation of the International Lymphoma Study Group Classification of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood.* 1997;89(11):3909-3918. doi:10.1182/blood.V89.11.3909.
- 6 Robert Koch-Institut. *Krebs in Deutschland | 2015/2016 | Leukämie C91-C95*. [https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs\\_in\\_Deutschland/kid\\_2019/kid\\_2019\\_c91\\_c95\\_leukaemien.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/kid_2019_c91_c95_leukaemien.pdf?__blob=publicationFile). Zuletzt geprüft am: 16.09.2024.
- 7 Hamblin T. Historical aspects of chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2000;111(4):1023-1034. doi:10.1111/j.1365-2141.2000.02215.x.
- 8 Wendtner C-M, Dreger P, Eichhorst B, et al. Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und medizinische Onkologie, ed. Chronische Lymphatische Leukämie (CLL). September 2020. Zuletzt geprüft am: April 2022.
- 9 Dores GM, Anderson WF, Curtis RE, et al. Chronic lymphocytic leukaemia and small lymphocytic lymphoma: overview of the descriptive epidemiology.

- Br J Haematol.* 2007;139(5):809-819. doi:10.1111/j.1365-2141.2007.06856.x.
- 10 Damle RN, Wasil T, Fais F, et al. Ig V Gene Mutation Status and CD38 Expression As Novel Prognostic Indicators in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood.* 1999;94(6):1840-1847. doi:10.1182/blood.V94.6.1840.
  - 11 Tumorregister München. *ICD-10 C91.1: Chron. lymphat. Leukämie - Inzidenz und Mortalität*; 2021. [https://www.tumorregister-muenchen.de/facts/base/bC911\\_G-ICD-10-C91.1-Chron.-lymphat.Leukaemie-Inzidenz-und-Mortalitaet.pdf](https://www.tumorregister-muenchen.de/facts/base/bC911_G-ICD-10-C91.1-Chron.-lymphat.Leukaemie-Inzidenz-und-Mortalitaet.pdf).
  - 12 Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. *The New England Journal of Medicine.* 2005;352(8):804-815. doi:10.1056/NEJMra041720.
  - 13 Okkenhaug K, Vanhaesebroeck B. PI3K in lymphocyte development, differentiation and activation. *Nat Rev Immunol.* 2003;3(4):317-330. doi:10.1038/nri1056.
  - 14 Herman SEM, Gordon AL, Hertlein E, et al. Bruton tyrosine kinase represents a promising therapeutic target for treatment of chronic lymphocytic leukemia and is effectively targeted by PCI-32765. *Blood.* 2011;117(23):6287-6296. doi:10.1182/blood-2011-01-328484.
  - 15 Burger JA, Gribben JG. The microenvironment in chronic lymphocytic leukemia (CLL) and other B cell malignancies: insight into disease biology and new targeted therapies. *Semin Cancer Biol.* 2014;24:71-81. doi:10.1016/j.semcancer.2013.08.011.
  - 16 Adams JM, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential. *Curr Opin Immunol.* 2007;19(5):488-496. doi:10.1016/j.coi.2007.05.004.
  - 17 Capalbo S, Trerotoli P, Ciancio A, Battista C, Serio G, Liso V. Increased risk of lymphoproliferative disorders in relatives of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: relevance of the degree of familial linkage. *Eur J Haematol.* 2000;65(2):114-117. doi:10.1034/j.1600-0609.2000.90183.x.
  - 18 Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF, ed. S3-Leitlinie zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge für Patienten mit einer chronischen

lymphatischen Leukämie (CLL), Langversion 1.0. 2018. <http://www.leitlinien-programm-onkologie.de/leitlinien/chronische-lymphatische-leukaemie-ctl/>.

Zuletzt geprüft am: 16.09.2024.

- 19 Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-2760. doi:10.1182/blood-2017-09-806398.
- 20 Johansson P, Eisele L, Klein-Hitpass L, et al. Percentage of smudge cells determined on routine blood smears is a novel prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res*. 2010;34(7):892-898. doi:10.1016/j.leukres.2010.02.038.
- 21 Mohamed AAEH, Safwat NA. New insights into smudge cell percentage in chronic lymphocytic Leukemia: A novel prognostic indicator of disease burden. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2018;19(4):409-415. doi:10.1016/j.ejmhg.2018.01.006.
- 22 Binet JL, Auquier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981;48(1):198-206. doi:10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198:aid-cncr2820480131>3.0.co;2-v.
- 23 Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975;46(2):219-234. doi:10.1182/blood.V46.2.219.219.
- 24 Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2000;343(26):1910-1916. doi:10.1056/NEJM200012283432602.
- 25 Hallek M, Wanders L, Ostwald M, et al. Serum beta(2)-microglobulin and serum thymidine kinase are independent predictors of progression-free survival in chronic lymphocytic leukemia and immunocytoma. *Leuk Lymphoma*. 1996;22(5-6):439-447. doi:10.3109/10428199609054782.
- 26 Simonsson B, Wibell L, Nilsson K. Beta 2-microglobulin in chronic lymphocytic leukaemia. *Scand J Haematol*. 1980;24(2):174-180. doi:10.1111/j.1600-0609.1980.tb02364.x.

- 27** Molica S, Mauro FR, Callea V, et al. A gender-based score system predicts the clinical outcome of patients with early B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2005;46(4):553-560. doi:10.1080/10428190400029965.
- 28** Constantinides IP, Pathouli C, Karvountzis G, et al. Serum  $\beta$ 2 microglobulin in malignant lymphoproliferative disorders. *Cancer*. 1985;55(10):2384-2389. doi:10.1002/1097-0142(19850515)55:10<2384:AID-CNCR2820551014>3.0.CO;2-3.
- 29** Rassenti LZ, Huynh L, Toy TL, et al. ZAP-70 compared with immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of disease progression in chronic lymphocytic leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2004;351(9):893-901. doi:10.1056/NEJMoa040857.
- 30** Schroeder HW, Dighiero G. The pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia: analysis of the antibody repertoire. *Immunology Today*. 1994;15(6):288-294. doi:10.1016/0167-5699(94)90009-4.
- 31** Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated Ig VH Genes Are Associated With a More Aggressive Form of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood*. 1999;94(6):1848-1854. doi:10.1182/blood.V94.6.1848.
- 32** Hamblin TJ, Orchard JA, Ibbotson RE, et al. CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. *Blood*. 2002;99(3):1023-1029. doi:10.1182/blood.V99.3.1023.
- 33** Shanafelt TD, Witzig TE, Fink SR, et al. Prospective evaluation of clonal evolution during long-term follow-up of patients with untreated early-stage chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2006;24(28):4634-4641. doi:10.1200/JCO.2006.06.9492.
- 34** Kröber A, Seiler T, Benner A, et al. V H mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002;100(4):1410-1416. doi:10.1182/blood.V100.4.1410.h81602001410\_1410\_1416.

- 35 Wiestner A, Rosenwald A, Barry TS, et al. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. *Blood*. 2003;101(12):4944-4951. doi:10.1182/blood-2002-10-3306.
- 36 Malavasi F, Funaro A, Roggero S, Horenstein A, Calosso L, Mehta K. Human CD38: a glycoprotein in search of a function. *Immunology Today*. 1994;15(3):95-97. doi:10.1016/0167-5699(94)90148-1.
- 37 Lund FE, Yu N, Kim KM, Reth M, Howard MC. Signaling through CD38 augments B cell antigen receptor (BCR) responses and is dependent on BCR expression. *J Immunol*. 1996;157(4):1455-1467. doi:10.4049/jimmunol.157.4.1455.
- 38 Deaglio S, Morra M, Mallone R, et al. Human CD38 (ADP-Ribosyl Cyclase) Is a Counter-Receptor of CD31, an Ig Superfamily Member. *J Immunol*. 1998;160(1):395-402. doi:10.4049/jimmunol.160.1.395.
- 39 Zupo S, Massara R, Dono M, et al. Apoptosis or plasma cell differentiation of CD38-positive B-chronic lymphocytic leukemia cells induced by cross-linking of surface IgM or IgD. *Blood*. 2000;95(4):1199-1206. doi:10.1182/blood.V95.4.1199.004k21\_1199\_1206.
- 40 Ibrahim S, Keating M, Do KA, et al. CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2001;98(1):181-186. doi:10.1182/blood.v98.1.181.
- 41 Thunberg U, Johnson A, Roos G, et al. CD38 expression is a poor predictor for VH gene mutational status and prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2001;97(6):1892-1894. doi:10.1182/blood.V97.6.1892.
- 42 Chan AC, Iwashima M, Turck CW, Weiss A. ZAP-70: a 70 kd protein-tyrosine kinase that associates with the TCR zeta chain. *Cell*. 1992;71(4):649-662. doi:10.1016/0092-8674(92)90598-7.
- 43 Crespo M, Bosch F, Villamor N, et al. ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2003;348(18):1764-1775. doi:10.1056/NEJMoa023143.

- 44 Chen L, Widhopf G, Huynh L, et al. Expression of ZAP-70 is associated with increased B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002;100(13):4609-4614. doi:10.1182/blood-2002-06-1683.
- 45 Kiefer Y, Schulte C, Tiemann M, Bullerdiek J. Chronic lymphocytic leukemia-associated chromosomal abnormalities and miRNA deregulation. *Appl Clin Genet*. 2012;5:21-28. doi:10.2147/TACG.S18669.
- 46 Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(24):15524-15529. doi:10.1073/pnas.242606799.
- 47 Byrd JC, Gribben JG, Peterson BL, et al. Select high-risk genetic features predict earlier progression following chemoimmunotherapy with fludarabine and rituximab in chronic lymphocytic leukemia: justification for risk-adapted therapy. *J Clin Oncol*. 2006;24(3):437-443. doi:10.1200/JCO.2005.03.1021.
- 48 Abruzzo LV, Herling CD, Calin GA, et al. Trisomy 12 chronic lymphocytic leukemia expresses a unique set of activated and targetable pathways. *Haematologica*. 2018;103(12):2069-2078. doi:10.3324/haematol.2018.190132.
- 49 Trbusek M, Malcikova J, Smardova J, et al. Inactivation of p53 and deletion of ATM in B-CLL patients in relation to IgVH mutation status and previous treatment. *Leukemia*. 2006;20(6):1159-1161. doi:10.1038/sj.leu.2404195.
- 50 Zenz T, Kröber A, Scherer K, et al. Monoallelic TP53 inactivation is associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia: results from a detailed genetic characterization with long-term follow-up. *Blood*. 2008;112(8):3322-3329. doi:10.1182/blood-2008-04-154070.
- 51 Zenz T, Eichhorst B, Busch R, et al. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28(29):4473-4479. doi:10.1200/JCO.2009.27.8762.
- 52 Kastan MB, Canman CE, Leonard CJ. P53, cell cycle control and apoptosis: implications for cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 1995;14(1):3-15. doi:10.1007/bf00690207.
- 53 Dohner H, Fischer K, Bentz M, et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell

- leukemias. *Blood*. 1995;85(6):1580-1589. doi:10.1182/blood.V85.6.1580.bloodjournal8561580.
- 54** The International CLL-IPI working group. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2016;17(6):779-790. doi:10.1016/S1470-2045(16)30029-8.
- 55** Richter MN. Generalized Reticular Cell Sarcoma of Lymph Nodes Associated with Lymphatic Leukemia. *Am J Pathol*. 1928;4(4):285-292.7.
- 56** Robertson LE, Pugh W, O'Brien S, et al. Richter's syndrome: a report on 39 patients. *J Clin Oncol*. 1993;11(10):1985-1989. doi:10.1200/JCO.1993.11.10.1985.
- 57** Trump DL, Mann RB, Phelps R, Roberts H, Conley CL. Richter's syndrome: diffuse histiocytic lymphoma in patients with chronic lymphocytic leukemia. A report of five cases and review of the literature. *The American Journal of Medicine*. 1980;68(4):539-548. doi:10.1016/0002-9343(80)90300-9.
- 58** Strati P, Keating MJ, O'Brien SM, et al. Outcomes of first-line treatment for chronic lymphocytic leukemia with 17p deletion. *Haematologica*. 2014;99(8):1350-1355. doi:10.3324/haematol.2014.104661.
- 59** Parikh SA, Rabe KG, Call TG, et al. Diffuse large B-cell lymphoma (Richter syndrome) in patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL): a cohort study of newly diagnosed patients. *Br J Haematol*. 2013;162(6):774-782. doi:10.1111/bjh.12458.
- 60** Falchi L, Keating MJ, Marom EM, et al. Correlation between FDG/PET, histology, characteristics, and survival in 332 patients with chronic lymphoid leukemia. *Blood*. 2014;123(18):2783-2790. doi:10.1182/blood-2013-11-536169.
- 61** Jain P, O'Brien S. Richter's transformation in chronic lymphocytic leukemia. *Oncology (Williston Park, N Y)*. 2012;26(12):1146-1152.
- 62** Parikh SA, Kay NE, Shanafelt TD. How we treat Richter syndrome. *Blood*. 2014;123(11):1647-1657. doi:10.1182/blood-2013-11-516229.
- 63** Dighiero G, Maloum K, Desablens B, et al. Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic

- Leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 1998;338(21):1506-1514. doi:10.1056/NEJM199805213382104.
- 64** Schweighofer CD, Cymbalista F, Müller C, et al. Early Versus Deferred Treatment With Combined Fludarabine, Cyclophosphamide and Rituximab (FCR) Improves Event-Free Survival In Patients With High-Risk Binet Stage A Chronic Lymphocytic Leukemia – First Results Of a Randomized German-French Cooperative Phase III Trial. *Blood*. 2013;122(21):524. doi:10.1182/blood.V122.21.524.524.
- 65** Langerbeins P, Robrecht S, Nieper P, et al. IBRUTINIB VERSUS PLACEBO IN PATIENTS WITH ASYMPTOMATIC, TREATMENT-NAÏVE EARLY STAGE CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA (CLL): FINAL RESULTS OF THE CLL12 TRIAL. *Hematol Oncol*. 2023;41(S2):56-58. doi:10.1002/hon.3163\_24.
- 66** Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2000;343(24):1750-1757. doi:10.1056/NEJM200012143432402.
- 67** Eichhorst BF, Busch R, Stilgenbauer S, et al. First-line therapy with fludarabine compared with chlorambucil does not result in a major benefit for elderly patients with advanced chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2009;114(16):3382-3391. doi:10.1182/blood-2009-02-206185.
- 68** Eichhorst BF, Busch R, Hopfinger G, et al. Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first-line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2006;107(3):885-891. doi:10.1182/blood-2005-06-2395.
- 69** Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2010;376(9747):1164-1174. doi:10.1016/S0140-6736(10)61381-5.
- 70** Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, et al. Ibrutinib as Initial Therapy for Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2015;373(25):2425-2437. doi:10.1056/NEJMoa1509388.

- 71 Goede V, Fischer K, Busch R, et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *The New England Journal of Medicine*. 2014;370(12):1101-1110. doi:10.1056/NEJMoa1313984.
- 72 Weiner GJ. Rituximab: mechanism of action. *Semin Hematol*. 2010;47(2):115-123. doi:10.1053/j.seminhematol.2010.01.011.
- 73 Kleeberg UR, Linde H, Günther G, Tessen H-W, Kersting M. Bendamustine-Rituximab Combination Is a Safe and Effective, Ambulatory Treatment for Elderly Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia: Retrospective Real-world Analysis by Age from a German Registry and Review of the Literature. *Anticancer Res*. 2016;36(6):2827-2838.
- 74 Stilgenbauer S, Zenz T. Understanding and managing ultra high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2010;2010:481-488. doi:10.1182/asheducation-2010.1.481.
- 75 Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2013;369(1):32-42. doi:10.1056/NEJMoa1215637.
- 76 Jones J, Mato A, Coutre S, et al. Evaluation of 230 patients with relapsed/refractory deletion 17p chronic lymphocytic leukaemia treated with ibrutinib from 3 clinical trials. *Br J Haematol*. 2018;182(4):504-512. doi:10.1111/bjh.15421.
- 77 Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, et al. Three-year follow-up of treatment-naïve and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. *Blood*. 2015;125(16):2497-2506. doi:10.1182/blood-2014-10-606038.
- 78 Woyach JA, Furman RR, Liu T-M, et al. Resistance mechanisms for the Bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib. *The New England Journal of Medicine*. 2014;370(24):2286-2294. doi:10.1056/NEJMoa1400029.
- 79 Yun S, Vincelette ND, Acharya U, Abraham I. Risk of Atrial Fibrillation and Bleeding Diathesis Associated With Ibrutinib Treatment: A Systematic Review and Pooled Analysis of Four Randomized Controlled Trials. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017;17(1):31-37.e13. doi:10.1016/j.clml.2016.09.010.

- 80** Ganatra S, Sharma A, Shah S, et al. Ibrutinib-Associated Atrial Fibrillation. *JACC Clin Electrophysiol.* 2018;4(12):1491-1500. doi:10.1016/j.jacep.2018.06.004.
- 81** Hu Y-f, Liu C-j, Chang PM-h, et al. Incident thromboembolism and heart failure associated with new-onset atrial fibrillation in cancer patients. *Int J Cardiol.* 2013;165(2):355-357. doi:10.1016/j.ijcard.2012.08.036.
- 82** Byrd JC, Harrington B, O'Brien S, et al. Acalabrutinib (ACP-196) in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *The New England Journal of Medicine.* 2016;374(4):323-332. doi:10.1056/NEJMoa1509981.
- 83** Byrd JC, Hillmen P, Ghia P, et al. Acalabrutinib Versus Ibrutinib in Previously Treated Chronic Lymphocytic Leukemia: Results of the First Randomized Phase III Trial. *J Clin Oncol.* 2021;39(31):3441-3452. doi:10.1200/JCO.21.01210.
- 84** Tam CS, Trotman J, Opat S, et al. Phase 1 study of the selective BTK inhibitor zanubrutinib in B-cell malignancies and safety and efficacy evaluation in CLL. *Blood.* 2019;134(11):851-859. doi:10.1182/blood.2019001160.
- 85** Honigberg LA, Smith AM, Sirisawad M, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 blocks B-cell activation and is efficacious in models of autoimmune disease and B-cell malignancy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(29):13075-13080. doi:10.1073/pnas.1004594107.
- 86** Brown JR, Eichhorst B, Hillmen P, et al. Zanubrutinib or Ibrutinib in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *The New England Journal of Medicine.* 2023;388(4):319-332. doi:10.1056/NEJMoa2211582.
- 87** Davids MS, Hallek M, Wierda W, et al. Comprehensive Safety Analysis of Venetoclax Monotherapy for Patients with Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *Clin Cancer Res.* 2018;24(18):4371-4379. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-3761.
- 88** Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J, et al. Venetoclax for Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia With 17p Deletion: Results From the Full Population of a Phase II Pivotal Trial. *J Clin Oncol.* 2018;36(19):1973-1980. doi:10.1200/JCO.2017.76.6840.

- 89** Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, et al. Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2016;374(4):311-322. doi:10.1056/NEJMoa1513257.
- 90** Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B, et al. Venetoclax-Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2018;378(12):1107-1120. doi:10.1056/NEJMoa1713976.
- 91** Furman RR, Sharman JP, Coutre SE, et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2014;370(11):997-1007. doi:10.1056/NEJMoa1315226.
- 92** Herman SEM, Gordon AL, Wagner AJ, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase- $\delta$  inhibitor CAL-101 shows promising preclinical activity in chronic lymphocytic leukemia by antagonizing intrinsic and extrinsic cellular survival signals. *Blood*. 2010;116(12):2078-2088. doi:10.1182/blood-2010-02-271171.
- 93** Herishanu Y, Pérez-Galán P, Liu D, et al. The lymph node microenvironment promotes B-cell receptor signaling, NF-kappaB activation, and tumor proliferation in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2011;117(2):563-574. doi:10.1182/blood-2010-05-284984.
- 94** Lannutti BJ, Meadows SA, Herman SEM, et al. CAL-101, a p110delta selective phosphatidylinositol-3-kinase inhibitor for the treatment of B-cell malignancies, inhibits PI3K signaling and cellular viability. *Blood*. 2011;117(2):591-594. doi:10.1182/blood-2010-03-275305.
- 95** Dreger P, Corradini P, Kimby E, et al. Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the EBMT transplant consensus. *Leukemia*. 2007;21(1):12-17. doi:10.1038/sj.leu.2404441.
- 96** Kovacs G, Robrecht S, Fink AM, et al. Minimal Residual Disease Assessment Improves Prediction of Outcome in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Who Achieve Partial Response: Comprehensive Analysis of Two Phase III Studies of the German CLL Study Group. *J Clin Oncol*. 2016;34(31):3758-3765. doi:10.1200/JCO.2016.67.1305.
- 97** Böttcher S, Ritgen M, Fischer K, et al. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate analysis from the randomized GCLLSG

- CLL8 trial. *J Clin Oncol.* 2012;30(9):980-988. doi:10.1200/JCO.2011.36.9348.
- 98** Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature.* 1975;256(5517):495-497. doi:10.1038/256495a0.
- 99** Königshoff M, Brandenburger T, eds. *Kurzlehrbuch Biochemie.* 4., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2018.
- 100** Woyach JA, Ruppert AS, Heerema NA, et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine and rituximab produces extended overall survival and progression-free survival in chronic lymphocytic leukemia: long-term follow-up of CALGB study 9712. *J Clin Oncol.* 2011;29(10):1349-1355. doi:10.1200/JCO.2010.31.1811.
- 101** Granger GA, Shacks SJ, Williams TW, Kolb WP. Lymphocyte in vitro cytotoxicity: specific release of lymphotoxin-like materials from tuberculin-sensitive lymphoid cells. *Nature.* 1969;221(5186):1155-1157. doi:10.1038/2211155a0.
- 102** Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975;72(9):3666-3670. doi:10.1073/pnas.72.9.3666.
- 103** Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell.* 2001;104(4):487-501. doi:10.1016/S0092-8674(01)00237-9.
- 104** Headon DJ, Overbeek PA. Involvement of a novel Tnf receptor homologue in hair follicle induction. *Nat Genet.* 1999;22(4):370-374. doi:10.1038/11943.
- 105** Li J, Sarosi I, Yan XQ, et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(4):1566-1571. doi:10.1073/pnas.97.4.1566.
- 106** Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology.* 2005;115(1):1-20. doi:10.1111/j.1365-2567.2005.02143.x.

- 107** Fütterer A, Mink K, Luz A, Kosco-Vilbois MH, Pfeffer K. The lymphotoxin beta receptor controls organogenesis and affinity maturation in peripheral lymphoid tissues. *Immunity*. 1998;9(1):59-70. doi:10.1016/S1074-7613(00)80588-9.
- 108** Fu YX, Chaplin DD. Development and maturation of secondary lymphoid tissues. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:399-433. doi:10.1146/annurev.immunol.17.1.399.
- 109** Endo T, Nishio M,ENZLER T, et al. BAFF and APRIL support chronic lymphocytic leukemia B-cell survival through activation of the canonical NF-kappaB pathway. *Blood*. 2007;109(2):703-710. doi:10.1182/blood-2006-06-027755.
- 110** Secchiero P, Corallini F, Barbarotto E, et al. Role of the RANKL/RANK system in the induction of interleukin-8 (IL-8) in B chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) cells. *J Cell Physiol*. 2006;207(1):158-164. doi:10.1002/jcp.20547.
- 111** Nishimoto H, Lee S-W, Hong H, et al. Costimulation of mast cells by 4-1BB, a member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, with the high-affinity IgE receptor. *Blood*. 2005;106(13):4241-4248. doi:10.1182/blood-2005-04-1358.
- 112** Kwon BS, Weissman SM. cDNA sequences of two inducible T-cell genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(6):1963-1967. doi:10.1073/pnas.86.6.1963.
- 113** Shao Z, Schwarz H. CD137 ligand, a member of the tumor necrosis factor family, regulates immune responses via reverse signal transduction. *J Leukoc Biol*. 2011;89(1):21-29. doi:10.1189/jlb.0510315.
- 114** Zheng G, Wang B, Chen A. The 4-1BB costimulation augments the proliferation of CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol*. 2004;173(4):2428-2434. doi:10.4049/jimmunol.173.4.2428.
- 115** Cooper D, Bansal-Pakala P, Croft M. 4-1BB (CD137) controls the clonal expansion and survival of CD8 T cells in vivo but does not contribute to the development of cytotoxicity. *Eur J Immunol*. 2002;32(2):521-529. doi:10.1002/1521-4141(200202)32:2<521:AID-IMMU521>3.0.CO;2-X.
- 116** DeBenedette MA, Shahinian A, Mak TW, Watts TH. Costimulation of CD28-T lymphocytes by 4-1BB ligand. *J Immunol*. 1997;158(2):551-559.

- 117** Chu NR, DeBenedette MA, Stiernholm BJ, Barber BH, Watts TH. Role of IL-12 and 4-1BB ligand in cytokine production by CD28+ and CD28- T cells. *J Immunol*. 1997;158(7):3081-3089.
- 118** Maus MV, June CH. Making Better Chimeric Antigen Receptors for Adoptive T-cell Therapy. *Clin Cancer Res*. 2016;22(8):1875-1884. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-1433.
- 119** Long AH, Haso WM, Shern JF, et al. 4-1BB costimulation ameliorates T cell exhaustion induced by tonic signaling of chimeric antigen receptors. *Nat Med*. 2015;21(6):581-590. doi:10.1038/nm.3838.
- 120** Smith SE, Hoelzinger DB, Dominguez AL, van Snick J, Lustgarten J. Signals through 4-1BB inhibit T regulatory cells by blocking IL-9 production enhancing antitumor responses. *Cancer Immunol Immunother*. 2011;60(12):1775-1787. doi:10.1007/s00262-011-1075-6.
- 121** Barsoumian HB, Yolcu ES, Shirwan H. 4-1BB Signaling in Conventional T Cells Drives IL-2 Production That Overcomes CD4+CD25+FoxP3+ T Regulatory Cell Suppression. *PLoS ONE*. 2016;11(4):e0153088. doi:10.1371/journal.pone.0153088.
- 122** Lee S-C, Ju S-A, Sung B-H, et al. Stimulation of the molecule 4-1BB enhances host defense against *Listeria monocytogenes* infection in mice by inducing rapid infiltration and activation of neutrophils and monocytes. *Infect Immun*. 2009;77(5):2168-2176. doi:10.1128/IAI.01350-08.
- 123** Langstein J, Michel J, Fritsche J, Kreutz M, Andreesen R, Schwarz H. CD137 (ILA/4-1BB), a Member of the TNF Receptor Family, Induces Monocyte Activation via Bidirectional Signaling. *J Immunol*. 1998;160(5):2488-2494. doi:10.4049/jimmunol.160.5.2488.
- 124** Pauly S, Broll K, Wittmann M, Giegerich G, Schwarz H. CD137 is expressed by follicular dendritic cells and costimulates B lymphocyte activation in germinal centers. *J Leukoc Biol*. 2002;72(1):35-42. doi:10.1189/jlb.72.1.35.
- 125** Baessler T, Charton JE, Schmiedel BJ, et al. CD137 ligand mediates opposite effects in human and mouse NK cells and impairs NK-cell reactivity against human acute myeloid leukemia cells. *Blood*. 2010;115(15):3058-3069. doi:10.1182/blood-2009-06-227934.

- 126** Buechele C, Baessler T, Schmiedel BJ, et al. 4-1BB ligand modulates direct and Rituximab-induced NK-cell reactivity in chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Immunol.* 2012;42(3):737-748. doi:10.1002/eji.201141920.
- 127** Schmohl JU, Nuebling T, Wild J, et al. Expression of 4-1BB and its ligand on blasts correlates with prognosis of patients with AML. *J Investig Med.* 2016;64(8):1252-1260. doi:10.1136/jim-2016-000081.
- 128** Ferrajoli A, Keating MJ, Manshour T, et al. The clinical significance of tumor necrosis factor- $\alpha$  plasma level in patients having chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2002;100(4):1215-1219. doi:10.1182/blood.V100.4.1215.h81602001215\_1215\_1219.
- 129** Wierda WG, Johnson MM, Do K-A, et al. Plasma interleukin 8 level predicts for survival in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2003;120(3):452-456. doi:10.1046/j.1365-2141.2003.04118.x.
- 130** Lai R, O'Brien S, Maushouri T, et al. Prognostic value of plasma interleukin-6 levels in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer.* 2002;95(5):1071-1075. doi:10.1002/cncr.10772.
- 131** Nocentini G, Giunchi L, Ronchetti S, et al. A new member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor family inhibits T cell receptor-induced apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(12):6216-6221. doi:10.1073/pnas.94.12.6216.
- 132** Nocentini G, Ronchetti S, Cuzzocrea S, Riccardi C. GITR/GITRL: more than an effector T cell co-stimulatory system. *Eur J Immunol.* 2007;37(5):1165-1169. doi:10.1002/eji.200636933.
- 133** Shevach EM, Stephens GL. The GITR-GITRL interaction: co-stimulation or contrasuppression of regulatory activity? *Nat Rev Immunol.* 2006;6(8):613-618. doi:10.1038/nri1867.
- 134** Ronchetti S, Zollo O, Bruscoli S, et al. GITR, a member of the TNF receptor superfamily, is costimulatory to mouse T lymphocyte subpopulations. *Eur J Immunol.* 2004;34(3):613-622. doi:10.1002/eji.200324804.
- 135** Kanamaru F, Youngnak P, Hashiguchi M, et al. Costimulation via glucocorticoid-induced TNF receptor in both conventional and CD25+ regulatory CD4+

- T cells. *J Immunol.* 2004;172(12):7306-7314. doi:10.4049/jimmunol.172.12.7306.
- 136** Fu Z, Wang S, Li J, et al. Biological role of GITR/GITRL in attributes and immune responses of macrophage. *J Leukoc Biol.* 2020;107(2):309-321. doi:10.1002/JLB.3A0919-387RR.
- 137** Baessler T, Krusch M, Schmiedel BJ, et al. Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor-related protein ligand subverts immunosurveillance of acute myeloid leukemia in humans. *Cancer Res.* 2009;69(3):1037-1045. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-2650.
- 138** Buechele C, Baessler T, Wirths S, Schmohl JU, Schmiedel BJ, Salih HR. Glucocorticoid-induced TNFR-related protein (GITR) ligand modulates cytokine release and NK cell reactivity in chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Leukemia.* 2012;26(5):991-1000. doi:10.1038/leu.2011.313.
- 139** Kaban K, Greiner SM, Holzmayer S, et al. Immunoprofiling of 4-1BB Expression Predicts Outcome in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Diagnostics (Basel).* 2021;11(11). doi:10.3390/diagnostics11112041.
- 140** Robert Koch-Institut. *Berichts zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016;* 2016.
- 141** Thurmes P, Call T, Slager S, et al. Comorbid conditions and survival in unselected, newly diagnosed patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2008;49(1):49-56. doi:10.1080/10428190701724785.
- 142** Parikh SA, Rabe KG, Kay NE, et al. Chronic lymphocytic leukemia in young ( $\leq 55$  years) patients: a comprehensive analysis of prognostic factors and outcomes. *Haematologica.* 2014;99(1):140-147. doi:10.3324/haematol.2013.086066.
- 143** Catovsky D, Fooks J, Richards S. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukaemia: the importance of age, sex and response to treatment in survival. A report from the MRC CLL 1 trial. MRC Working Party on Leukaemia in Adults. *Br J Haematol.* 1989;72(2):141-149. doi:10.1111/j.1365-2141.1989.tb07674.x.
- 144** Wierda WG, O'Brien S, Wang X, et al. Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated patients with chronic lymphocytic

- leukemia. *Blood*. 2007;109(11):4679-4685. doi:10.1182/blood-2005-12-051458.
- 145** O'Brien S, Furman RR, Coutre SE, et al. Ibrutinib as initial therapy for elderly patients with chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma: an open-label, multicentre, phase 1b/2 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(1):48-58. doi:10.1016/S1470-2045(13)70513-8.
- 146** Catovsky D, Wade R, Else M. The clinical significance of patients' sex in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2014;99(6):1088-1094. doi:10.3324/haematol.2013.101378.
- 147** Shvidel L, Braester A, Bairey O, et al. Survival trends among 1,325 patients with chronic lymphocytic leukemia seen over the past 40 years in Israel. *Am J Hematol*. 2011;86(12):985-992. doi:10.1002/ajh.22160.
- 148** Weide R, Feiten S, Chakupurakal G, et al. Survival improvement of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) in routine care 1995-2017. *Leuk Lymphoma*. 2020;61(3):557-566. doi:10.1080/10428194.2019.1680840.
- 149** Brenner H, Gondos A, Pulte D. Trends in long-term survival of patients with chronic lymphocytic leukemia from the 1980s to the early 21st century. *Blood*. 2008;111(10):4916-4921. doi:10.1182/blood-2007-12-129379.
- 150** Shanafelt TD, Wang XV, Kay NE, et al. Ibrutinib-Rituximab or Chemoimmunotherapy for Chronic Lymphocytic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2019;381(5):432-443. doi:10.1056/NEJMoa1817073.
- 151** Jain N, O'Brien S. Initial treatment of CLL: integrating biology and functional status. *Blood*. 2015;126(4):463-470. doi:10.1182/blood-2015-04-585067.
- 152** Letestu R, Lévy V, Eclache V, et al. Prognosis of Binet stage A chronic lymphocytic leukemia patients: the strength of routine parameters. *Blood*. 2010;116(22):4588-4590. doi:10.1182/blood-2010-06-288274.
- 153** Tam CS, O'Brien S, Wierda W, et al. Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab regimen as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2008;112(4):975-980. doi:10.1182/blood-2008-02-140582.
- 154** Eichhorst B, Fink AM, Busch R, et al. Frontline Chemoimmunotherapy with Fludarabine (F), Cyclophosphamide (C), and Rituximab (R) (FCR) Shows

Superior Efficacy in Comparison to Bendamustine (B) and Rituximab (BR) in Previously Untreated and Physically Fit Patients (pts) with Advanced Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): Final Analysis of an International, Randomized Study of the German CLL Study Group (GCLLSG) (CLL10 Study). *Blood*. 2014;124(21):19. doi:10.1182/blood.V124.21.19.19.

- 155** Abrisqueta P, Villamor N, Terol MJ, et al. Rituximab maintenance after first-line therapy with rituximab, fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone (R-FCM) for chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013;122(24):3951-3959. doi:10.1182/blood-2013-05-502773.
- 156** Nakaima Y, Watanabe K, Koyama T, Miura O, Fukuda T. CD137 is induced by the CD40 signal on chronic lymphocytic leukemia B cells and transduces the survival signal via NF- $\kappa$ B activation. *PLoS ONE*. 2013;8(5):e64425. doi:10.1371/journal.pone.0064425.
- 157** Pontoriero M, Fiume G, Vecchio E, et al. Activation of NF- $\kappa$ B in B cell receptor signaling through Bruton's tyrosine kinase-dependent phosphorylation of I $\kappa$ B- $\alpha$ . *J Mol Med (Berl)*. 2019;97(5):675-690. doi:10.1007/s00109-019-01777-x.
- 158** Palma C, Binaschi M, Bigioni M, Maggi CA, Goso C. CD137 and CD137 ligand constitutively coexpressed on human T and B leukemia cells signal proliferation and survival. *Int J Cancer*. 2004;108(3):390-398. doi:10.1002/ijc.11574.
- 159** Scholl N, Loibl J, Kremser A, et al. The role of soluble and cell-surface expressed 4-1BB ligand in patients with malignant hemopoietic disorders. *Leuk Lymphoma*. 2009;50(3):427-436. doi:10.1080/10428190802709453.
- 160** Choi BK, Kim YH, Lee DG, et al. In vivo 4-1BB deficiency in myeloid cells enhances peripheral T cell proliferation by increasing IL-15. *J Immunol*. 2015;194(4):1580-1590. doi:10.4049/jimmunol.1303439.
- 161** Liu Y, Quang P, Braggio E, et al. Novel tumor suppressor function of glucocorticoid-induced TNF receptor GITR in multiple myeloma. *PLoS ONE*. 2013;8(6):e66982. doi:10.1371/journal.pone.0066982.

- 162** Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, Ishida Y, Sakaguchi S. Stimulation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. *Nat Immunol.* 2002;3(2):135-142. doi:10.1038/ni759.
- 163** Tuyaerts S, van Meirvenne S, Bonehill A, et al. Expression of human GITRL on myeloid dendritic cells enhances their immunostimulatory function but does not abrogate the suppressive effect of CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Leukoc Biol.* 2007;82(1):93-105. doi:10.1189/jlb.0906568.
- 164** Bianchini R, Bistoni O, Alunno A, et al. CD4(+) CD25(low) GITR(+) cells: a novel human CD4(+) T-cell population with regulatory activity. *Eur J Immunol.* 2011;41(8):2269-2278. doi:10.1002/eji.201040943.
- 165** Gowda A, Ramanunni A, Cheney C, et al. Differential effects of IL-2 and IL-21 on expansion of the CD4+ CD25+ Foxp3+ T regulatory cells with redundant roles in natural killer cell mediated antibody dependent cellular cytotoxicity in chronic lymphocytic leukemia. *MAbs.* 2010;2(1):35-41. doi:10.4161/mabs.2.1.10561.

## 8 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Klinischen Kooperationseinheit Translationale Immunologie; Department für Innere Medizin unter Betreuung von PD Dr. med. Jonas Heitmann durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte mit Hilfe von PD Dr. med. Jonas Heitmann.

Sämtliche Datenerhebung wurden von mir unter Supervision von PD Dr. med. Jonas Heitmann durchgeführt. Die Bestimmung der Expression von 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL mittels Durchflusszytometrie/Immunphänotypisierung (FACS) wurde von Frau Kübra Kaban durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung am Institut für Biometrie durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Teile der Ergebnisse sind Bestandteil des folgenden Manuskriptes, welches bereits veröffentlicht ist: Kaban, K., et al. (2021). "Immunoprofiling of 4-1BB Expression Predicts Outcome in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)" *Diagnostics*

Tübingen, den 23.10.2024

(Sophie Meyer)

## **9 Veröffentlichungen**

Teile der Ergebnisse sind Bestandteil folgenden Manuskriptes: Kaban, K., et al. (2021). "Immunoprofiling of 4-1BB Expression Predicts Outcome in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)" Diagnostics

## **10 Danksagung**

Ich möchte mich bei Herrn PD Dr. med. Jonas Heitmann für das Überlassen des Dissertationsthemas, die Bereitstellung der für die Durchführung der Arbeit notwendigen Materialien und die sehr gute wissenschaftliche Betreuung meiner Arbeit bedanken. Vielen Dank für die ausführliche Einarbeitung sowie die Unterstützung zur Auswertung der Daten und insbesondere für die Hilfestellung zur Verfassung der Dissertationsschrift.

Mein herzlichster Dank gilt auch Frau Kübra Kaban für die Daten zur Expression von 4-1BB/4-1BBL und GITR/GITRL.

Ein herzlicher Dank geht zudem an Frau Lina Maria Serna Higueta vom Institut für Biometrie für die Beratung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Außerdem danke ich meiner Familie, meinem Verlobten, sowie meinen Freundinnen die mich während der ganzen Zeit verständnisvoll und mit motivierenden und lieben Worten, besonders bei der Verschriftlichung der Arbeit unterstützt haben.