

Aus der Neurologischen Universitätsklinik Tübingen  
Abteilung Neurologie mit Schwerpunkt neurovaskuläre  
Erkrankungen

**Einfluss der prolongierten Temozolomid-Erhaltungstherapie  
in der Primärbehandlung des höhergradigen Glioms auf das  
progressionsfreie Überleben und Gesamtüberleben**

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

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

**vorgelegt von**

**Dangel, Elena, geb. Müller**

**2022**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professorin Dr.Dr. G. Tabatabai

2. Berichterstatter: Professor Dr. S. Kommoss

Tag der Disputation: 08.06.2022

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>7</b>
	2.1 <b>Klassifikation.....</b>	<b>8</b>
	2.2 <b>Histopathologie.....</b>	<b>8</b>
	2.3 <b>Molekulare Marker diffuser Gliome.....</b>	<b>9</b>
	2.4 <b>Integrierte Diagnose der WHO-Klassifikation von 2016 .....</b>	<b>12</b>
	2.5 <b>Prognose des GBMs .....</b>	<b>16</b>
	2.6 <b>Prognostische und prädiktive Faktoren.....</b>	<b>16</b>
	2.7 <b>Chirurgische Behandlung .....</b>	<b>17</b>
	2.8 <b>Temozolomid .....</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>Zielsetzung.....</b>	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>Methodik.....</b>	<b>21</b>
	4.1 <b>Studiendesign.....</b>	<b>21</b>
	4.2 <b>Teilnehmer .....</b>	<b>21</b>
	4.3 <b>Klinische Parameter .....</b>	<b>22</b>
	4.4 <b>Patientengruppen.....</b>	<b>22</b>
	4.5 <b>Statistik .....</b>	<b>23</b>
<b>5</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>24</b>
<b>6</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>38</b>
	6.1 <b>Grenzen und Chancen der retrospektiven Studie.....</b>	<b>40</b>
	6.2 <b>Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit anderen Studien .....</b>	<b>43</b>
	6.3 <b>Vergleichbarkeit der klinischen Ergebnisse .....</b>	<b>45</b>
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>50</b>
<b>8</b>	<b>Quellen .....</b>	<b>54</b>

<b>9</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>61</b>
<b>10</b>	<b>Erklärung zum Eigenanteil.....</b>	<b>81</b>
<b>11</b>	<b>Veröffentlichungen .....</b>	<b>82</b>
<b>12</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>83</b>

## 1 Abkürzungsverzeichnis

1p/19q Ko-Deletion	Verlust der Chromosomen 1p/19q
2JÜR	Zwei-Jahres-Überlebensrate
5-ALA	5-Aminolävulinsäure
5JÜR	5-Jahres-Überlebensrate
AGT	O6-Alkylguanin-Transferase
AML	Akute Myeloische Leukämie
ATRX	X-chromosomales Alpha-Thalassämie-geistige Retardierung(-Syndrom)
Bev	Bevacizumab
CCNU	Chlorethyl-Cyclohexyl-Nitroso-Urea, Lomustin
CDK 4/6	<i>Cyclin-Dependent Kinase</i>
CDKN2A/B	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor
CI	Confidence Intervall
CONSORT	Consolidated Standards of Reporting Trials
CT	<i>hier (Legende Swimmers Plot):</i> Chemotherapie
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EGFR	Epidermale Growth Factor Receptor
EOR	Extent of Resection, Resektionsausmaß
GBM	Glioblastom
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein, Gliasfaserprotein
HE	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HR	Hazard Ratio
IDH	Isocitratdehydrogenase
IOM	intraoperatives Monitoring
KPS	Karnofsky Performance State
Lom	Lomustin, <i>siehe CCNU</i>
MGMT	O6-Methylguanin-DNS-Methyltransferase
MRT	Magnetresonanztomographie
MTIC	5-(3-methyltriazin-1-yl)imidazol-4-carboxamid

NADP/H	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NOS	not otherwise specified
OS	Overall Survival
PCV	Therapieschema mit Procarbazin, CCNU, Vincristin
PFS	Progression Free Survival
PPS	Post Progression Survival
pRB	Retinoblastoma protein, Tumorsupressorprotein
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog
RCT	Radio-Chemotherapie
RR	Relative Risk
RT	Radiotherapie
TMZ	Temozolomid
TP53, <i>syn.</i> p53	Tumorsupressorprotein, kodiert auf Gen 53
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	World Health Organisation

## 2 Einleitung

Bei Hirntumoren handelt es sich um Neoplasien des Zentralnervensystems, welche in niedrig- und höhergradige Tumoren unterschieden werden. Als primäre Hirntumoren werden Tumore verstanden, deren Ursprung sich im Neurocranium befindet, d.h. die aus Nervenzellen, Hirnhäuten, Gliazellen, embryonalen Zellen, Ependymzellen oder einer Mischung aus verschiedenen Zellen entstehen. Davon abzugrenzen sind sekundäre Hirntumore, welche sich im Rahmen einer Metastasierung ins ZNS aus einem extrakraniellen Primärtumor entwickeln. Bei Gliomen handelt es sich um hirneigene maligne Tumoren, welche sich aus Glia- oder Vorläuferzellen entwickeln. Zu den Zellen glialen Ursprungs gehören sowohl Astrozyten, Oligodendrozyten als auch ependymale Zellen, die dem Neurocranium als Stützgewebe dienen. Alle Entartungen des glialen Stützgewebes werden als Gliome bezeichnet. Dazu gehören das Astrozytom, das Oligoastrozytom, das Oligodendrogliom und das Glioblastom, sowie einige wenige seltene Histologien.

Gliome zählen zu den diffusen invasiven primären Hirntumoren. Mit einer Inzidenz von 3-4 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner jährlich machen Gliome 27% aller Tumoren und 80% aller malignen Tumoren aus. Dabei wird das GBM als das aggressivste Gliom, Grad IV nach der WHO-Klassifikation [1] eingestuft. Das GBM ist mit 46,6 % aller malignen primären Gehirn- und ZNS-Tumore der häufigste Vertreter [2]. Primäre GBMs entstehen mit einem Altersgipfel von 55-64 Jahren meistens bei älteren Patienten, wobei Männer häufiger betroffen sind (60,5%) als Frauen (39,5%) [3]. Sekundäre GBMs treten bei eher jüngeren Patienten (mit ca. 42 Jahren) auf [4]. Glioblastome entstehen zu ca. 90% de novo und zählen dann zu den primären GBMs. Sekundäre Glioblastome können sich aus niedriggradigen Gliomen entwickeln [5]. Über Risikofaktoren, welche die Entstehung des Glioblastoms begünstigen, ist noch wenig bekannt. Der Gebrauch von Mobiltelefonen [6] sowie eine Strahlenbelastung durch Radiotherapie, wie sie unter anderem bei einer Leukämieerkrankung angewendet wird, stehen unter Verdacht die Entwicklung eines GBM zu begünstigen [7].

## 2.1 Klassifikation

## 2.2 Histopathologie

Die WHO-Klassifizierung stellt ein wichtiges Kriterium zur Einteilung der Prognosen für die Lebenserwartung ab dem Zeitpunkt der Diagnosestellung dar. Bis zur neu erschienenen Auflage im Jahr 2016 lag die erwartete 5-Jahres-Überlebensrate (5JÜR) bei einem Gliom mit dem WHO-Grad I bei 94%, für das diffuse Astrozytom WHO-Grad II bei 47%, für das diffuse Oligodendrogliom mit ebenfalls WHO-Grad II hingegen bei 74%, für das anaplastische Astrozytom WHO-Grad III bei 26% und für das anaplastische Oligodendrogliom, WHO-Grad III, hingegen bei 49%. Die geringste 5JÜR lag mit 5% beim Glioblastom, WHO-Grad IV [8]. Hier wird deutlich, dass die zu erwartende Gesamtüberlebenszeit nicht immer mit dem histologischen Grad des Tumors korreliert, so dass weitere Kriterien mit einbezogen werden müssen, um die Prognose präzisieren zu können.

Bei der Bestimmung des histologischen Befundes werden anhand des resezierten bzw. biopsierten Gewebes die mikroskopischen Merkmale des Tumorwachstums untersucht. Dazu zählen erhöhte Zelldichte, vermehrtes Vorhandensein von Zellen in der Teilungsphase (Mitose), Neovaskularisation sowie Nekrose als Ausdruck unzureichender Blutversorgung bei rapide progredienten Tumoren.

Die diffusen Gliome werden mittels nachfolgender Kriterien in WHO-Grade II-IV klassifiziert:

- **Grad II:** niedriggradig, Progression und Rezidiv möglich. Morphologisch stellt sich der Tumor in HE mit relativ hoher Zelldichte, Kernpolymorphie mit breitem Infiltrationssaum dar. Astrozytome mit Grad II lassen sich anhand ihrer Morphologie in fibrilläre, protoplasmatische und gemistozytische Typen unterscheiden. Immunhistologisch sind das GFAP, molekulargenetisch eine Mutation am TP53 (Tumorsuppressor)-Gen sowie am IDH-Protein, bei 50% aller diffusen Gliom nachweisbar.
- **Grad III:** höhergradig, anaplastisch, rapide progredient, Rezidiv und Entartung zum GBM möglich. Morphologisch in HE diffus, zell dicht und infiltrativ mit Gefäßeinsprossung. Verglichen mit WHO Grad II deutlich mehr Kernpolymorphismen und Mitosen. Immunhistologisch sind das GFAP,

molekulargenetisch eine Mutation am TP53 (Tumorsuppressor)-Gen sowie am IDH-Protein, bei 50% aller diffusen Gliom nachweisbar.

- **Grad IV:** hochmaligne, rapide progredient und rezidivierend. Morphologisch stellt sich das GBM in HE typischerweise mit einer Streifung aus Nekrosen und einer Tumorblutung, Kernpolymorphismen, erhöhten Mitose- und Proliferationsraten, Pseudopalisaden, einer Neovaskularisation mit großlumigen Tumorgefäßen und Blutungsspuren dar. Immunhistologisch ist das GFAP als Marker nachweisbar, ebenso wie für Astrozytome, Ependymome und Oligodendrogliome. Molekulargenetisch sind gehäuft Mutationen der Gene CDK4/6 und CDKN2A/B [9], EGFR [10], TP53, PTEN und pRB bei GBM-Patienten festzustellen [11].

### 2.3 Molekulare Marker diffuser Gliome

Marker	Bedeutung
MGMT methyliert	- prognostisch - prädiktiv für das Therapieansprechen auf alkylierende Chemotherapeutika sowie Radiatio
IDH-1/ IDH-2 Mutation vorhanden	- diagnostisch für diffuse Gliome WHO Grad II und III - prognostisch für diffuse Gliome WHO Grad II und III und für sekundäre Glioblastome
1p/19q Ko-Deletion	- diagnostisch zur Differenzierung zwischen Astrozytom und Oligodendrogliom - prognostisch bei glialen Tumoren - prädiktiv bei sequentieller Radiochemotherapie

**Übersicht 1:** Übersicht der wichtigsten molekulargenetischen Marker und ihrer Bedeutung, nach Dietmaier et al., 2015, modifiziert [12]

#### Isocitrat-Dehydrogenase-Mutationen

Bei der *Isocitrat-Dehydrogenase* (IDH) handelt es sich um ein Enzym des Citratzyklus und somit um einen Bestandteil des Glucose-Stoffwechsels. IDH katalysiert die oxidative Decarboxylierung von Isocitrat zu  $\alpha$ -Ketoglutarat. IDH-1 und IDH-2 benötigen den Kofaktor NADP<sup>+</sup> und sind Homodimere. Jeweils eine Isoform ist im Mitochondrium (IDH1) und im Zytosol (IDH2) zu finden [13-15]. IDH-1 Mutationen sind heterozygot

und basieren typischerweise auf einer Aminosäuren-Substitution der aktiven Seite des Enzyms am Codon 132 [16, 17], entsprechend bei der IDH-2 Mutation am Codon 172. Wenn weder eine Mutation am Codon 132 noch am Codon 172 vorliegt, handelt es sich um die nicht mutierte IDH-Wildtyp Form eines Glioms [18]. Mutierte Formen der IDH katalysieren nicht die Decarboxylierung von Isocitrat zu  $\alpha$ -Ketoglutarat, sondern reduzieren  $\alpha$ -Ketoglutarat zu 2-Hydroxyglutarat. Dies führt zu einer Veränderung der DNA, u. A. zu einer Methylierung, also zu einer Inaktivierung von Histonen. Methylierte Abschnitte der DNA können nicht abgelesen und die entsprechenden Proteine nicht gebildet werden. Das Auftreten einer IDH Mutation kann zur Abgrenzung zwischen diffusen und nicht diffusen Gliomen verwendet werden und dient auch als prognostischer Marker bei Patienten mit einem Gliom mit WHO-Grad II oder III [19-22] und bei Patienten mit einem Glioblastom WHO-Grad IV [23]. Grundlegende Beobachtungen über IDH1-Mutationen und ihre klinische Bedeutung wurden bereits 2008 von Parsons et al. gemacht. So wurde beobachtet, dass bei eher jüngeren GBM-Patienten bevorzugt IDH-1-Mutationen auftreten, verglichen mit dem IDH-Wildtyp (ca. 33 Jahre vs. ca. 53 Jahre), ebenso bevorzugt bei Patienten mit einem sekundären GBM im Vergleich zum primären GBM (5 von 6 vs. 7 von 99). Darüber hinaus konnte eine signifikant verbesserte Prognose im medianen Gesamtüberleben der Patienten mit IDH1-Mutation ermittelt werden, verglichen mit den Patienten, welche einen IDH-1-Wildtyp aufweisen (3,8 vs. 1,1 Jahre) [20]. Schlussendlich konnte eindeutig gezeigt werden, dass eine Mutation des IDH-Proteins bei Gliomen die Prognose der Gesamtüberlebenszeit der Patienten beeinflusst. Patienten mit IDH- mutierten Gliomen weisen eine günstigere Prognose auf als mit Gliomen ohne Mutationen im IDH-Gen [2, 23-25].

### **O<sup>6</sup>-Methylguanin-DNS-Methyltransferase**

Die *O<sup>6</sup>-Methylguanin-DNS-Methyltransferase* (MGMT) ist ein Protein, welches an der Reparatur von alkylierter DNA beteiligt ist, indem es ein Reparaturprotein codiert, welches DNS-Addukte entfernt [26]. Alkylierende Chemotherapeutika, unter anderem Temozolomid, wirken indem sie zur Alkylierung von DNA führen, was dann zum selbstinduzierten Zelltod, der Apoptose der Tumorzelle führt. Bei etwa einem Drittel der malignen Gliome (ca.36-37%) liegt die Promotorregion der MGMT auf der DNA

methyliert vor und befindet sich in einem inaktiven Status und die Reparaturproteine können nicht transkribiert und nicht gebildet werden [27]. Liegt eine Hypermethylierung des MGMT-Genpromotors bei einem malignen Gliom vor, bleibt die schützende Wirkung gegen Medikamente wie Temozolomid aus, weswegen die Sensitivität von alkylierenden Chemotherapeutika erhöht ist [26]. Daraus ergibt sich für Patienten mit primärem Glioblastom ein signifikanter Vorteil gegenüber einem Glioblastom mit unmethylierten MGMT-Status, wenn ein methylierter MGMT-Status vorliegt. Dies trifft im Speziellen zu, wenn eine kombinierte Radio-Chemo-Therapie mit Temozolomid erfolgt. Patienten mit methyliertem MGMT-Status profitieren von einer kombinierten Radiotherapie mit Temozolomid mit einem medianen Überleben von 21,7 Monaten im Gegensatz zu 15,3 Monaten bei einer alleinigen Strahlentherapie [28]. Demzufolge wird in der aktuellen WHO-Klassifikation der Hirntumore der MGMT-Status berücksichtigt, weil er als prädiktiver Marker für das Ansprechen auf die Therapie mit Temozolomid sowie Radiotherapie Aufschluss gibt [12]. Zusätzlich stellt die Hypermethylierung einen prädiktiven Biomarker dar, welcher die Wirksamkeit einer Therapie, hier mit Temozolomid, anzeigt [28].

### **1p/19q Ko-Deletion**

Das kombinierte Fehlen der Allele an Chromosom 1 (1p) und an Chromosom 19 (19q) ist typischerweise bei Oligodendrogliomen zu finden [29] und dient gleichzeitig zur Abgrenzung dieser vom Astrozytom, im Besonderen wenn histologisch ein Mischbild von astroglialen und oligodendroglialen Komponenten vorliegt [12]. Außerdem dient die Ko-Deletion als spezifischer Marker zur Abgrenzung vom Glioblastom, welches aus einem Oligodendrogliom entstanden ist [30]. Es hat sich gezeigt, dass Gliom-Patienten mit einem kombinierten Verlust von 1p/19q ein besseres Ansprechen auf eine Radio- und Chemotherapie und eine längere Gesamtüberlebenszeit aufweisen [31-34]. Genauer gesagt stellt die Ko-Deletion von 1p/19q einen positiven prognostischen Marker für Patienten mit einem oligodendroglialen Tumor dar. Ebenso dient sie als prädiktiver Faktor für die sequentielle Therapie des Oligodendroglioms mit PCV (Procarbazin, CCNU, Vincristin) [12].

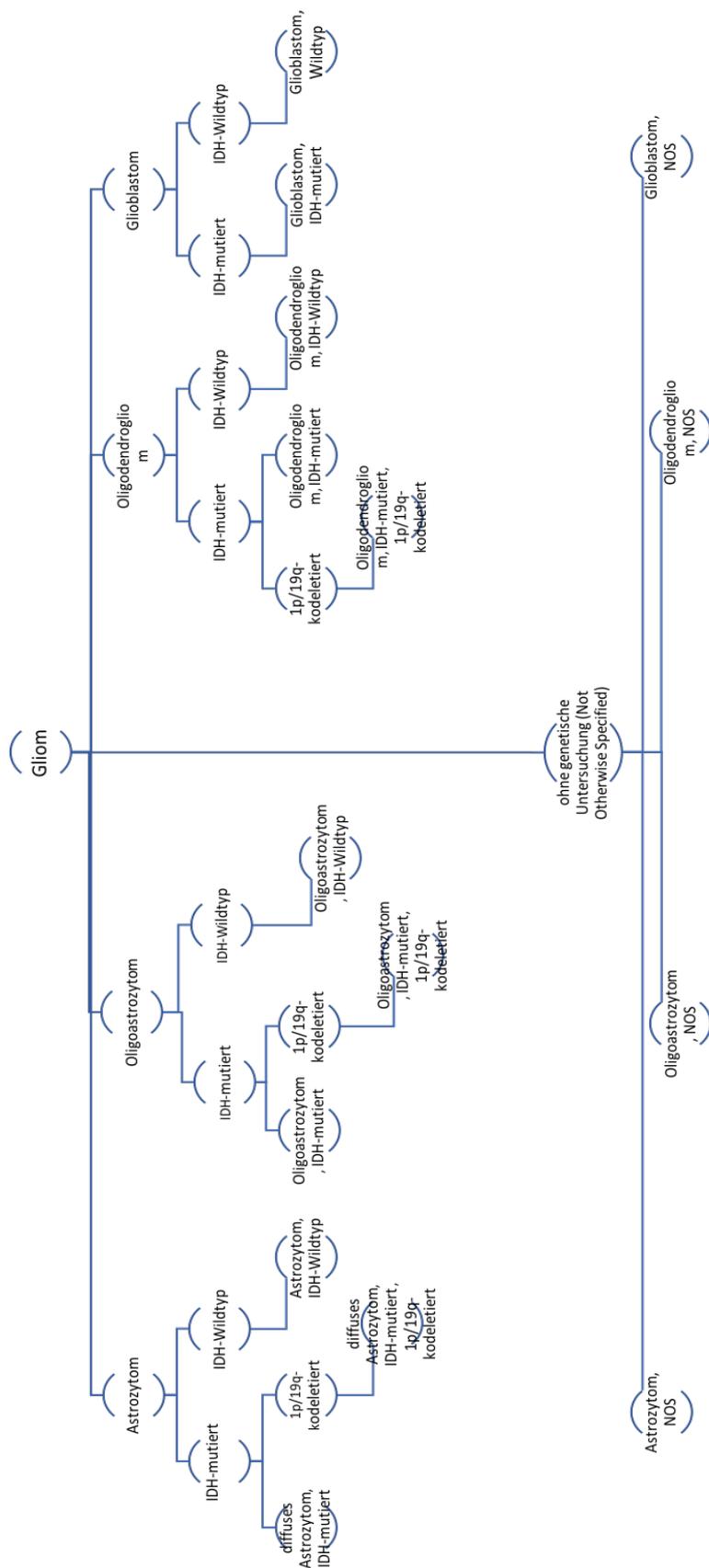
## **Epidermale Growth Factor Receptor (EGFR)**

Der epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor bzw. EGFR induziert bei Stimulation einen proliferativen oder trophischen Effekt auf eine Vielzahl von Zellen [35]. Viele Neoplasien weisen eine Vielzahl von Rezeptoren an der Zellmembran auf und stehen somit unter Verdacht an der Pathogenese beteiligt zu sein [36], so weisen 50% aller Glioblastome EGFRs auf [10]. Die EGFR-Genamplifikation und Überexpression sind markante Merkmale des Glioblastoms. Die Rezeptoramplifikation beim GBM geht häufig mit der Expression der Variante III (EGFRvIII) einher, bei welcher die Exone 2-7 fehlen und der Rezeptor permanent aktiv ist [37, 38]. Die Überexpression von EGFR und EGFRvIII trägt zum proliferativen und invasiven Phänotyp des Glioblastoms bei [39, 40]. EGFR ist somit ein potentiell prädiktiver Marker für gezielte Therapien des EGFR.

## **2.4 Integrierte Diagnose der WHO-Klassifikation von 2016**

Neben der konventionellen histopathologischen Diagnosestellung sind, aufgrund der zunehmenden Anerkennung der Bedeutung von Biomarkern für die spezifische Histologie bei Hirntumoren, in der aktuellen WHO-Klassifikation von 2016 erstmals molekulargenetische Marker systematisch berücksichtigt, welche in den vergangenen Jahren als prädiktive Faktoren identifiziert wurden [18]. Diese lassen eine präzisere Vorhersage der Lebenserwartung bei einem neu diagnostizierten Gliom zu. Die aktuelle Klassifikation berücksichtigt nun neben den histologischen Befunden, Astrozytom und Oligodendrogliom, molekulargenetische Alterationen wie den IDH-Status, den Verlust von ATRX und die Ko-Deletion von 1p/19q [18].

Die Namensgebung für die ZNS-Tumordiagnosen besteht nun aus einem histopathologischen Namen, gefolgt von den genetischen Merkmalen, wie z.B.: diffuses Astrozytom, IDH-mutiert [18]. Können keine genetischen Merkmale eruiert werden, wird das ebenfalls in der Diagnose kenntlich gemacht in Form des Kürzels NOS für „not otherwise specified“.



**Figur 1:** Ein vereinfachter Algorithmus zur Klassifizierung der diffusen Gliome basierend auf histologischen und genetischen Merkmalen [18].

Das histopathologische Korrelat der Gliomklassifizierung der WHO findet sich entsprechend in der Entartung bzw. der Malignität der Tumoren wieder. Dabei wird in der neuen WHO Klassifikation 2016 histomorphologisch und molekulargenetisch zwischen vier Graden differenziert und die Tumoren werden entsprechend in WHO-Grad I bis IV bzw. bei den Gliomen in II-IV eingeteilt [18]. Primär hängt die Prognose von molekularen Markern und sekundär von der WHO-Graduierung ab, da einige Marker nicht nur prognostische, sondern auch prädiktive Aussagekraft haben, wie beispielsweise der MGMT-Status und die Deletion am 1p/19q-Gen [12].

Die diffusen Gliome umfassen in der neuen Klassifikation die astrozytären Tumoren WHO Grad II und III, die Oligodendrogliome Grad II und III, das Glioblastom Grad IV sowie die diffusen Gliome bei Kindern und Jugendlichen. Diffuse Astrozytome und Oligodendrogliome sind nun nosologisch ähnlicher als diffuse Astrozytome und pilozytische Astrozytome. Das pilozytische Astrozytom, welches dem Grad I zugehört, ist die einzige Gliomvariante, welche als heilbar gilt [18, 41], aber nicht zu den diffusen Gliomen zählt. Die diffusen Astrozytome mit WHO Grad II und die anaplastischen Astrozytome mit WHO Grad III werden nun jeweils in IDH-mutiert-, IDH-wildtyp- und NOS-Kategorien eingeteilt. Sowohl Grad II als auch Grad III Tumoren gehören in der Mehrheit der getesteten Fälle zu den IDH-mutierten Varianten. Wenn die Immunhistochemie und Sequenzierung für IDH1 und IDH2 negativ sind, kann die Läsion als IDH-Wildtyp diagnostiziert werden. Die Mutationen von ARTX oder TP53 sind charakteristisch für Gliome astrozytären Ursprung[42], aber nicht zwingend erforderlich für die Diagnose [18].

Diffuse Gliome WHO-Grad II und III werden histologisch und prognostisch durch das Vorhandensein oder Fehlen einer Mutation von IDH1 oder IDH2 und einer 1p/19q Kodeletion in drei Typen eingeteilt: Hierdurch lassen sich spezifischere Tumorentitäten charakterisieren, welche eine präzisere Prognose erlauben:

- Fall 1: Oligodendrogliom, IDH mutiert (1p/19q kodeletiert, WHO-Grad II-III)
- Fall 2: Diffuses Astrozytom, IDH mutiert (1p/19q nicht kodeletiert, WHO-Grad II-III)

- Fall 3: Diffuses Astrozytom, IDH wild-type (1p/19q nicht kodeletiert, WHO-Grad II-III)
- Fall 4: Glioblastom, IDH wild-type (WHO-Grad IV)

Bislang lag ein deutlicher Unterschied zwischen der Prognose eines Glioms mit Grad II und eines Glioms Grad III vor. Wenn allerdings die IDH-mutierte Form vorliegt, sind die Prognosen für das Gesamtüberleben für die WHO-Grade II und III ähnlich und die Prognose ist in beiden Fällen insgesamt günstiger als bei den IDH-Wildtyp Gliomen. Diese Differenzierung wird in der neuen Klassifizierung berücksichtigt. Innerhalb der IDH-mutierten Gliome können die Astrozytome mit einer intermediären Prognose von den Oligodendrozyten mit der besten Prognose unterschieden werden. Das Vorliegen einer kombinierten Kodeletion der Chromosomenarme 1p und 19q ist charakteristisch für ein Gliom oligodendroglialen Ursprungs. Das Glioblastom stellt weiterhin den Vertreter des WHO-Grad IV Glioms dar, kann nun aber ebenfalls anhand des Vorliegens einer IDH-Mutation (IDH-Wildtyp versus IDH mutiert) in ein primäres und sekundäres GBM unterschieden werden [18]. Hauptsächlich liegt die IDH-Wildtyp Variante vor. IDH mutierte GBMs werden den sekundären GBM, die aus niedriggradigeren Gliomen hervorgegangen sind, zugeordnet. Mutationen im EGFR-Gen sind in etwa der Hälfte der primären GBM zu finden [10]. Kann der IDH-Status nicht ermittelt werden, gilt die molekulare Diagnose bei allen Gliomen dann als NOS (not otherwise specified). Um in der Praxis ein einheitliches Vorgehen zu ermöglichen und allem voran, um eine vollständige Diagnose zu schaffen, soll das Konzept der „Integrierten Diagnose“ Anwendung finden. Dieses setzt sich aus drei elementaren Informationen zusammen, welche hierarchisch die Diagnose definieren: 1.) histologischer Tumortyp, 2.) molekularer Befund und 3.) histologischer WHO-Grad. Daraus ergibt sich beispielhaft für ein GBM: Glioblastom, IDH-Wildtyp, WHO-Grad IV [18]. Es wird deutlich, dass sich durch die neue WHO-Klassifizierung präzisere Prognosen treffen lassen, wenn die molekularen Marker bekannt sind. So liegt das Gesamtüberleben bei einem IDH-mutierten Glioblastom bei 31 Monaten, wohingegen bei einem nicht IDH-mutierten GBM das Überleben nur auf ca. 15 Monate prognostiziert wird [24, 25]. Des Weiteren ist die Prognose eines anaplastischen Astrozytoms, IDH-Wildtyp, schlechter als die eines sekundären Glioblastoms, IDH-mutiert [24]. Die Prognose für das Gesamtüberleben ist

beim IDH-Wildtyp mit lediglich 20 Monaten deutlich schlechter als bei der IDH-mutierten Form des anaplastischen Astrozytoms mit 65 Monaten [22, 25].

## **2.5 Prognose des GBMs**

Unbehandelt haben Patienten mit einem Glioblastom leider nur eine sehr schlechte Prognose. Die mediane Lebenserwartung liegt bei ca. 3-4 Monaten [43]. Bei einer rein chirurgischen Therapie mittels Resektion liegt die mediane Lebenserwartung bei ungefähr einem halben Jahr. Eine zusätzliche Radiotherapie nach erfolgter Resektion hebt die mediane Lebenserwartung auf 12,1 Monate [44]. Erst mit der Einführung der konkomittanten Radiochemotherapie mit Temozolomid gefolgt von einer Temozolomiderhaltungstherapie konnte eine weitere relevante Verlängerung der medianen Lebenserwartung um 2,5 Monaten erzielt werden [44]. Das mediane Gesamtüberleben liegt bei ca. 86% nach sechs Monaten, bei 61% nach einem Jahr und bei 27% nach zwei Jahren ab dem Zeitpunkt der Diagnosestellung bei erfolgter Therapie mittels chirurgischer Resektion, anschließender Bestrahlung unter konkomittanter Temozolomidgabe und darauffolgender Erhaltungstherapie mit Temozolomid [44]. Im Gegensatz dazu liegt nach alleiniger Bestrahlung das mediane Gesamtüberleben nach sechs Monaten bei ca. 84 %, nach einem Jahr bei 50% und nach zwei Jahren bei 10%. [44].

## **2.6 Prognostische und prädiktive Faktoren**

Prognostische Faktoren geben darüber Aufschluss, welche individuelle Prognose für den Patienten zu erwarten ist. Zu diesen Faktoren zählt das Alter des Patienten. Hierbei zeigt sich mit zunehmendem Lebensalter eine schlechtere Prognose. Ebenso spielt der klinische oder neurologische Zustand des Patienten eine prognostische Rolle. Patienten mit besserem klinischem Zustand zu Beginn der Diagnose z.B. gemessen mit dem Karnofsky-Index oder Mini Mental Status nach Folstein zeigen eine günstigere Prognose. Der molekulare MGMT-Status dient ebenso als prognostischer Faktor mit einem besseren Ansprechen auf eine alkylierende Therapie bei Methylierung der MGMT. Zusätzlich

spielt das Ausmaß der Resektion eine relevante Rolle mit längeren Überlebenszeiten in Abhängigkeit vom Ausmaß der Resektion bzw. vom residualen Tumolvolumen [45, 46]. Diese sind voneinander unabhängige Faktoren, welche das Gesamtüberleben prognostisch beeinflussen. Zu den prädiktiven Faktoren gehören jene, welche zusätzlich eine Aussage darüber erlauben, ob eine spezielle Therapie in Subgruppen des Glioblastoms wirksam oder besser wirksam ist. Im Fall des primären Glioblastoms zählt hierzu der MGMT-Status mit besserem Ansprechen der Chemotherapie bei Patienten mit methyliertem MGMT.

## **2.7 Chirurgische Behandlung**

Das Ziel der Operation ist die Gewinnung einer Probe für die histopathologische und molekulare Klassifizierung des Tumors. Hierbei gilt es im Einzelfall zu entscheiden, ob eine zeitgleiche therapeutische Entfernung des Tumors aufgrund der Lage und Ausdehnung möglich ist oder ob nur eine Biopsie indiziert ist. Einer offenen Resektion wird der Vorzug gegeben, wenn ein guter Allgemeinzustand sowie eine gut zugängliche Lage und Unilokalität des Tumors vorliegen. Das Ziel des chirurgischen Eingriffs stellt darüber hinaus eine Verringerung der Gesamttumormasse und die Verbesserung bzw. die Vermeidung von gegebenenfalls weiteren neurologischen Defiziten dar [47]. Eine möglichst vollständige Entfernung des Tumors sollte unter Rücksicht auf den Erhalt der gesunden Hirnstrukturen erfolgen. Durch die pathologischen Charakteristika der Gliome ist allerdings eine vollständige mikroskopische und somit eine kurative Resektion nahezu unmöglich. Damit stellt sich die Herausforderung zumindest die makroskopisch intraoperativen Möglichkeiten optimal auszunutzen und das Gesamtvolumen des Tumors so weit wie möglich zu reduzieren. Das Ergebnis der Tumorresektion sollte durch ein frühes postoperatives MRT, 24 - 72 Stunden nach dem Eingriff, verifiziert werden [47]. Um die Radikalität zu erhöhen und die neurologischen Funktionen bzw. gesunden Strukturen zu schützen, stehen Neurochirurgen folgende technische Möglichkeiten zur Verfügung. So kommt zur präziseren Differenzierung zwischen krankem und gesundem Gewebe während der Resektion die 5-Aminolävulinsäure (5-ALA), als Werkzeug zur Identifizierung von Tumor über die Grenzen der Schrankenstörung im MRT hinaus, zur Anwendung. Diese wird von den Tumorzellen vermehrt aufgenommen und

verstoffwechselt. Hierbei entsteht ein Protoporphyrin, welches unter Blaulicht violett leuchtet und damit das pathologische Gewebe markiert und so eine höhere Radikalität ermöglicht. Im frühen postoperativen Vergleich (MRT 24-72h nach Operation) konnte eine nahezu doppelte Anzahl an Patienten ohne Verbleib von sichtbarem Residualgewebe nach erfolgter Fluoreszenzchirurgie ausgemacht werden [45]. Eine weitere Methode zur Steigerung des Resektionsausmaßes ist die Elektrophysiologie, welche auch als intraoperatives Monitoring (IOM) bezeichnet wird. Sie ermöglicht es, während des Eingriffs die sensomotorischen kortikalen Zentren und subkortikalen Faserbahnen kontinuierlich zu überprüfen und bietet damit die Möglichkeit diese zu schonen [47-50]. Diese Methode stellt, mit einer nur sehr geringen Rate von ca. 6% permanenter neurologischer Ausfälle, ein sicheres Verfahren zum Erhalt eines guten Outcomes dar [51]. Zusätzlich bietet sich die Wachoperation, insbesondere bei räumlich enger Nähe von Tumoren zum Sprach- oder Seh-Zentrum als Verfahren an, um eloquente Zentren und Faserbahnen zu identifizieren und unter Erhalt dieser die Tumorresektion zu maximieren [52].

## **2.8 Temozolomid**

Temozolomid (TMZ) ist ein oral zu verabreichendes Zytostatikum aus der Gruppe der Alkylanzien. Alkylanzien verbinden sich mit dem genetischen Material des Zellkerns. Letztlich wird die Weitergabe der Erbinformation bei der Zellteilung der Tumorzelle verhindert [53, 54]. TMZ wird rasch und vollständig nach oraler Verabreichung resorbiert und weist eine gute Bioverfügbarkeit sowie Gewebepenetration, einschließlich in das Gehirn, auf. Temozolomid liegt als Prodrug in der inaktiven Form als Imidazol-Tetrazin-Derivat vor und wandelt sich spontan bei physiologischem pH-Wert in wässriger Lösung in die aktive Form 5-(3-methyltriazin-1-yl)imidazol-4-carboxamid (MTIC) um [55]. Durch die Anwesenheit von MTIC erfolgt während der Replikation der Zelle eine fehlerhafte Basenpaarung am Tochterstrang, welche durch die üblichen Reparaturmechanismen nicht korrigiert werden kann. Dieser sogenannte Mismatch-Reparaturweg spielt eine Schlüsselrolle bei der Signalisierung durch das p53-Gen zur Apoptose [56]. Es wird angenommen, dass die wiederholte unmögliche Fehlpaarungsreparatur zu einem Zustand chronischer Strangbrüche führt. Dadurch wird eine apoptotische Reaktion in Gang gesetzt und die Zelle induziert schließlich ihren

eigenen Zelltod [57]. Eine Form der Resistenz gegen MTIC wird durch das Enzym O6-Alkylguanin-Transferase (AGT) vermittelt [58, 59], welches wiederum durch den bereits beschriebenen Promoter MGMT codiert wird. AGT schützt vor Mutagenese und maligner Transformation durch fehlerhafte DNS [26]. Jedoch weisen ca. 40% der primären GBM einen inaktiven, also einen hypermethylierten MGMT-Status auf. In diesem Fall kann der beschriebene Resistenz-Mechanismus durch das Enzym AGT nicht in Kraft treten. Dann ist die optimale Sensitivität für Temozolomid gegeben [23, 27, 28]. Durch die Zugabe von TMZ zur Strahlentherapie bei Patienten mit einem neu diagnostizierten Glioblastom verlängert sich das Überleben signifikant. Die Überlebenszeit steigt im Median um 2,5 Monate an und das Sterberisiko sinkt um 37 %. Die Zwei-Jahres-Überlebensrate (2JÜR) steigt von 10,4% (alleinige Bestrahlung) auf 26,5% durch die Zugabe von TMZ. Zusammenfassend bietet die Zugabe von Temozolomid zur Strahlentherapie bei der Therapie des primären GBMs einen statistisch signifikanten und klinisch bedeutsamen Überlebensvorteil. Nebenwirkungen bei einer Kombinationstherapie von TMZ konkomittant zur Bestrahlung sind neben dem häufigen Fatigue-Syndrom (33%) auch hämatotoxische Effekte bei ca. 7% der Patienten [44]. Zu den weiteren zählen vor allem die Neutropenie, Thrombozytopenie sowie Infektionen und Thromboembolien [60].

### **3 Zielsetzung**

Die aktuelle Standard-Therapie des Glioblastoms stellt nach erfolgter neurochirurgischer Resektion weiterhin die konkomittante Radiotherapie mit simultaner Gabe von Temozolomid (TMZ) mit anschließender Erhaltungstherapie mit Temozolomid für bis zu weitere sechs Zyklen dar [44]. Die mediane Lebenserwartung liegt unter dieser Therapie, ab dem Zeitpunkt der Diagnosestellung, bei ca. 14,6 Monaten. Alle seit der Einführung der Standardtherapie nach Stupp et al. im Jahre 2005 konsekutiv erfolgten Phase-III-Studien mit neuen Ansätzen, konnten keinen weiteren signifikanten Vorteil im Hinblick auf das Gesamtüberleben, der entsprechenden Patienten, hervorbringen [61]. So hat weder ein intensiviertes Schema der Temozolomid-Gabe [62], die zusätzliche Gabe von Bevacizumab [63, 64], die Gabe eines Wachstumsheimmers, dem sog. „vascular

endothelial growth factor“ (VEGF) [65], noch die zusätzliche Gabe von Cilengitid, welches als Intergrin-Antagonist fungiert [66], bei Patienten mit MGMT-methylierten Gliomen [67] zu einer Änderung der Standard-Therapie geführt [63, 64, 67].

Im Rahmen der Standardtherapie des GBMs wird eine Erhaltungstherapie mit Temozolomid über bis zu sechs Zyklen nach Abschluss der konkomittanten Radiochemotherapie empfohlen [44]. In klinischer Praxis hingegen hat sich an einigen Tumorzentren die fortlaufende Gabe von Temozolomid über sechs Zyklen hinaus etabliert [61, 68, 69].

Einige retrospektive Studien legen nahe, dass eine Prolongierung der Erhaltungstherapie mit Temozolomid einen Vorteil im Gesamtüberleben mit sich bringt. Limitierende Faktoren dieser Studien waren, dass: (1) Patienten mit verlängerter Temozolomidgabe mit Patienten verglichen wurden, die bis zu sechs, aber nicht exakt sechs Zyklen TMZ erhalten haben [70, 71]; (2) bei verlängerter Gabe der MGMT-Status in den Untersuchungen nicht berücksichtigt wurde [71, 72] und (3) zum Teil nur univariate Kaplan-Meier-Analysen des Gesamtüberlebens bei Patienten mit exakt sechs Zyklen und verlängerter Temozolomidgabe durchgeführt wurden, aber keine multivariaten Regressionen angewendet wurden, um die Signifikanz dieser univariaten Ergebnisse zu verifizieren [61, 70-73].

Wie bereits von Skardelly und Dangel et al. publiziert, besteht das Ziel dieser Studie darin, den Einfluss einer prolongierten Gabe von TMZ über 6 Zyklen hinaus auf das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben zu untersuchen.

Um dies zu gewährleisten erfolgte zum einen, eine Subgruppenanalyse, welche einen direkten Vergleich von Patienten mit 6 Zyklen TMZ und mehr als 6 Zyklen TMZ erlaubt. Zum anderen sind die oben beschriebenen etablierten Prädiktoren, unter anderem der MGMT-Status, berücksichtigt. Außerdem erfolgte die Auswertung unserer Studienergebnisse im Rahmen eines multivariaten Ansatzes [61].

Die Studie soll darlegen, ob eine Fortführung der TMZ-Zyklen, wie es häufig Anwendung findet [68, 69], einen signifikanten Vorteil hinsichtlich des Gesamtüberlebens nach sich zieht und somit Anlass gibt, die aktuell geltende Standardtherapie [44] zu überdenken.

## **4 Methodik**

### **4.1 Studiendesign**

In dieser unizentrischen retrospektiven Studie wurden am Universitätsklinikum Tübingen, Baden-Württemberg, behandelte Patienten mit einem neu diagnostizierten Glioblastom untersucht. Die Wirkung einer verlängerten Temozolomid-Erhaltungstherapie (über sechs Zyklen hinaus) nach erfolgter Resektion und Bestrahlung unter konkomittanter Temozolomidgabe wurde im Hinblick auf das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben untersucht [61]. Die Ethikkommission stimmte der Analyse der hier verwendeten klinischen Daten zu (Projekt-Nummer 111/2014A vom 12.03.2014).

Mit der Kaplan-Meier-Methode wurden das progressionsfreie Überleben (progression free survival=PFS) und das Gesamtüberleben (overall survival=OS), welche als Intervalle zwischen Zeitpunkt der ersten Operation und dem Zeitpunkt des Todes bzw. dem Zeitpunkt des ersten mittels MRT erfassten bilddiagnostischen Progresses definiert sind, untersucht. Als Latenzzeit der Therapie wurde die Zeit zwischen Operation und Beginn der Strahlentherapie definiert.

Das Hazard Ratio (HR) für die Standardtherapie mit exakt sechs Zyklen im Vergleich zur verlängerten TMZ-Erhaltungstherapie über sechs Zyklen wurde unter der Berücksichtigung von bekannten unabhängigen Variablen (Kovariaten) wie dem Alter, dem Resektionsausmaß (EOR=Extent of Resection), dem MGMT-Status und dem Karnofsky-Index (KPS=Karnofsky Performance State), mittels Cox-Regression bestimmt. Die Verteilungen der signifikanten Kovariaten innerhalb der Therapiegruppen wurde durch logistische Regression bestimmt [61].

### **4.2 Teilnehmer**

Die Patientenauswahl ist im CONSORT-Diagramm (Figur 2) dargestellt. Es wurden alle erwachsenen Patienten (Alter  $\geq 18$  Jahre) eingeschlossen, die von Januar 2006 bis Dezember 2013 an einem primären GBM erkrankt sind und in unserer Klinik operiert wurden. Es wurden nur Patienten berücksichtigt, die im Anschluss an die Resektion eine

Standard-Strahlentherapie mit begleitender TMZ-Gabe sowie anschließender TMZ-Erhaltungstherapie nach Stupp [44] erhalten haben und in einer elektronischen Datenbank erfasst wurden [61].

### **4.3 Klinische Parameter**

Zur Analyse wurden allgemeine Patientenmerkmale, neuropathologische Diagnosen, einschließlich molekularer Marker, wie IDH-Mutationen, MGMT-Hypermethylierung, sowie das Resektionsausmaß und der Karnofsky-Status, erfasst. Des Weiteren wurden Behandlungsparameter wie Strahlendosis, Temozolomid-Dosis und Anzahl der Temozolomid-Zyklen sowie chronologische Schlüsselparameter wie Zeitpunkt der Operation, Zeitpunkt der Progression, Zeitpunkt des Todes, Zeitpunkt der letzten Kontrolluntersuchung, Zeitpunkt des Behandlungsbeginnes etc. berücksichtigt. Die postoperative Magnetresonanztomographie (MRT) innerhalb der ersten 48 Stunden diente als Grundlage für die Beurteilung des Resektionsausmaßes. Alle drei Monate erfolgte ein Kontroll-MRT und diente als Follow-up. Patienten, die aufgrund von unerwünschten Ereignissen die konkomittante Radio-Chemotherapie unterbrechen mussten, wurden ausgeschlossen [61]. Ausgenommen davon wurden Patienten, welche

- a) eine Radiotherapie mit einer Strahlendosis von  $\geq 54$  Gray (Gy) unter gleichzeitiger TMZ-Gabe erhielten oder
- b) eine Radiotherapie mit einer Strahlendosis von  $> 30$  Gy und begleitender TMZ-Gabe sowie mindestens einen Zyklus der anschließenden TMZ-Erhaltungstherapie erhalten haben.

### **4.4 Patientengruppen**

Die Patienten wurden in drei Gruppen unterteilt: Patienten, die bis zu fünf Zyklen TMZ erhielten (Gruppe A), Patienten, die genau sechs Zyklen TMZ, mit anschließendem Follow-up bis zur ersten Progression erhielten (Gruppe B) und Patienten, welche mehr als sechs Zyklen der TMZ-Erhaltungstherapie erhielten (Gruppe C).

Patienten, die während der TMZ-Erhaltungstherapie aufgrund von einer Tumorprogression das Medikament absetzen mussten, wurden von der Analyse ausgeschlossen. Es sind nur Patienten in die Analyse einbezogen, welche die Einnahme von TMZ wegen limitierender Toxizität oder die Therapie auf eigenen Wunsch abbrachen.

Subgruppen-Analysen des Gesamtüberlebens wurden für die signifikanten Kovariaten durchgeführt, die bei der multivariaten Cox-Regression identifiziert wurden. Cox-Regressionsanalysen wurden für die verschiedenen Therapiegruppen (B gegen A, C gegen A und C gegen B) unter Berücksichtigung der bekannten prognostischen Faktoren durchgeführt.

Hierzu gehören

- a) das Alter ( $\leq 50$  Jahre vs.  $> 50$  Jahre)
- b) der Karnofsky-Status (Karnofsky Performance Score KPS  $<70$  vs.  $\geq 70$ ),
- c) die MGMT-Promotor-Hypermethylierung (MGMT-Status unmethyliert vs. methyliert)
- d) das Ausmaß der Resektion (EOR, Totalresektion vs. Teilresektion und Biopsie)
- e) das Geschlecht (weiblich vs. männlich)

der Patienten. Subgruppenanalysen der Cox-Regressionen, die auf das Vorhandensein oder Fehlen der jeweiligen Risikofaktoren dichotomisiert wurden, sind für jede signifikante Kovariate durchgeführt worden [61].

#### **4.5 Statistik**

Die Häufigkeitsverteilungen aller klinischen Daten wurden für den Vergleich zwischen den Therapiegruppen erhoben. Cox-proportionale Hazard-Regressionen wurden univariat durchgeführt, um den direkten Zusammenhang zwischen der Anzahl von TMZ-Erhaltungszyklen und dem Gesamtüberleben zu untersuchen. Anschließend wurden Hazard-Regressionen für das Gesamtüberleben nach Anpassung an die bekannten Störfaktoren (Confounder) wie o.g. Alter, KPS, MGMT-Status, Resektionsausmaß und Geschlecht erneut durchgeführt [61].

Kontinuierliche Variablen wie Alter und KPS der Patienten wurden zu kategorischen Variablen dichotomisiert, dabei entsprechen die festgelegten prädiktiven Schwellenwerte den Literaturangaben: Alter  $\leq 50$  Jahre und  $> 50$  Jahre und KPS  $< 70$  und  $\geq 70$  [61, 63, 64].

Die Ergebnisse wurden als Hazard Ratios mit einem Konfidenzintervall von 95% (confidence interval=CI) und dem Signifikanzniveau  $\alpha < 0,05$  definiert. Das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben wurden mit der Kaplan-Meier-Methode für alle Therapiegruppen bestimmt. Für alle signifikanten prädiktiven Faktoren, welche durch die Cox-Regression bestimmt wurden, wurde zusätzlich eine Subgruppenanalyse durchgeführt [61].

Das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben wurden zwischen der Gruppe B und der Gruppe C, unter Berücksichtigung der bekannten Kovariaten wie Alter, KPS, MGMT-Status und Resektionsausmaß, mittels inverser Wahrscheinlichkeitsgewichtungen und ungleicher Verteilung in dieser retrospektiven Analyse verglichen.

Um die Verteilung der etablierten Confounder zwischen den Therapiegruppen zu untersuchen, wurde ein logistisches Regressionsmodell verwendet.

JMP (SAS Institute Inc., Cary, NC [https://www.jmp.com/en\\_us/home.html](https://www.jmp.com/en_us/home.html)), Version 11.1.1., wurde als statistische Erkennungssoftware angewendet. Für die angepasste Kaplan-Meier-Schätzung wurde das IPW-Überlebenspaket in R von Le Borgne und Foucher [74] gemäß Cole und Hernán [75] verwendet [61].

## 5 Ergebnisse

Von Januar 2006 bis Dezember 2013 wurden in unserer Klinik 538 Patienten mit einem primären Glioblastom behandelt. Davon erhielten 220 Patienten nach einer operativen Resektion des Tumors eine konkomittante Radio-Chemotherapie mit Temozolomid gefolgt von einer Temozolomid-Erhaltungstherapie [61] (Figur 2).

51 Patienten wurden aus unserer Studie ausgeschlossen, weil sie

- 1) an einer prospektiven Studie teilnahmen (n = 40),
- 2) keine vollständige Radio-Chemotherapie (n = 6) erhielten oder
- 3) Daten zu Schlüsselparametern, wie Anzahl der Temozolomid-Zyklen o.ä., fehlten (n = 5).

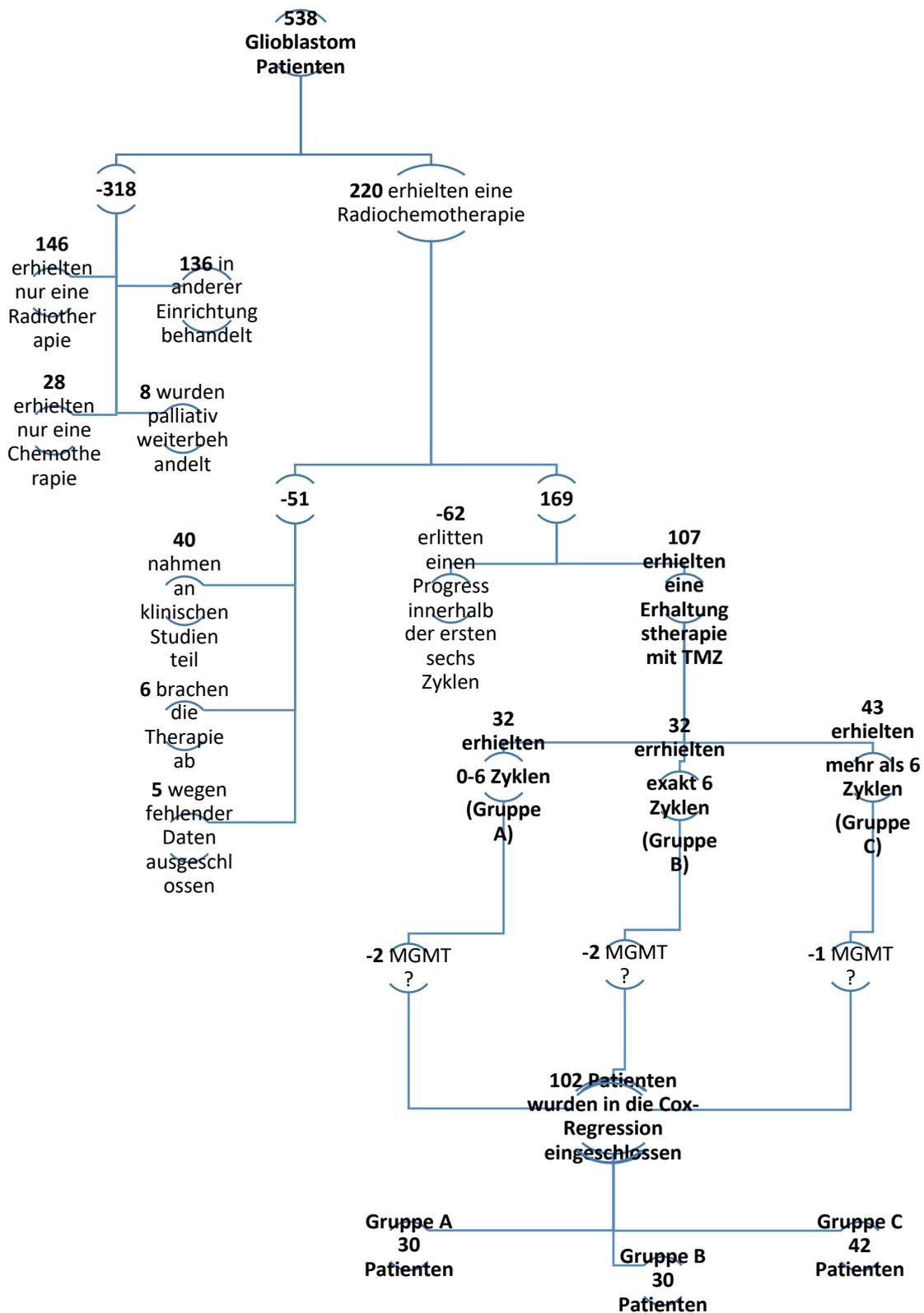
Insgesamt wurden in die unizentrische Studie somit 169 Patienten eingeschlossen.

Aus der resultierenden Kohorte (n = 169) erhielten 75 (44%) Patienten sechs oder mehr Zyklen der Temozolomid-Erhaltungstherapie.

Zum Abschluss der Analyse im April 2016 waren 120 (71%) Patienten verstorben. 49 (29%) Patienten waren noch am Leben, davon wurden 16 an externen Zentren weiterbehandelt.

Aufgrund einer Progression während der ersten sechs Zyklen der Temozolomid-Erhaltungstherapie wurden 62 Patienten aus der Analyse ausgeschlossen. Somit wurden in der univariaten Kaplan-Meier-Analyse und in der Cox-Regression 107 Patienten betrachtet.

Für die endgültige Auswertung, mittels univariater Cox-Regression, wurden nochmals zwei Patienten aus der Gruppe A, sowie zwei Patienten aus der Gruppe B und ein Patient aus Gruppe C, ausgeschlossen. Diese fünf Patienten wurden, um eine Verzerrung der Ergebnisse zu vermeiden, aus der Analyse ausgeschlossen, da der MGMT-Status dieser fünf Patienten nicht vorlag. Die endgültige Fallzahl beläuft sich somit auf 102 Patienten [61] (siehe Figur 2).



**Figur 2:** CONSORT-Diagramm zur schematischen Darstellung der Patientenkohorte

In der Gesamtanalyse erhielt im Median Gruppe A (n = 32) einen Zyklus Temozolomid, Gruppe B (n = 32) exakt sechs Zyklen Temozolomid und Gruppe C (n = 43) 12 Zyklen Temozolomid während der Erhaltungstherapie.

Die Wahrscheinlichkeit eine prolongierte Temozolomid-Erhaltungstherapie zu erhalten, hat sich in unserem Zentrum zwischen 2006 und 2014 verändert (p = 0.02).

So erhielten 60% der Patienten (6/10) in den Jahren 2006-2008, 79% der Patienten (19/24) in den Jahren 2009-2011 und 44% der Patienten (18/41) in den Jahren 2012-2014 weitere Zyklen der Temozolomid-Erhaltungstherapie nach Abschluss der empfohlenen sechs Zyklen Temozolomid.

Das Resektionsausmaß, das Alter der Patienten und die unerwünschten Ereignisse, welche zum Ausschluss der Studie führten, waren zwischen den einzelnen Gruppen nicht ausgeglichen. Unerwünschte Ereignisse wurden häufiger in Gruppe A beobachtet, in welcher weniger als die standardmäßigen sechs Zyklen Temozolomid-Erhaltungstherapie gegeben wurden. Die unerwünschten Ereignisse korrelierten dabei intrinsisch invertiert mit der Anzahl der stattgehabten Temozolomid-Zyklen (siehe Tabelle 1). Allerdings wurde keine statistische Signifikanz erreicht [61].

In der Betrachtung der reinen Gesamtüberlebenszeit wies Gruppe A einen Median von 12,7 Monaten (95% CI 10,3-16,7), Gruppe B von 25,2 Monaten (95% CI 17,7-55,5) und Gruppe C von 28,6 Monaten (95% CI 24,4-offen) auf (siehe Tabelle 2).

Nach 24 Monaten lag die Überlebenswahrscheinlichkeit bei Gruppe C bei 65%, bei Gruppe B bei 51% und bei Gruppe A bei 24% (siehe Abbildung A).

Die 2JÜR liegt bei einem Glioblastom bei 27%, wenn eine chirurgische Totalresektion, eine konkomittante Radio-Chemo-Therapie und eine Erhaltungstherapie von sechs Zyklen Temozolomid erfolgt [44, 61].

Bei der univariaten Analyse des Gesamtüberlebens bei Patienten  $\geq 50$  versus  $< 50$  ergab sich ein Median von 11,5 (95% CI 8,1-16,5) vs. 22,9 (95% CI 10,3-50,9) Monate in der Gruppe A, 22,7 (95% CI 16-33,2) vs. 83,6 (95% CI 11,8-83,6) Monate in Gruppe B und 28,4 (95% CI 22,3-51,2) vs. 28,6 (95% CI 20,4-offen) Monate für Gruppe C (siehe Tabelle 5 und Tabelle 6). Die statistische Analyse bestätigte das Lebensalter als einen signifikanten Prädiktor für das Gesamtüberleben (p = 0,001).

Die Analyse des MGMT-Status erwies sich ebenfalls als ein signifikanter Prädiktor (Log-Rang  $p = 0,0002$ , Wilcoxon  $< 0,0001$ ) in Hinblick auf das Gesamtüberleben.

Bei der Betrachtung der reinen methylierten MGMT-Untergruppe, lag der Median hinsichtlich des Gesamtüberlebens in Gruppe A bei 16,7 Monaten (95% CI 7-33,87). In der unmethylierten Untergruppe lag der Median bei 11,3 Monaten (95% CI 8,1-15,2).

In Gruppe B lag der Median des Gesamtüberlebens bei einer methylierten MGMT bei 53,5 Monaten (95% CI 20,1-83,6). Die Gruppe mit unmethylierter MGMT- lag bei 19,0 Monaten (95% CI 12,6-offen).

Gruppe C wies ein medianes Gesamtüberleben von 49,5 Monaten (95% CI 21,4-offen) für die Patienten mit einem methyliertem MGMT-Status auf. Bei der unmethylierten Untergruppe lag der Median bei 27,4 Monaten (95% CI 20,4-offen) [61] (siehe Tabelle 7 und Tabelle 8).

Die univariate Analyse des Resektionsausmaßes ergab mittels dichotomer Auswertung zwischen stattgehabter Totalresektion und subtotaler Resektion bzw. Biopsie, dass die Totalresektion einen signifikanten Prädiktor für das Gesamtüberleben darstellt (Log-Rang  $p = 0,0009$ , Wilcoxon  $p = 0,0005$ , siehe Abbildung B).

Das Gesamtüberleben in Gruppe A wies einen Median von 16,5 Monaten (95% CI 8,1-30,7) auf, wenn eine Totalresektion erfolgt ist. Somit liegt der Median ca. 5,5 Monate über dem der subtotal resezierten Patienten der Gruppe A (11,3 Monate, 95% CI 5,8-15,2).

Gruppe B wies einen Median von 55,5 Monaten (95% CI 17,7-83,6) bei Totalresektion und 19,1 Monaten (95% CI 14,1-33,2) bei einer subtotalen Resektion oder Biopsie auf.

Gruppe C lag in der univariaten Analyse bei einem Median von 30,5 Monaten (95% CI 24,4-offen) bei Totalresektion und bei einem Median von 24,6 Monaten (95% CI 12,2,-offen) bei einer subtotalen Resektion bzw. Biopsie [61] (siehe Tabelle 9 und Tabelle 10).

Die isolierte, univariate Betrachtung des Gesamtüberlebens ergibt, dass eine prolongierte Gabe von Temozolomid in der Erhaltungstherapie über sechs Zyklen hinaus einen Überlebensvorteil für diese Patienten nach sich zieht.

Die Zwei-Jahres-Überlebensrate betrug in Gruppe A 24%, in Gruppe B 51% und 68% in Gruppe C [61] (Abbildung A und Tabellen 1,3,4).

Das relative Risiko (RR) der nicht adjustierten Cox-Regression für den Tod, im Vergleich zu Gruppe A, beträgt 0,38 (95% CI 0,20-0,68,  $p = 0,001$ ) für Gruppe B und 0,26 (95% CI 0,14-0,46,  $p < 0,0001$ ) für Gruppe C [61] (Tabelle 12).

Zu beachten ist, dass in der univariaten Analyse die ungleiche Verteilung zwischen den drei untersuchten Gruppen nicht berücksichtigt wurde [61].

So wurden jüngere Patienten (unter 50 Jahren) in Gruppe C mit 15/43 Patienten (58%) häufiger beobachtet als in Gruppe B 6/32 (19%). Einzelheiten können aus der Übersicht 2 entnommen werden.

Außerdem konnte in der Primärbehandlung eine Totalresektion bei 21/32 (66%) Patienten der Gruppe B und 36/43 (81%) Patienten der Gruppe C durchgeführt werden [61] (Tabelle 11).

Die logistische Regression bestätigt die ungleiche Verteilung des Alters und des Resektionsausmaßes zwischen den Gruppen B (exakt sechs Zyklen) und Gruppe C (mehr als sechs Zyklen) zu Ungunsten der Gruppe B.

Mittels multivariater Cox-Regression wurden als prädiktive Faktoren für das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben die Confounder Alter, Karnofsky-Index, Resektionsausmaß, MGMT-Status und Geschlecht betrachtet.

Wenn die ungleiche Verteilung der Confounder in den Gruppen B und C berücksichtigt werden, zeigt die multivariate Cox Regression, dass ein Lebensalter von unter 50 Jahren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung einen signifikanten Vorteil für das Gesamtüberleben bringt (95% CI 1,2-3,9,  $p = 0,0103$ ) (siehe Tabelle 13).

Im Gegenteil hierzu ist, hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens, ein jüngeres Alter nicht prognoserelevant (95% CI 0,8-2,1,  $p = 0,38$ ) [61] (Tabelle 14).

Ein Karnofsky-Index mit einem Wert  $>70$  stellt in der multivariaten Cox Regression für das Gesamtüberleben (95% CI 0,6-2,9,  $p = 0,6198$ ), ebenso wie für das progressionsfreie

Überleben (95% CI 0,5-2,2,  $p= 0,9514$ ), keinen signifikanten Confounder dar (siehe Tabelle 15 und 16).

Das Resektionsausmaß wurde als signifikanter Prädiktor für das Gesamtüberleben (95% CI, 1,5-4,0,  $p= 0,0006$ ), als auch für das progressionsfreie Überleben (95% CI 1,6-4,2,  $p= 0,0002$ ), in der multivariaten Cox-Regression ermittelt (Tabelle 17 und 18).

Ebenso wie bei der univariaten Analyse, wurde zwischen einer Totalresektion und einer subtotalen Resektion bzw. Biopsie das Ausmaß der Resektion dichotomisiert.

Ein methylierter MGMT-Promoter stellt in unserer Kohorte für das Gesamtüberleben (95% CI 0,3-1,0,  $p= 0,0307$ ) ebenso einen prognostischen Confounder dar, wie für das progressionsfreie Überleben (95% CI 0,2-0,7,  $p= 0,0002$ ) (siehe Tabelle 19 und 20).

Bei einem methylierten MGMT-Status lag der HR für das Gesamtüberleben bei 0,44 (95% CI 0,26-0,75,  $p= 0,002$ ) im Vergleich zu einem unmethylierten MGMT-Status. Für das progressionsfreie Überleben lag der HR bei 0,31 (95% CI 0,18-0,51,  $p= < 0,0001$ ) bei Patienten mit methyliertem MGMT-Promotor im Vergleich zu Patienten mit unmethyliertem MGMT-Promotor [61] (siehe Tabelle 21).

Die Cox-Regression bestätigte die prognostischen Rollen des hypermethylierten MGMT-Promotors (RR 0,44, 95% CI 0,26-0,75,  $p = 0,002$ ), des Resektionsausmaßes (RR 0,49, 95% CI 0,28-0,87,  $p = 0,015$ ) und des Alters zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (RR 0,40, 95% CI 0,19-0,78,  $p = 0,006$ ) als signifikante Prädiktoren für das Gesamtüberleben in der untersuchten Patientenkohorte [61].

Hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens konnte ebenso der MGMT-Status und das Resektionsausmaß, allerdings nicht das Alter, als signifikanter Prädiktor durch die Cox-Regression bestätigt werden (siehe Tabelle 21).

Das Geschlecht und der Karnofsky-Index der Patienten bestätigten sich nicht als signifikante Prädiktoren, weder für das Gesamtüberleben noch für das progressionsfreie Überleben (siehe Tabelle 21).

Nach Anpassung der nun eruierten Confounder, wie dem Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, dem Resektionsausmaß (EOR) bei der Primärtherapie und dem MGMT-Status des Tumors, ergab die Cox-Regression immer noch ein

signifikantes adjustiertes RR von 0,36 (95% CI 0,19-0,68,  $p = 0,002$ ) für Gruppe B und 0,28 (95% CI 0,14-0,54),  $p = 0,0002$ ) für Gruppe C (siehe Tabelle 12) [61].

Der direkte Vergleich von Gruppe C mit Gruppe B hingegen ergab keine signifikante Risikominimierung für den Tod (RR 0,77, 95% CI 0,39-1,55,  $p = 0,46$ ), jedoch eine Minimierung des Risikos einer Progression (RR 0,52, 95% CI 0,28-0,94,  $p = 0,03$ ) (siehe Tabelle 12) [61].

Zusammengefasst zeigt die multivariate Cox-Regression keinen Vorteil für das Gesamtüberleben für die Patientengruppe mit prolongierter Gabe von mehr als sechs Zyklen Temozolomid-Erhaltungstherapie im Vergleich zur Patientengruppe, die exakt sechs Zyklen Temozolomid erhalten hat, wenn die ermittelten Kovariaten MGMT-Status, Resektionsausmaß und Alter ausgeglichen berücksichtigt werden [61] (siehe Tabelle 12).

Außerdem wurde in unserer Studie die präoperative Gabe von Steroiden in der Primärtherapie untersucht. Es zeigte sich weder für das Gesamtüberleben noch für das progressionsfreie Überleben ein unabhängiger Einfluss durch eine präoperative Gabe von Cortison.

Des Weiteren konnte kein Vorteil bei einem Progress nach der Primärtherapie eruiert werden, wenn eine Rezidiv-Operation erfolgt ist - weder im Hinblick auf das Gesamtüberleben noch auf das progressionsfreie Überleben.

Daraus ergibt sich, dass die Rezidiv-Resektion kein prädiktiver Confounder für das Gesamtüberleben und für das progressionsfreie Überleben für die Patienten in unserer Kohorte ist.

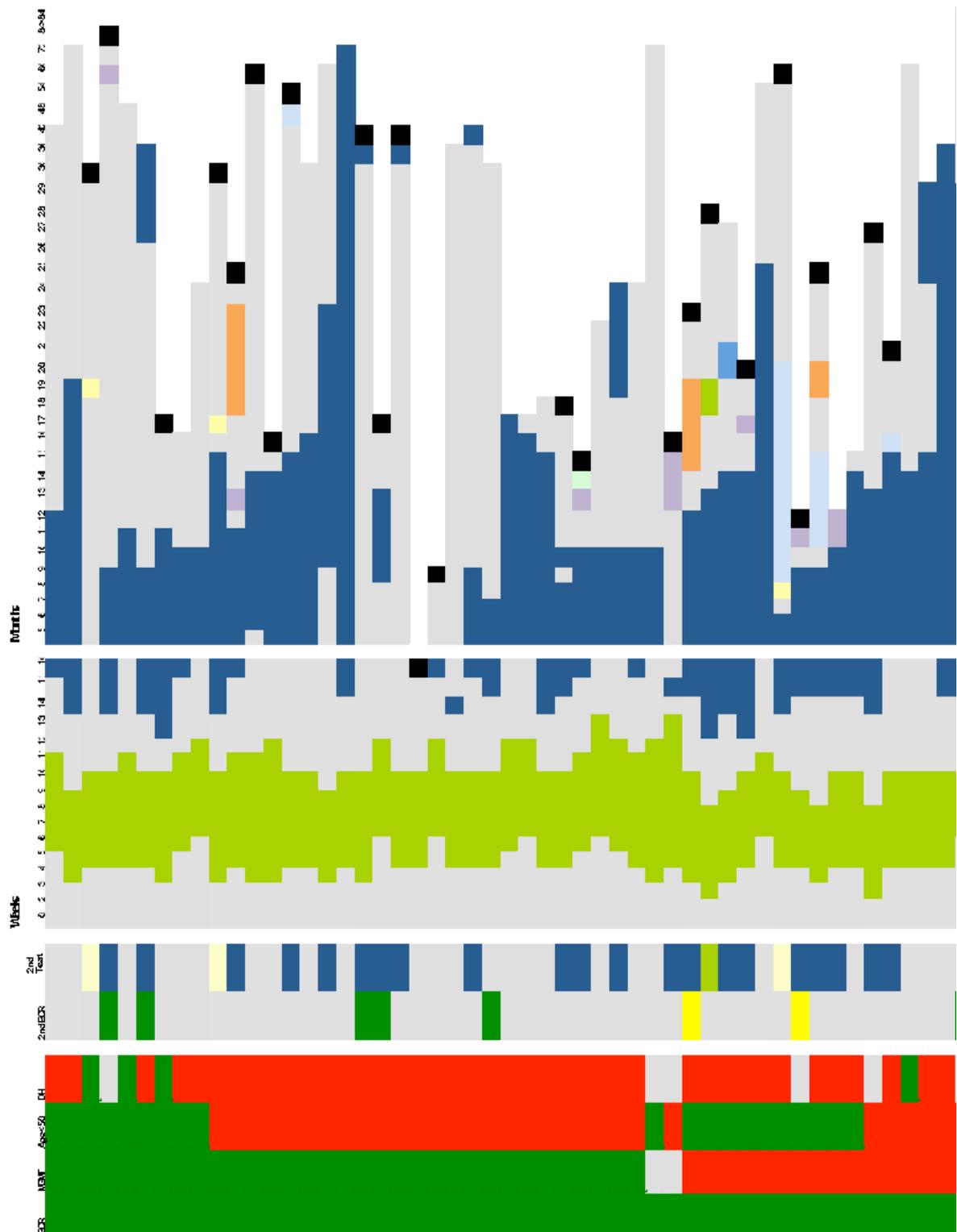
Der durchschnittliche Zeitraum bis zur ersten Progression betrug 8,1 Monate (95% CI 6,1-12,4) in Gruppe A (bis 5 Zyklen Temozolomid), 13,7 Monate (95% CI 10,6-17,5) in Gruppe B (6 Zyklen Temozolomid) und 20,9 Monate (95% CI 15,2-43,5) in Gruppe C (> 6 Zyklen Temozolomid).

Das Gesamtüberleben betrug 12,7 Monate (95% CI 10,3–16,8) in Gruppe A, 25,2 Monate (95% CI 17,7–55,5) in Gruppe B und 28,6 Monate (95% CI 24,4–offen) in Gruppe C [61].

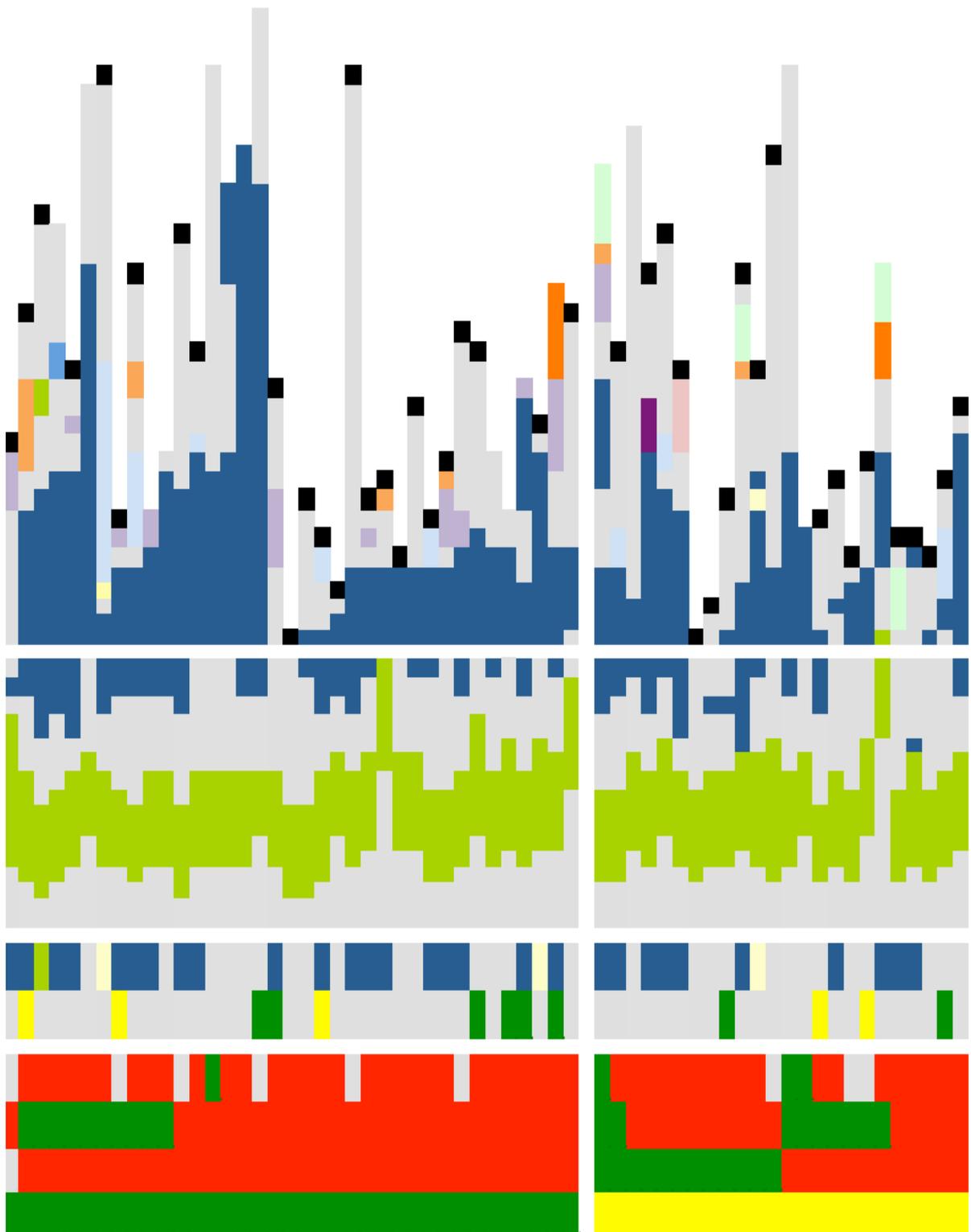
Es hat sich gezeigt, dass eine Totalresektion das Risiko für ein Rezidiv signifikant reduziert (HR) 0,38 (95% CI 0,24-0,62, p=0,0002), im Vergleich dazu, wenn eine Teilresektion in der Primärbehandlung erfolgt ist (HR 2,6, 95% CI 1,6-4,1, p= 0,0002). Das Ansprechen nach der ersten Progression auf eine Temozolomid-Rechallenge-Therapie (n = 21) oder einer Lomustin-Therapie (n = 10) betrug 47% (7/15) bei Patienten, die bereits sechs Zyklen Temozolomid-Erhaltungstherapie (Gruppe B) erhalten hatten und 13% (2/16) bei Patienten, welche mehr als sechs Zyklen Temozolomid-Erhaltungstherapie (Gruppe C) erhalten hatten.

Die Analyse des Rezidivmusters zwischen Gruppe B und C zeigte einen vergleichbaren Tumorprogress in der MRT-Bildgebung. Es konnte kein offensichtlicher Unterschied in der Größe und Lokalisation der Tumorprogression festgestellt werden [61].

Zur weiteren Übersicht sind die Risikoprofile und der individuelle Therapieverlauf für alle 107 Patienten in einem „Swimmers Plot“ aufgeführt.



**Figur 3:** Swimmers Plot, Gesamtüberleben



Figur 3: Swimmers Plot, Gesamtüberleben

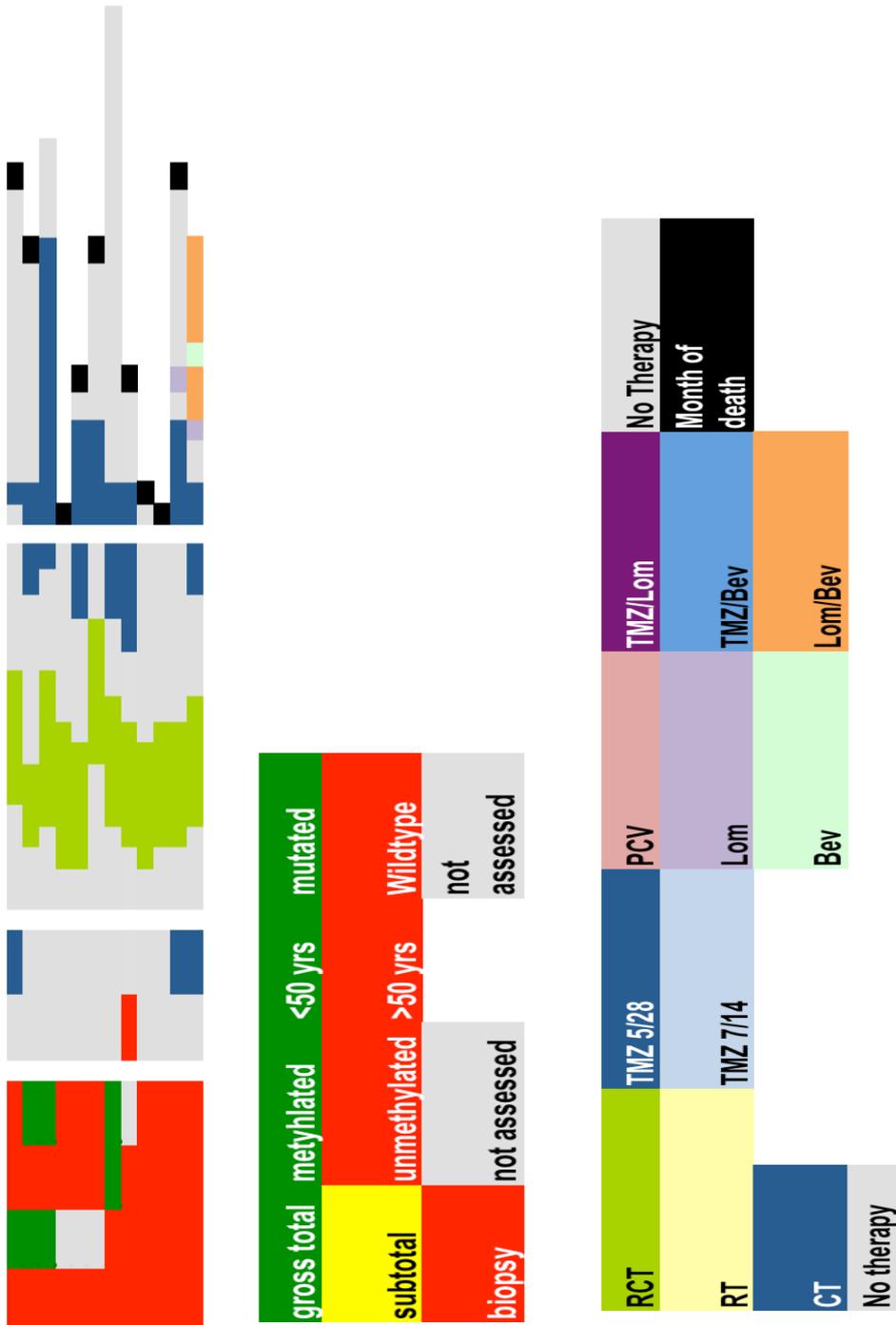


Figure 3: Swimmers Plot, Gesamtüberleben

Figur 3 zeigt einen „*Swimmers Plot*“, welcher die untersuchten Patienten zur visuellen Darstellung anhand ihrer Risikofaktoren systematisch stratifiziert, um die Ergebnisse bildlich nachzuvollziehen.

Der Swimmers Plot zeigt anhand der vertikalen Einteilung in vier Spalten den individuellen Verlauf für jeden einzelnen Patienten in unserer Kohorte während des Beobachtungszeitraumes. Jede Zeile präsentiert entsprechend eines Patienten unserer Kohorte.

Die erste Spalte zeigt die bekannten prognostischen Faktoren, die Prädiktoren Resektionsausmaß, MGMT-Status, Alter der Patienten bzw. Lebensalter über oder unter 50 Jahre und IDH-Status. Anhand der Legende unter dem Swimmers Plot sind entsprechend der Spalten die Farbcodes ebenfalls in vertikale Blöcke aufgeschlüsselt.

Die zweite Spalte zeigt den unmittelbaren Verlauf nach der ersten operativen Entfernung des Tumors. So wird zum einen das Ausmaß der Re-Resektion farblich dargestellt, sofern eine solche erfolgt ist. Zum anderen wird dargestellt, ob bzw. welche Therapie unmittelbar nach der operativen Entfernung vorgenommen wurde, beispielsweise die Gabe einer Chemotherapie als „blauer“ Farblock. Ein „grauer“ Block steht entsprechend dafür, wenn keine Therapie, vor der für uns relevanten konkomittanten Radio-Chemotherapie, erfolgt ist.

Die dritte Spalte von links stellt nun die entscheidende Analyse sehr übersichtlich dar: Alle Patienten erhielten ausnahmslos im Verlauf der aufgezeigten Wochen eine konkomittante Radio-Chemotherapie. Der durchgehende vertikale grüne Block dieser Spalte, welcher der genannten konkomittanten Radio-Chemotherapie nach Stupp [44] entspricht, stellt die Vergleichbarkeit aller Patienten unserer Kohorte visuell deutlich dar. In der letzten Spalte ist nun das Follow-Up der Patienten aufgezeigt. Es ist deutlich zu sehen, dass bis auf wenige Ausnahmen, die Erhaltungstherapie mit Temozolomid im 5/28 Regime fortgeführt wurde, zum Teil über Monate hinweg. In einigen Fällen wurden neben Temozolomid 5/28, entweder zusätzlich oder stattdessen, noch andere Chemotherapeutika wie PCV, Lomustin oder Bevacizumab verabreicht. Auch eine intensiviertere Gabe von Temozolomid im 7/14 Regime oder ein Absetzen jeglicher Medikation wurde dokumentiert und entsprechend farblich differenziert dargestellt, wie der Legende zu entnehmen ist.

In der horizontalen Aufteilung sind die Patienten anhand ihrer Ausgangssituation sortiert. Dabei stellt der oberste Block alle Patienten dar, bei welchen die günstigste Ausgangssituation vorherrscht. Ausschlaggebend bei dieser Aufteilung ist dabei der Prädiktor Resektionsausmaß. So konnte bei allen Patienten des obersten Blockes eine Totalresektion in der Primärtherapie vorgenommen werden. Alle weiteren Prädiktoren sind, wie bereits beschrieben, entsprechend der Farbcodes in der ersten Spalte dargestellt. Im mittleren horizontalen Block sind alle Patienten aufgelistet, welche eine subtotale Resektion erhalten haben.

Der letzte horizontale Block stellt die Subgruppe an Patienten dar, welche lediglich einer Biopsie unterzogen wurden, also keine Resektion im Sinne einer Elimination des Tumors stattfand. Sie stellen damit die Gruppe mit der prognostisch schlechtesten Ausgangssituation bzw. mit den ungünstigsten Prädiktoren dar.

Gut zu erkennen ist, dass in Abhängigkeit der Zeitachse der vierten Spalte des „Swimmer Plots“ nach unten hin immer schmaler wird. Die Distanz der Schwimmer zum Starblock nimmt nach unten hin ab, das Outcome der Patienten wird nach unten hin also ungünstiger. Dabei erlaubt uns die gemeinsame Ausgangssituation, mit erfolgter Radio-Chemotherapie in der dritten Spalte als durchgehend „grüner“ Block dargestellt, die drei Subgruppen miteinander zu vergleichen.

Wählt man exemplarisch den obersten Patienten aus der obersten Subgruppe, so kann man erkennen, dass der Patient eine Totalresektion erhalten hat, einen methylierten MGMT-Status hat, zum Zeitpunkt der Diagnosestellung unter 50 Jahre alt war und einen IDH-Wildtyp aufweist. Bis auf den IDH-Status weist dieser Patient die günstigsten Prädiktoren auf. Anhand der Legende unter dem Swimmer Plot lassen sich die Farbcodierungen entsprechend seines Befunds ablesen.

Betrachtet man nun den weiteren Verlauf, so kann man der zweiten Spalte entnehmen, dass keine Re-Resektion und keine andere Behandlung erfolgt ist. In der dritten Spalte unseres Patienten kann man nun erkennen, dass in Woche fünf nach Diagnosestellung die konkomittante Radio-Chemotherapie bis einschließlich Woche 11 erfolgt ist.

In Woche 15 hat dieser Patient mit der Erhaltungstherapie mit Temozolomid im 5/28 Regime begonnen, welches als „blauer“ Abschnitt dargestellt ist. In der letzten Spalte lässt sich ablesen, dass die Erhaltungstherapie bis zu Monat 12 erfolgt ist. Der darauffolgende „graue“ Balken zeigt die therapiefreie Zeit. Der Balken endet bei Monat

40. Ab hier ist die chronologische Zeit nicht mehr linear, die Monate sind in komprimierter Form dargestellt.

Die Tatsache, dass der Patient keinen schwarzen Endpunkt aufweist, wie es in der Legende als Todeszeitpunkt codiert ist, bedeutet, dass der Patient noch am Leben war, aber ab diesem Zeitpunkt keine Daten mehr vorliegen. Somit wurden in die Analyse ausschließlich gesicherte Daten des Patienten übernommen. Anhand dieses Patienten lässt sich ablesen, dass die Erhaltungstherapie in seinem Fall über 6 Zyklen hinaus bis zu 12 Zyklen erfolgt ist und dass das Gesamtüberleben bei mindestens 40 Monaten lag und der Patient somit ein über doppelt so langes Gesamtüberleben, verglichen mit dem Median des Gesamtkollektives von Glioblastompatienten von 14,6 Monaten, aufweist [44]. Ebenso zeigt der beschriebene Patient exemplarisch unsere Beobachtung zur Tendenz einer prolongierten Temozolomiderhaltungstherapie, vor allem im Zusammenhang mit jüngeren Patienten (unter 50 Jahren) [68, 69].

Resümierend zeigt der Swimmer Plot, dass die ersten „Schwimmzüge“ entscheidend sind. Wer den besten Start erbringt, also wer die besten prognostischen Faktoren aufweist, schwimmt am weitesten oder, in anderen Worten, weist somit das beste Gesamtüberleben auf.

## **6 Diskussion**

Die Verbesserung der Gesamtüberlebenszeit für Patienten mit einem Glioblastom ist in Anbetracht der aktuellen Prognose eine dringende Notwendigkeit. Aus diesem Grunde haben wir die Auswirkungen einer verlängerten TMZ-Erhaltungstherapie auf die Gesamtüberlebenszeit und auf die progressionsfreie Überlebenszeit in einer retrospektiven monozentrischen Studie in einer Kohorte von 107 Patienten untersucht [61].

Die Gesamtüberlebenszeit und progressionsfreie Überlebenszeit zeigten eine positive Korrelation mit der gruppierten Anzahl der TMZ-Zyklen in der Erhaltungstherapie (Gruppe A bis C).

Im direkten Vergleich zwischen den Patienten, welche exakt sechs Zyklen TMZ erhielten und jenen Patienten, welche mehr als sechs Zyklen TMZ erhielten, war die Gesamtüberlebenszeit und die progressionsfreie Überlebenszeit bei der Patientengruppe mit prolongierter Gabe erhöht.

Die univariate Kaplan-Meier Analyse zeigt einen Vorteil im Hinblick auf die 2JÜR von 12% für die Gruppe C (66%) mit der prolongierten Gabe von TMZ gegenüber der Gruppe B (44%) mit exakt sechs Zyklen TMZ und gegenüber Gruppe A (27%), welche weniger als 6 Zyklen TMZ erhielt [61].

Des Weiteren konnten die mittels univariaten Analysen ermittelten Kovariaten, wie der MGMT-Status, das Resektionsausmaß und das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, durch eine multivariate Analyse als signifikante Faktoren für das Gesamtüberleben in unserer Kohorte bestätigt werden [61].

Die multivariate Cox-Regression und angepasste Überlebenszeit-Analyse zeigten jedoch keinen Vorteil im Gesamtüberleben ( $p=0,46$ ) bei einer prolongierten TMZ-Erhaltungstherapie über sechs Zyklen hinaus.

Allerdings ergab sich ein Vorteil hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens ( $p=0,03$ ). Gruppe C, mit der prolongierten Gabe, wies einen Vorteil von 7,2 Monaten im Vergleich zu Gruppe B, mit exakt sechs Zyklen (20,9 vs. 13,7 Monate), auf [61].

Diese Studie zeigt auf, dass eine prolongierte Gabe der TMZ-Erhaltungstherapie, über sechs Zyklen hinaus, das progressionsfreie Überleben verlängern kann. Auch wenn die Überlebenszeit nicht verbessert wird, so ist dennoch für den einzelnen Patienten eine potentiell längere progressionsfreie Zeit und damit verbunden eine längere Symptomfreiheit möglich, was zum Erhalt der Lebensqualität beiträgt, insofern unerwünschte Arzneimittelwirkungen im vertretbaren Rahmen bleiben.

## 6.1 Grenzen und Chancen der retrospektiven Studie

Retrospektive Studien sind in ihrer Aussagekraft intrinsisch beschränkt, vor allem durch begrenzte Patientenzahlen, fehlende standardisierte Dokumentation oder fehlende Einhaltung von Richtlinien, z.B. gab es kein einheitliches Protokoll für die Follow-Up-Parameter. Einige Patienten erhielten eine Strahlentherapie mit begleitender und adjuvanter TMZ-Gabe heimatnah und wurden nur alle drei Monate in unserem Zentrum ambulant behandelt, sodass einige Daten nicht erhoben werden konnten bzw. bis zum Ende dieser Studie im April 2016 nicht vorlagen [61].

Das Fehlen von vollständigen Follow-Up-Parametern ist ein häufiges Problem in retrospektiven Studien und kann durch eine Selektion von Patienten zu Verzerrungen (Bias) führen. In der 2012 durchgeführten Studie von Roldan Urgoiti et al. lag so beispielsweise eine MGMT-Methylierung im Tumor bei 74% der Patienten in jener Gruppe vor, welche mehr als sechs Zyklen TMZ-Erhaltungstherapie erhielt [73].

Ebenso erhielten in der Gruppe von Patienten, die mehr als sechs Zyklen TMZ-Erhaltungstherapie erhalten haben, in der 2014 durchgeführten Studie von Barbagallo et al., 95% der Patienten eine Totalresektion [61, 70].

In prospektiven Studien lassen sich Kovariaten durch Einschlusskriterien, Randomisierung und Stratifizierung ausgleichen. Univariate Überlebenszeitanalysen, z.B. mittels der Kaplan-Meier-Analyse, sind hier geeignete Methoden, um die Wirkung einer spezifischen Therapie zu untersuchen.

In retrospektiven Analysen, wie auch in dieser Studie, führt die univariate Betrachtung der Überlebenszeitanalyse zu einer Verzerrung der Ergebnisse. In der multivariaten Cox-Regression sind die ungleichen Verteilungsverhältnisse aller prädiktiven Kovariaten berücksichtigt, im speziellen Alter und Resektionsausmaß, um angepasste Überlebenszeitkurven durch inverse Wahrscheinlichkeitsgewichtungen zu erlangen. In unserer Studie lag eine ungleiche Verteilung der abhängigen Faktoren wie dem Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose und dem Resektionsausmaß in der Primärtherapie zwischen der Gruppe B (exakt sechs Zyklen) und der Gruppe C (mehr als sechs Zyklen) zu Ungunsten der Gruppe B vor [61].

Dies führte zu einem Vorteil hinsichtlich des Gesamtüberlebens für Gruppe C in der univariaten Analyse, welcher allerdings in der multivariaten Analyse nicht bestätigt werden konnte (siehe Abbildung A).

Die Mechanismen, die dem beobachteten Nutzen einer verlängerten TMZ-Erhaltungstherapie beim progressionsfreien Überleben zugrunde liegen, sind spekulativ. Trotz radikaler Operationen ohne Nachweis eines Resttumors und anschließender Hochdosis-Radiotherapie entgehen einige Tumorzellen allen therapeutischen Anstrengungen. Wie wir wissen, töten Chemotherapeutika wie TMZ nur die sich schnell vermehrenden Tumorstammzellen, nicht aber die langsam zyklischen Glioblastomstammzellen [76].

Während der Ruhephase sind die Zellen wahrscheinlich vor zellzyklusabhängiger Zytotoxizität geschützt, was zumindest für leukämische Stammzellen gilt. In einer Studie von Ishikawa et al. (2007) wurde ein Erklärungsmodell zu Resistenzmechanismen bei leukämischen Stammzellen entwickelt, in welchem die Stammzellen als Osteoblasten vor einer Zytostatika-induzierten Apoptose geschützt sind [77].

Mit diesem Modell konnte gezeigt werden, dass leukämische Stammzellen ursächlich für den Ausbruch der Erkrankung AML (akute myeloische Leukämie) sind, ihre Selbsterneuerungsfähigkeit erhalten bleibt (ebenso wie bei gesunden Osteoblasten) und dass sie während der zyklischen Ruhephase vor einer durch Chemostatika induzierten Apoptose geschützt sind.

Dieser Ansatz ist ebenso denkbar beim Glioblastom. Möglicherweise existieren hier ebenso glioblastische Stammzellen, die sich der Chemotherapie entziehen.

In einem transgenen Mausmodell wurde auch für das Gliom gezeigt, dass TMZ die proliferierenden Zellen, nicht aber die ruhenden Zellen, abtötet, was somit lediglich zu einem Stillstand der Tumorzellproliferation führt [78].

Insofern der Tumor keine neue Resistenz gegen alkylierende Substanzen entwickelt, muss also die Tumorprogression während der Pause der TMZ-Anwendung erfolgen.

Die beobachtete verlängerte progressionsfreie Überlebenszeit der Gruppe C, mit 20,9 Monaten, verglichen mit der Gruppe B, mit 13,7 Monaten, ist vermutlich auf unser Studiendesign zurückzuführen.

Das Studiendesign ist so konzipiert, dass ungeachtet des Vorhandenseins eines Progresses, die TMZ-Erhaltungstherapie nach Abschluss von sechs Zyklen entweder stoppt, wie in Gruppe B, oder sich fortsetzt, wie in Gruppe C.

Die Tatsache, dass ein verlängertes progressionsfreies Überleben in Gruppe C beobachtet wurde, dies aber kein verlängertes Gesamtüberleben nach sich zog, lässt sich mit der Beobachtung in Einklang bringen, dass die Patienten mit exakt sechs Zyklen TMZ-Erhaltungstherapie (Gruppe B) ein besseres Ansprechen auf eine Rechallenge-Therapie aufweisen als Patienten der Gruppe C.

Die Ansprechrate von TMZ/Lomustin bei einer Rechallenge-Therapie nach der ersten Progression betrug in Gruppe B 47%, wohingegen in Gruppe C lediglich 13% der Patienten auf eine erneute Therapie ansprachen [61].

Es lässt sich die Vermutung aufstellen, dass während der prolongierten Gabe von TMZ lediglich die ohnehin nicht aggressiven und TMZ-sensitiven Tumorzellen zerstört werden. Somit ist bei erneuter Gabe eines Chemostatikas die Ansprechrate der Gruppe B besser als die der Gruppe C, bei welcher die Erhaltungstherapie fortgeführt wurde.

Das schlechtere Ansprechen der Gruppe C mit der prolongierten Gabe lässt sich vermutlich darauf zurückführen, dass alle sensitiven Tumorzellen bereits während der Erhaltungstherapie eliminiert wurden.

Nach exakt sechs Zyklen Erhaltungstherapie bietet Gruppe B ein breiteres Spektrum an TMZ-sensitiven Zellen beim befundenen Progress, was ein insgesamt besseres Ansprechen im direkten Vergleich der beiden Gruppen ergibt.

Letztlich weisen die beiden Gruppen, B und C, das gleiche Outcome auf. Dies führt zur Theorie, dass die progressiv-aggressiven Zellen, vielleicht auch die oben bereits benannten Glioblastomstammzellen [76], zu einem bestimmten Zeitpunkt im Krankheitsverlauf auftreten bzw. entarten und nicht mehr TMZ-sensitiv sind.

Um einen bilddiagnostischen Vergleich eines Tumorprogresses zwischen Gruppe B und C vornehmen zu können, wurden MRT-Befunde von denjenigen Patienten miteinander verglichen, welche hinsichtlich Alter, MGMT-Status und Resektionsausmaß ausgeglichen waren. Jeweils acht Befunde stammen von Patienten aus Gruppe B und acht von Patienten aus Gruppe C. Es konnte tatsächlich kein offensichtlicher Unterschied in der Lokalisation und dem Muster der Tumorprogression zwischen Gruppe B und Gruppe C festgestellt werden. Dies lässt vermuten, dass eine anhaltende Temozolomidgabe keinen wesentlichen Einfluss auf das Proliferations- und Migrationsverhalten der Tumorzellen ausübt.

Möglicherweise lässt aber die kleine Zahl der vergleichbaren Patienten keine erkennbare Häufung zu.

Alternativ ist ebenso eine Art der Resistenzbildung des Tumors denkbar. Eine nicht ersichtliche bzw. bilddiagnostisch nicht darstellbare Tumorprogression entwickelt unter der Dauertherapie mit Temozolomid eine nicht TMZ-sensitive und vielleicht sogar TMZ-resistente Zellpopulation. Diese Theorie der Resistenzbildung ist ebenfalls von Blumenthal et al. (2017) spekuliert worden [79].

Mit diesem Ansatz könnte auch erklärt werden, warum eine dosisintensivierte Gabe während der Erhaltungstherapie keinen Vorteil mit sich bringt. Denn hier könnte die Theorie, wie sie bereits 2010 von Perry et al. [80] in einer Phase-II-Studie aufgestellt wurde, wonach sich die Tumorvernichtung mit der Resistenzbildung einiger weniger Zellen gegenseitig aufhebt, eine Erklärung bieten.

Diese Theorien könnten, zumindest teilweise, die fehlende Fortsetzung des Vorteils des progressionsfreien Überlebens auf das Gesamtüberleben erklären und zeigen gleichzeitig die Wichtigkeit zukünftiger Forschungsansätze.

## **6.2 Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit anderen Studien**

In dieser Studie sind die klinischen Daten mit denen prospektiven Studien vergleichbar. Dennoch weist unsere Kohorte einen höheren Prozentsatz an Patienten mit erfolgter Totalresektion sowie auch vermehrt Patienten mit methyliertem MGMT-Status auf als

bei vergleichbaren prospektiven Studien [44, 62-64]. Diese Tatsache weist darauf hin, dass eine Stichprobenverzerrung in der Kohorte vorliegt. Diese ist vermutlich auf die Vorselektion, welche durch das retrospektive Studiendesign bedingt ist, zurück zu führen [61].

Von ursprünglich 169 Patienten, beendeten 75 die Studie mit erfolgter konkomittanter Radio-Chemotherapie und anschließend mindestens sechs Zyklen TMZ-Erhaltungstherapie.

Somit haben 44% der untersuchten Patienten in unserer Studie das volle Protokoll nach Stupp [44] absolviert. Damit liegt in unserer Studie der Anteil der Patienten, die das Protokoll vollständig durchlaufen haben, ca. 20% höher als in der originalen Studie von Stupp et al. [44] und anderen vergleichbaren prospektiven Phase-III-Studien zum Glioblastom, bei denen zwischen 36-37% der Patienten das volle Protokoll komplettierten [44, 62-64].

Bei 11% (19/169) der Patienten wurde beobachtet, dass aufgrund von erhöhter Toxizität die Standardtherapie abgesetzt wurde, was mit den Ergebnissen prospektiver Studien (12-16%) übereinstimmt [44, 62-64].

Bei 37% (62/169) der Patienten wurde die TMZ-Erhaltungstherapie aufgrund einer Tumorprogression gestoppt. Dies entspricht einem geringeren Prozentsatz als bei prospektiven Studien, welche einen Drop-out von etwa 47-49 % aufweisen [44, 61, 64].

Die 62 Patienten, welche eine Progression unter der TMZ-Erhaltungstherapie aufwiesen, wurden aus der Auswertung ausgeschlossen. Diese repräsentieren vermutlich eine sehr ungünstige Untergruppe der Glioblastom-Patienten, welche unabhängig von der Anzahl der Erhaltungstherapie-Zyklen oder den anderen bekannten prognostischen Faktoren, wie der MGMT-Methylierung-Status, ein sehr schlechtes Outcome und einen schnell voranschreitenden Krankheitsverlauf aufwiesen.

Der Ausschluss dieser prognostisch sehr ungünstigen Untergruppe wurde als notwendig erachtet, um eine Fehldeutung der Überlebenszeiten von Gruppe A zu vermeiden. Folglich sind in Gruppe A nur Patienten eingeschlossen, die aufgrund von einer erhöhten Hämatotoxizität oder auf eigenen Patientenwunsch die Erhaltungstherapie abbrechen. Insgesamt erhielten aus der gesamten Kohorte 43 Patienten, nach Entscheidung des

behandelnden Arztes und dem entsprechenden Patientenwunsch, mehr als die nach Stupp-Protokoll [44] empfohlenen sechs Zyklen der TMZ-Erhaltungstherapie und dienen damit als Grundlage unserer Fragestellung, ob eine prolongierte Gabe von Temozolomid einen Vorteil für diese Patienten bringt [61].

### **6.3 Vergleichbarkeit der klinischen Ergebnisse**

Die Ergebnisse dieser Studie bezüglich der Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Anzahl der Zyklen der TMZ-Erhaltungstherapie stimmen mit anderen retrospektiven Studien überein [70-73]. Die Gesamtüberlebenszeit der Patientengruppe mit exakt sechs Zyklen TMZ-Erhaltungstherapie, Gruppe B, beträgt 25,2 Monate. Der Vergleichswert bei anderen Studien liegt im Bereich zwischen 16,5-28,2 Monaten. Die Patienten, welche mehr als sechs Zyklen TMZ-Erhaltungstherapie erhielten, Gruppe C, liegen mit einer Gesamtüberlebenszeit von durchschnittlich 28,6 Monaten ebenfalls im Rahmen der Vergleichsstudien, welche 20,4-30,0 Monate aufweisen [61, 70-73].

Im direkten Vergleich zwischen Gruppe B, mit exakt sechs Zyklen TMZ-Erhaltungstherapie nach Stupp-Protokoll [44], und Gruppe C, mit der Fortführung der TMZ-Erhaltungstherapie über sechs Zyklen hinaus (Median 12 Zyklen), zeigt sich kein signifikanter Vorteil für die Gruppe C, mit der prolongierten Gabe von TMZ (RR 0,77, 95% CI 0,39-1,55,  $p = 0,46$ ), wenn eine multivariate Cox-Regression mit angepasster Überlebenszeitanalyse angewandt wird. Einen signifikanten Vorteil konnte mittels Cox-Regression und angepassten Überlebenszeitanalysen nur beim progressionsfreien Überleben festgestellt werden, wenn eine prolongierte Gabe der TMZ-Erhaltungstherapie erfolgt ist (RR 0,52, 95% CI 0,28-0,94,  $p=0,03$ ) [61].

Die ungleiche Verteilung der Patienten, welche eine Totalresektion erhalten haben bzw. welche ein Lebensalter von unter 50 Jahren aufwiesen, liegt zugunsten der Patientengruppe, die mehr als sechs Zyklen TMZ erhalten hat. Die Vergleichsgruppe, die exakt sechs Zyklen Temozolomid erhalten hat, weist einen geringeren Prozentsatz von 66% (versus 81%) bei der Totalresektion und von 19% (versus 35%) beim Lebensalter unter 50 Jahren auf [61].

Dieses Ungleichgewicht lässt sich möglicherweise darauf zurückführen, dass jüngere Patienten häufig einen besseren Allgemeinzustand aufweisen und daher die TMZ-Erhaltungstherapie besser vertragen und eine Fortführung eher in Betracht gezogen wurde als bei älteren Patienten. Ebenso lässt sich dieser Gedanke mit dem eher radikaleren Vorgehen bei der Resektion in der Primärtherapie vereinen, mit dem Ziel ein Rezidiv zu vermeiden.

Um jedoch Verzerrungen der Ergebnisse durch ungleiche Verteilungen der Prädiktoren zwischen den Patientengruppen zu berücksichtigen, erfolgten multivariate Regressionsanalysen unter Berücksichtigung der bekannten Kovariaten wie Alter, MGMT-Status und Resektionsausmaß.

Ebenso erfolgte eine angepasste Überlebenskurvenanalyse, um die Auswirkungen der ungleichen Verteilung von Alter und Resektionsausmaß grafisch darzustellen.

Aufgrund der begrenzten Fallzahl dieser Studie, mit 102 Patienten, ist allerdings die Aussagekraft (Power) unserer Analysen beschränkt.

In gleichem Maße muss aber auch beachtet werden, dass theoretisch durch die geringe Fallzahl die Möglichkeit fehlt, den wahren Nutzen einer prolongierten TMZ-Erhaltungstherapie durch eine Cox-Regression, welcher in der reinen Überlebenszeitanalyse zu beobachten ist, zu detektieren.

Durch die hier durchgeführte multivariate Cox-Regression lässt sich lediglich im Hinblick auf das progressionsfreie Überleben, nicht aber für das Gesamtüberleben, ein tatsächlicher Nutzen für eine verlängerte TMZ-Erhaltungstherapie beweisen.

Möglicherweise ist aber auch selbst dieser Nutzen, durch das Studiendesign bedingt [61].

Ebenso wie in früheren Studien, kann auch in dieser Studie bestätigt werden, dass eine prolongierte Gabe der TMZ Zyklen nur geringe Nebenwirkungen nach sich zieht und gut verträglich ist [68].

Die Herausforderung für die Zukunft besteht nun darin, die prädiktiven Faktoren zu identifizieren, um die Patienten zu definieren, welche von einer prolongierten TMZ-Erhaltungstherapie profitieren können und warum.

Die Auswirkungen einer Fortsetzung der TMZ-Erhaltungstherapie sind umstritten und wurden bisher in prospektiven randomisierten klinischen Studien noch nicht untersucht.

Im klinischen Alltag allerdings hat die prolongierte Gabe der TMZ-Erhaltungstherapie in vielen Zentren, wie auch in unserem, bereits Einzug gehalten.

Die Fragestellung nach dem Einfluss dieser verlängerten Gabe wurde ebenso in anderen Studien untersucht.

Nahezu zeitgleich wurden innerhalb von 15 Tagen zwei sehr ähnliche Studien veröffentlicht, die sich ebenfalls mit der Fortführung der TMZ-Erhaltungstherapie in der Primärtherapie bei einem Glioblastom in Hinblick auf das Gesamtüberleben, befassen [79, 81].

Zum einen veröffentlichte Blumenthal et al. die Ergebnisse einer Studie, welche einer Gesamtanalyse aus vier großen Phase-III-Studien entspricht. Diese wurden erst kürzlich auf der Jahrestagung der Gesellschaft für Neuro-Onkologie präsentiert [79].

Die Aufarbeitung und Zusammenführung der jeweiligen Daten dieser vier Studien konnte, ebenso wie unsere Studie, keine Verlängerung des Gesamtüberlebens durch eine prolongierte Gabe der TMZ-Erhaltungstherapie über sechs Zyklen hinaus ( $p = 0,99$ ) beweisen. Gleichmaßen konnte eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens, entsprechend unserer Datenlage, demonstriert werden (HR 0,77,  $p = 0,03$ ) [79].

Zum anderen veröffentlichte Gramatzki et al. eine Analyse der Daten des Deutschen Gliom-Netzwerks (German Glioma Network, GGN) hinsichtlich der Fortführung der TMZ-Erhaltungstherapie über sechs Zyklen hinaus. Das Ergebnis der Analyse beweist ebenfalls keinen signifikanten Vorteil für das Gesamtüberleben, wenn TMZ länger als sechs Zyklen gegeben wird. Darüber hinaus konnten die Ergebnisse von Gramatzki et al., sowohl im Gegensatz zu unserer als auch im Gegensatz zu der Studie von Blumenthal et al., keinen Vorteil für das progressionsfreie Überleben nachweisen [81].

Die Fallzahl der Patienten, welche mehr als sechs Zyklen TMZ erhielten, ist mit 291 bei Blumenthal et al. am höchsten, unsere Studie folgt mit 43 und Gramatzki et al. weist mit 32 Patienten die geringste Fallzahl auf. Die Fallzahlen der Vergleichsstudien setzen sich dabei aus unterschiedlichen Zentren zusammen, lediglich unsere Studie entspringt einer unizentrischen Analyse.

In den multivariaten Cox-Regressionen zeigte sich, dass lediglich der MGMT-Methylierung-Status als Prädiktor für das Gesamtüberleben in allen drei Studien übereinstimmend bestätigt werden konnte.

Als weitere Prädiktoren in der multivariaten Cox-Regression für das Gesamtüberleben, stellten sich in der Studie von Blumenthal et al. das Resektionsausmaß, wie auch in unserer Studie, und der Karnofsky-Index, wie auch bei Gramatzki et al., als signifikant dar [79, 81]. Der Karnofsky-Index hielt in unserer Studie der multivariaten Cox-Regression nicht stand und erwies sich im Gegensatz zur univariaten Analyse als nicht prädiktiver Confounder für das Gesamtüberleben, wie auch nicht für das progressionsfreie Überleben.

Unsere Studie erwies mittels multivariater Cox-Regression, dass das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose als Prädiktor betrachtet werden muss, sowohl in Bezug auf das Gesamtüberleben als auch auf das progressionsfreie Überleben.

Das Alter als Prädiktor konnte mittels multivariater Cox-Regression, weder im Hinblick auf das progressionsfreie Überleben noch auf das Gesamtüberleben, durch Gramatzki et al. bestätigt werden. Von Blumenthal et al. liegen keine vergleichbaren Daten vor [61, 79, 81].

Unser Ergebnis lässt sich mit der aktuellen Studie von Perry et al. (2017) in Einklang bringen. Denn die Empfehlung zur differenzierten Therapie bei Patienten mit niedrigerem, respektive höherem Lebensalter (laut Perry bis zum 73. Lebensjahr), zieht eine günstigere unterschiedliche Prognose für die jüngeren Patienten nach sich [82].

Bezüglich unserer ermittelten signifikanten Prädiktoren für das progressionsfreie Überleben, erlauben die veröffentlichten Daten der multivariaten Cox-Regression von Blumenthal et al. und der von Gramatzki et al., mit unserer Studie, wie auch die beiden Studien miteinander, keinen direkten Vergleich.

Unsere Studie konnte im Hinblick auf das progressionsfreie Überleben mittels multivariater Cox-Regression die Signifikanz einer verlängerten Gabe von TMZ, über sechs Zyklen hinaus, aufzeigen.

Zu dem selbigen Ergebnis kam auch die Studie von Blumenthal et al., wobei allerdings der Vorteil einer prolongierten Gabe bei der Gruppe mit methylierten MGMT-Promoter verstärkt zu sein scheint. In der Gruppe mit unmethylierten MGMT-Promoter konnte kein Nutzen nachgewiesen werden [79].

Im Gegensatz dazu, nimmt in der Studie von Gramatzki et al. die verlängerte Gabe von TMZ über sechs Zyklen hinaus ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf das progressionsfreie Überleben, dies aber ebenso bei methyliertem als bei unmethyliertem MGMT-Status der Patienten. Allerdings wiesen die Patienten mit unmethyliertem MGMT-Status bei Gramatzki et al. häufiger eine Mutation im IDH-Gen auf, sodass diese Patienten ohnehin eine günstigere Ausgangssituation aufweisen[81].

Die in unserer Studie untersuchte Auswirkung von mehr als sechs Zyklen TMZ in der Erhaltungstherapie im Vergleich zu genau sechs Zyklen, im Hinblick auf das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben mittels einer multivariaten Analyse, ergibt einen Nutzen im progressionsfreien Überleben, aber keinen hinsichtlich des Gesamtüberlebens.

Die Ergebnisse unserer Studie können als zuverlässig gewertet werden, da vergleichbare Werte bei den genannten zwei großen Studien, welche in Fragestellung und Durchführung konform mit unserer Studie sind, eruiert wurden [79, 81].

Alle drei Studien zeigen, dass ein methylierter MGMT-Promoter als ein positiv prädiktiver Faktor zu werten ist, sodass eine individuelle Verlängerung der TMZ-Gabe in der Erhaltungsphase, über sechs Zyklen hinaus, erwogen werden kann.

Dies gilt, wenn ein verlängertes progressionsfreies Überleben mit einer Verbesserung der Lebensqualität durch eine potentielle Symptomfreiheit in der rezidivfreien Phase angenommen werden kann. Eine prolongierte Gabe kann somit im klinischen Alltag durchaus in Betracht gezogen werden.

Allerdings kann das jeweilige Ergebnis der drei Studien keinen signifikanten Vorteil für das Gesamtüberleben aufzeigen, wenn die TMZ-Erhaltungstherapie über sechs Zyklen hinaus prolongiert gegeben wird. Selbst wenn ein methylierter MGMT-Promoter-Status

und alle weiteren prognostischen Faktoren zugunsten des Patienten vorliegen, ist dennoch kein Vorteil beweisbar [79]. Diese Tatsache sollte ebenso in der neuroonkologischen Praxis berücksichtigt werden.

Letztlich gilt zusammenzufassen, dass ein Nutzen bei prolongierter Gabe von Temozolomid für das Gesamtüberleben nicht erkennbar ist. Eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens bei den Patienten in unserer Studie konnte nachgewiesen werden.

Auch oder gerade diese Erkenntnis, sollte bei der ohnehin schlechten Prognose bei einem primären Glioblastom in der Therapie berücksichtigt werden und bietet ebenfalls einen erkennbaren Ansatz für weitere klinisch prospektive Studien und Forschungsansätze.

## **7 Zusammenfassung**

Seit der Einführung der konkomittanten Radiochemotherapie mit Temozolomid gefolgt von einer Temozolomiderhaltungstherapie nach erfolgter chirurgischer Resektion, liegt das mediane Gesamtüberleben der Glioblastompatienten, ab dem Zeitpunkt der Diagnosestellung, bei ca. 14,6 Monaten [43].

Nach der Einführung dieser nun als Standard geltenden Therapie, scheiterten alle konsekutiv erfolgten Phase-III-Studien mit neuen Ansätzen.

In der klinischen Praxis hat sich, teilweise auf der Basis eigener Erfahrungen, die fortlaufende Gabe von Temozolomid über sechs Zyklen hinaus etabliert [68, 69].

Einige retrospektive Studien gaben zwar einen Hinweis darauf, dass eine Fortführung der Erhaltungstherapie einen Vorteil für das Gesamtüberleben mit sich bringt, konnten aber durch limitierende Faktoren keinen statistisch signifikanten Beweis liefern [61, 70-73].

In dieser retrospektiven unizentrischen Studie wurde die Auswirkung einer prolongierten Temozolomid-Erhaltungstherapie auf das progressionsfreie Überleben und auf das Gesamtüberleben mittels multivariater Regressionen analysiert.

Es wurden alle Patienten eingeschlossen, die zwischen Januar 2006 und Dezember 2013 an einem primären GBM erkrankt sind und in unserer Klinik operiert wurden sowie im Anschluss eine Standard-Strahlentherapie mit begleitender TMZ-Gabe und anschließender TMZ-Erhaltungstherapie nach Stupp erhalten haben.

Die Patienten wurden in drei Gruppen unterteilt: bis zu fünf Zyklen TMZ (Gruppe A), genau sechs Zyklen TMZ (Gruppe B) und mehr als sechs Zyklen der TMZ-Erhaltungstherapie (Gruppe C) [61].

Cox-Regressionsanalysen wurden für die verschiedenen Therapiegruppen (B gegen A, C gegen A und C gegen B) unter Berücksichtigung der bekannten prognostischen Faktoren durchgeführt. Das Hazard Ratio für die Standardtherapie, Gruppe B, im Vergleich zur verlängerten TMZ-Erhaltungstherapie, Gruppe C, wurde unter Berücksichtigung der bekannten unabhängigen Kovariaten wie dem Alter, dem Resektionsausmaß und dem MGMT-Status mittels Cox-Regressionen bestimmt.

Für die multivariaten Analysen konnten für die Fragestellung, von den 538 Patienten mit der Diagnose eines Glioblastoms, 102 Patienten eingeschlossen werden [61].

In der Gesamtanalyse erhielt im Median die Gruppe A (n = 32) einen Zyklus Temozolomid, Gruppe B (n = 32) exakt sechs Zyklen Temozolomid und Gruppe C (n = 43) 12 Zyklen Temozolomid während der Erhaltungstherapie [61].

Die reine Gesamtüberlebenszeit wies bei Gruppe A einen Median von 12,7 Monaten (95% CI 10,3-16,7), bei Gruppe B von 25,2 Monaten (95% CI 17,7-55,5) und bei Gruppe C von 28,6 Monaten (95% CI 24,4-offen) auf [61] (siehe Tabelle 2).

Die univariate Betrachtung des Gesamtüberlebens, ohne Berücksichtigung der tatsächlich ungleichen Verteilung der Confounder zwischen den drei Gruppen, ergab, dass eine Fortführung von Temozolomid über sechs Zyklen hinaus, einen Überlebensvorteil bringt.

Die multivariate Cox-Regression bestätigte die prognostische Rolle des hypermethylierten MGMT-Promotors (RR 0,44, 95% CI 0,26-0,75, p = 0,002), des

Resektionsausmaßes (RR 0,49, 95% CI 0,28-0,87,  $p = 0,015$ ) für das Gesamtüberleben sowie für das progressionsfreie Überleben und die des Alters zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (RR 0,40, 95% CI 0,19-0,78,  $p = 0,006$ ), als signifikante Prädiktoren für das Gesamtüberleben [61].

Nach Anpassung der Confounder ergab der direkte Vergleich von Gruppe C mit Gruppe B keine signifikante Risikominimierung für den Tod (RR 0,77, 95% CI 0,39-1,55,  $p = 0,46$ ), aber für eine Progression (RR 0,52, 95% CI 0,28-0,94,  $p = 0,03$ ) (siehe Tabelle 12). Die Ergebnisse dieser Studie korrespondieren hinsichtlich Überlebenszeiten in Abhängigkeit von der Anzahl der Zyklen der TMZ-Erhaltungstherapie mit anderen retrospektiven Studien [70-73].

Es lässt sich also durch die multivariate Cox-Regression lediglich für das progressionsfreie Überleben, nicht aber für das Gesamtüberleben, ein tatsächlicher Vorteil feststellen.

Da die Aussagekraft retrospektiver Studien generell intrinsisch beschränkt ist, können Verzerrungen durch das Studiendesign vorliegen [70, 73].

So lag auch in unserer Studie eine ungleiche Verteilung der abhängigen Confounder zwischen Gruppe B und Gruppe C vor.

Dies führte zu dem genannten Vorteil hinsichtlich des Gesamtüberlebens für Gruppe C in der univariaten Analyse, welcher aber in der multivariaten Analyse nicht bestätigt wurde [61].

Was letztendlich der verlängerten progressionsfreien Phase bei verlängerter TMZ-Erhaltungstherapie tatsächlich zugrunde liegt, kann nicht abschließend geklärt werden.

Zeitgleich mit dieser Studie, wurden zwei sehr ähnliche Studien veröffentlicht [79, 81].

Wie in unserer Studie konnte auch durch die beiden anderen Studien keine Verlängerung des Gesamtüberlebens durch eine prolongierte Gabe der TMZ-Erhaltungstherapie über sechs Zyklen hinaus bewiesen werden. Eine Studie demonstrierte ebenfalls eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens (HR 0,77,  $p = 0,03$ ) [79].

Auch wenn kein Vorteil für das Gesamtüberleben zu beweisen ist, so ist dennoch das progressionsfreie Überleben durch die Fortführung der Temozolomid-Erhaltungstherapie

vorteilhaft. Eine prolongierte Erhaltungstherapie ist gut verträglich und zieht nur geringe Nebenwirkungen nach sich [68].

Daher ist eine Fortführung der TMZ-Erhaltungstherapie bei Patienten, die ein vertretbares Blutbild sowie klinisches Befinden aufweisen und nicht unter anderen Nebenwirkungen leiden, individuell zu erwägen.

## 8 Quellen

1. Louis, D.N., et al., The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol*, 2007. 114(2): p. 97-109.
2. Ostrom, Q.T., et al., CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2009-2013. *Neuro Oncol*, 2016. 18(suppl\_5): p. v1-v75.
3. Koshy, M., et al., Improved survival time trends for glioblastoma using the SEER 17 population-based registries. *J Neurooncol*, 2012. 107(1): p. 207-12.
4. Thakkar, J.P., et al., Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014. 23(10): p. 1985-96.
5. Ohgaki, H., et al., Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res*, 2004. 64(19): p. 6892-9.
6. Little, M.P., et al., Mobile phone use and glioma risk: comparison of epidemiological study results with incidence trends in the United States. *BMJ*, 2012. 344: p. e1147.
7. Gallego, O., Nonsurgical treatment of recurrent glioblastoma. *Curr Oncol*, 2015. 22(4): p. e273-81.
8. Dolecek, T.A., et al., CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. *Neuro Oncol*, 2012. 14 Suppl 5: p. v1-49.
9. Kato, S., et al., Cyclin-dependent kinase pathway aberrations in diverse malignancies: clinical and molecular characteristics. *Cell Cycle*, 2015. 14(8): p. 1252-9.
10. Liffers, K., et al., Histone Deacetylase Inhibitors Resensitize EGFR/EGFRvIII-Overexpressing, Erlotinib-Resistant Glioblastoma Cells to Tyrosine Kinase Inhibition. *Target Oncol*, 2016. 11(1): p. 29-40.
11. Mao, H., et al., Deregulated signaling pathways in glioblastoma multiforme: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Cancer Invest*, 2012. 30(1): p. 48-56.
12. Dietmaier, W., J. Lorenz, and M.J. Riemenschneider, [Molecular diagnostics in neuropathology]. *Pathologe*, 2015. 36(2): p. 171-80.

13. Molenaar, R.J., et al., The driver and passenger effects of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in oncogenesis and survival prolongation. *Biochim Biophys Acta*, 2014. 1846(2): p. 326-41.
14. Kim, H.J., et al., Discovery of alpha-mangostin as a novel competitive inhibitor against mutant isocitrate dehydrogenase-1. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015. 25(23): p. 5625-31.
15. Guo, C., et al., Isocitrate dehydrogenase mutations in gliomas: mechanisms, biomarkers and therapeutic target. *Curr Opin Neurol*, 2011. 24(6): p. 648-52.
16. Turkalp, Z., J. Karamchandani, and S. Das, IDH mutation in glioma: new insights and promises for the future. *JAMA Neurol*, 2014. 71(10): p. 1319-25.
17. Liu, X. and Z.Q. Ling, Role of isocitrate dehydrogenase 1/2 (IDH 1/2) gene mutations in human tumors. *Histol Histopathol*, 2015. 30(10): p. 1155-60.
18. Louis, D.N., et al., The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*, 2016. 131(6): p. 803-20.
19. Hartmann, C., et al., Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol*, 2009. 118(4): p. 469-74.
20. Parsons, D.W., et al., An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*, 2008. 321(5897): p. 1807-12.
21. Sanson, M., et al., Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol*, 2009. 27(25): p. 4150-4.
22. Yan, H., et al., IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med*, 2009. 360(8): p. 765-73.
23. Weller, M., et al., Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German Glioma Network. *J Clin Oncol*, 2009. 27(34): p. 5743-50.
24. Hartmann, C., et al., Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: implications for classification of gliomas. *Acta Neuropathol*, 2010. 120(6): p. 707-18.

25. Kizilbash, S.H., et al., The impact of concurrent temozolomide with adjuvant radiation and IDH mutation status among patients with anaplastic astrocytoma. *J Neurooncol*, 2014. 120(1): p. 85-93.
26. Gerson, S.L., MGMT: its role in cancer aetiology and cancer therapeutics. *Nat Rev Cancer*, 2004. 4(4): p. 296-307.
27. Riemenschneider, M.J., M.E. Hegi, and G. Reifenberger, MGMT promoter methylation in malignant gliomas. *Target Oncol*, 2010. 5(3): p. 161-5.
28. Hegi, M.E., et al., MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med*, 2005. 352(10): p. 997-1003.
29. Riemenschneider, M.J., et al., Refined brain tumor diagnostics and stratified therapies: the requirement for a multidisciplinary approach. *Acta Neuropathol*, 2013. 126(1): p. 21-37.
30. Aldape, K., et al., Glioblastoma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathol*, 2015. 129(6): p. 829-48.
31. van den Bent, M.J., et al., Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine improves progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas: a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer phase III trial. *J Clin Oncol*, 2006. 24(18): p. 2715-22.
32. Felsberg, J., et al., Oligodendroglial tumors: refinement of candidate regions on chromosome arm 1p and correlation of 1p/19q status with survival. *Brain Pathol*, 2004. 14(2): p. 121-30.
33. Intergroup Radiation Therapy Oncology Group, T., et al., Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *J Clin Oncol*, 2006. 24(18): p. 2707-14.
34. Fallon, K.B., et al., Prognostic value of 1p, 19q, 9p, 10q, and EGFR-FISH analyses in recurrent oligodendrogliomas. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004. 63(4): p. 314-22.
35. Carpenter, G. and S. Cohen, Epidermal growth factor. *J Biol Chem*, 1990. 265(14): p. 7709-12.

36. Gullick, W.J., Prevalence of aberrant expression of the epidermal growth factor receptor in human cancers. *Br Med Bull*, 1991. 47(1): p. 87-98.
37. Wong, A.J., et al., Structural alterations of the epidermal growth factor receptor gene in human gliomas. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992. 89(7): p. 2965-9.
38. Humphrey, P.A., et al., Anti-synthetic peptide antibody reacting at the fusion junction of deletion-mutant epidermal growth factor receptors in human glioblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990. 87(11): p. 4207-11.
39. Lal, A., et al., Mutant epidermal growth factor receptor up-regulates molecular effectors of tumor invasion. *Cancer Res*, 2002. 62(12): p. 3335-9.
40. Lund-Johansen, M., et al., Effect of epidermal growth factor on glioma cell growth, migration, and invasion in vitro. *Cancer Res*, 1990. 50(18): p. 6039-44.
41. Stummer, W., et al., Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins: a prospective study in 52 consecutive patients. *J Neurosurg*, 2000. 93(6): p. 1003-13.
42. Wiestler, B., et al., ATRX loss refines the classification of anaplastic gliomas and identifies a subgroup of IDH mutant astrocytic tumors with better prognosis. *Acta Neuropathol*, 2013. 126(3): p. 443-51.
43. Omuro, A. and L.M. DeAngelis, Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review. *JAMA*, 2013. 310(17): p. 1842-50.
44. Stupp, R., et al., Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*, 2005. 352(10): p. 987-96.
45. Stummer, W., et al., Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol*, 2006. 7(5): p. 392-401.
46. Lacroix, M., et al., A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival. *J Neurosurg*, 2001. 95(2): p. 190-8.
47. Vogelbaum, M.A., Does extent of resection of a glioblastoma matter? *Clin Neurosurg*, 2012. 59: p. 79-81.
48. Kombos, T., et al., Impact of intraoperative neurophysiological monitoring on surgery of high-grade gliomas. *J Clin Neurophysiol*, 2009. 26(6): p. 422-5.

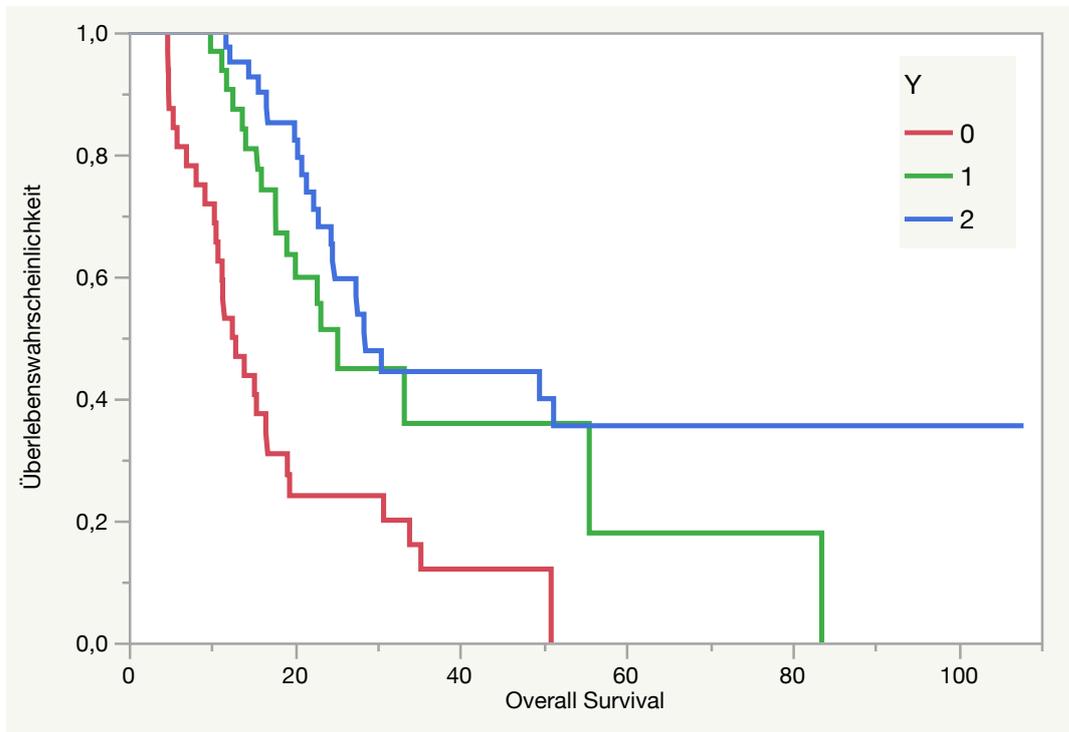
49. Duffau, H., et al., Contribution of intraoperative electrical stimulations in surgery of low grade gliomas: a comparative study between two series without (1985-96) and with (1996-2003) functional mapping in the same institution. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2005. 76(6): p. 845-51.
50. Szelenyi, A., et al., Intraoperative electrical stimulation in awake craniotomy: methodological aspects of current practice. *Neurosurg Focus*, 2010. 28(2): p. E7.
51. Smith, J.S., et al., Role of extent of resection in the long-term outcome of low-grade hemispheric gliomas. *J Clin Oncol*, 2008. 26(8): p. 1338-45.
52. De Witt Hamer, P.C., et al., Impact of intraoperative stimulation brain mapping on glioma surgery outcome: a meta-analysis. *J Clin Oncol*, 2012. 30(20): p. 2559-65.
53. Cooper, M.R., Principles of Medical Oncology, in American Cancer Society textbook of Clinical Oncology. Volume 1, A.I. Holleb, et al., Editor. 1991: Atlanta: Library of Congress Cataloging. p. 47 - 68.
54. Pfreundschuh, M., Prinzipien der medikamentösen Tumorthherapie. *Kompendium Internistische Onkologie*, ed. H.J. Schmoll, K. Höffken, and K. Possinger. 2006: Springer Verlag p. 651-702.
55. Stevens, M.F., et al., Antitumor activity and pharmacokinetics in mice of 8-carbamoyl-3-methyl-imidazo[5,1-d]-1,2,3,5-tetrazin-4(3H)-one (CCRG 81045; M & B 39831), a novel drug with potential as an alternative to dacarbazine. *Cancer Res*, 1987. 47(22): p. 5846-52.
56. Hickman, M.J. and L.D. Samson, Role of DNA mismatch repair and p53 in signaling induction of apoptosis by alkylating agents. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(19): p. 10764-9.
57. Karran, P. and R. Hampson, Genomic instability and tolerance to alkylating agents. *Cancer Surv*, 1996. 28: p. 69-85.
58. Belanich, M., et al., Intracellular Localization and intercellular heterogeneity of the human DNA repair protein O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1996. 37(6): p. 547-55.
59. Friedman, H.S., et al., DNA mismatch repair and O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase analysis and response to Temodal in newly diagnosed malignant glioma. *J Clin Oncol*, 1998. 16(12): p. 3851-7.

60. Parisi, S., et al., Temozolomide and radiotherapy versus radiotherapy alone in high grade gliomas: a very long term comparative study and literature review. *Biomed Res Int*, 2015. 2015: p. 620643.
61. Skardelly, M., et al., Prolonged Temozolomide Maintenance Therapy in Newly Diagnosed Glioblastoma. *Oncologist*, 2017. 22(5): p. 570-575.
62. Gilbert, M.R., et al., Dose-dense temozolomide for newly diagnosed glioblastoma: a randomized phase III clinical trial. *J Clin Oncol*, 2013. 31(32): p. 4085-91.
63. Chinot, O.L., et al., Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med*, 2014. 370(8): p. 709-22.
64. Gilbert, M.R., et al., A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med*, 2014. 370(8): p. 699-708.
65. Willett, C.G., et al., Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivasculature effects in human rectal cancer. *Nat Med*, 2004. 10(2): p. 145-7.
66. Albert, J.M., et al., Integrin alpha v beta 3 antagonist Cilengitide enhances efficacy of radiotherapy in endothelial cell and non-small-cell lung cancer models. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006. 65(5): p. 1536-43.
67. Stupp, R., et al., Cilengitide combined with standard treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CENTRIC EORTC 26071-22072 study): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2014. 15(10): p. 1100-8.
68. Hau, P., et al., Safety and feasibility of long-term temozolomide treatment in patients with high-grade glioma. *Neurology*, 2007. 68(9): p. 688-90.
69. Khasraw, M., D. Bell, and H. Wheeler, Long-term use of temozolomide: could you use temozolomide safely for life in gliomas? *J Clin Neurosci*, 2009. 16(6): p. 854-5.
70. Barbagallo, G.M., et al., Long-term therapy with temozolomide is a feasible option for newly diagnosed glioblastoma: a single-institution experience with as many as 101 temozolomide cycles. *Neurosurg Focus*, 2014. 37(6): p. E4.

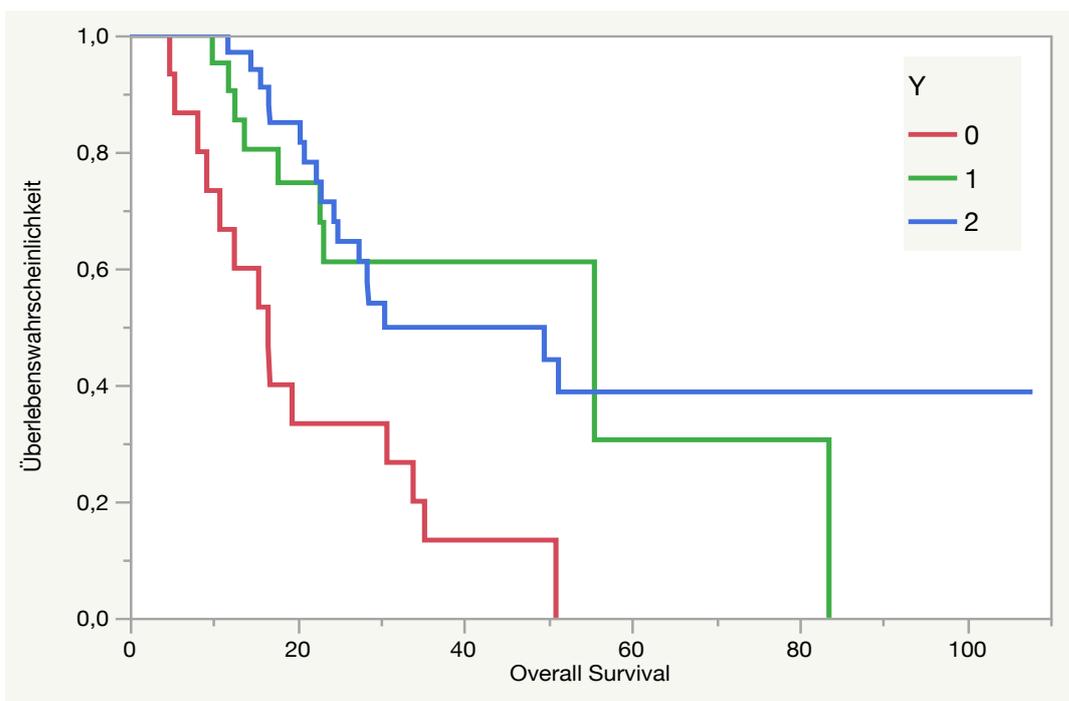
71. Seiz, M., et al., Long-term adjuvant administration of temozolomide in patients with glioblastoma multiforme: experience of a single institution. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010. 136(11): p. 1691-5.
72. Darlix, A., et al., Prolonged administration of adjuvant temozolomide improves survival in adult patients with glioblastoma. *Anticancer Res*, 2013. 33(8): p. 3467-74.
73. Roldan Urgoiti, G.B., A.D. Singh, and J.C. Easaw, Extended adjuvant temozolomide for treatment of newly diagnosed glioblastoma multiforme. *J Neurooncol*, 2012. 108(1): p. 173-7.
74. Le Borgne, F. and F. Y. Ipwsurvival: Adjusted survival curves and corresponding log-rank statistic. Accessed: 13 December 2019; Available from: <http://www.r-project.org> and <http://www.divat.fr>.
75. Cole, S.R. and M.A. Hernan, Adjusted survival curves with inverse probability weights. *Comput Methods Programs Biomed*, 2004. 75(1): p. 45-9.
76. Sorensen, M.D., et al., Chemoresistance and chemotherapy targeting stem-like cells in malignant glioma. *Adv Exp Med Biol*, 2015. 853: p. 111-38.
77. Ishikawa, F., et al., Chemotherapy-resistant human AML stem cells home to and engraft within the bone-marrow endosteal region. *Nat Biotechnol*, 2007. 25(11): p. 1315-21.
78. Chen, J., et al., A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy. *Nature*, 2012. 488(7412): p. 522-6.
79. Blumenthal, D.T., et al., Is more better? The impact of extended adjuvant temozolomide in newly diagnosed glioblastoma: a secondary analysis of EORTC and NRG Oncology/RTOG. *Neuro Oncol*, 2017. 19(8): p. 1119-1126.
80. Perry, J.R., et al., Phase II trial of continuous dose-intense temozolomide in recurrent malignant glioma: RESCUE study. *J Clin Oncol*, 2010. 28(12): p. 2051-7.
81. Gramatzki, D., et al., Limited role for extended maintenance temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *Neurology*, 2017. 88(15): p. 1422-1430.
82. Perry, J.R., et al., Short-Course Radiation plus Temozolomide in Elderly Patients with Glioblastoma. *N Engl J Med*, 2017. 376(11): p. 1027-1037.

## 9 Anhang

**Abbildung A:** Lebensdauerdiagramm (0= A, 1=B, 2=C), univariat



**Abbildung B:** Gesamtüberleben mit Totalresektion (0= Gruppe A, 1= Gruppe B, 2= Gruppe C)



**Übersicht 1:** Die wichtigsten molekulargenetischen Marker ihrer Bedeutung nach (Dietmaier et al., 2015 [12], modifiziert)

<b>Marker</b>	<b>Bedeutung</b>
MGMT methyliert	<ul style="list-style-type: none"> <li>- prognostisch</li> <li>- prädiktiv für das Therapieansprechen auf alkylierende Chemotherapeutika sowie Radiatio</li> </ul>
IDH-1/IDH-2 Mutation vorhanden	<ul style="list-style-type: none"> <li>- diagnostisch für diffuse Gliome WHO Grad II und III</li> <li>- prognostisch für diffuse Gliome WHO Grad II und III und für sekundäre Glioblastome</li> </ul>
1p/19q Ko- Deletion	<ul style="list-style-type: none"> <li>- diagnostisch zur Differenzierung zwischen Astrozytom und Oligodendrogliom</li> <li>- prognostisch bei glialen Tumoren</li> <li>- prädiktiv bei sequentieller Radiochemotherapie</li> </ul>

**Übersicht 2:** Aufteilung Patientenkohorte in Gruppen A, B, C mit Lebensalter

<b>Patientengruppe</b>		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
	Gesamtzahl	32	32	43
<b>Lebensalter in Jahren</b>	Median	58	58	53
	Unteres CI (05)	35	37	22
	Oberes CI (95)	69	73	69

**Tabelle 1:** Gesamtüberlebensdauer Gruppe A (0-5 Zyklen)

<b>Overall Survival</b>	<b>Überlebenswahrscheinlichkeit</b>	<b>Ausfallwahrscheinlichkeit</b>	<b>Überleben Std.-Fehler</b>	<b>Anzahl ausgefallen</b>	<b>Anzahl zensiert</b>	<b>Überlebend</b>
0,0000	1,0000	0,0000	0,0000	0	0	32
4,7000	0,9688	0,0313	0,0308	1	0	32
4,7667	0,9375	0,0625	0,0428	1	0	31
4,8000	0,9063	0,0938	0,0515	1	0	30
4,8667	0,8750	0,1250	0,0585	1	0	29
5,3667	0,8438	0,1563	0,0642	1	0	28
5,8333	0,8125	0,1875	0,0690	1	0	27
6,9667	0,7813	0,2188	0,0731	1	0	26
8,1333	0,7500	0,2500	0,0765	1	0	25
9,2000	0,7188	0,2813	0,0795	1	0	24
10,3333	0,6875	0,3125	0,0819	1	0	23
10,5333	0,6563	0,3438	0,0840	1	0	22
10,7667	0,6250	0,3750	0,0856	1	0	21
11,2667	0,5938	0,4063	0,0868	1	0	20
11,3333	0,5625	0,4375	0,0877	1	0	19
11,5667	0,5313	0,4688	0,0882	1	0	18
12,5000	0,5000	0,5000	0,0884	1	0	17
12,9000	0,4688	0,5313	0,0882	1	0	16
13,9333	0,4375	0,5625	0,0877	1	0	15

15,1667	0,4063	0,5938	0,0868	1	0	14
15,4028	0,3750	0,6250	0,0856	1	0	13
16,5333	0,3438	0,6563	0,0840	1	0	12
16,6028	0,3438	0,6563	0,0840	0	1	11
16,7667	0,3094	0,6906	0,0823	1	0	10
19,1333	0,2750	0,7250	0,0800	1	0	9
19,4000	0,2406	0,7594	0,0770	1	0	8
24,6333	0,2406	0,7594	0,0770	0	1	7
30,7333	0,2005	0,7995	0,0739	1	0	6
33,8667	0,1604	0,8396	0,0692	1	0	5
35,2333	0,1203	0,8797	0,0624	1	0	4
35,6333	0,1203	0,8797	0,0624	0	1	3
43,5000	0,1203	0,8797	0,0624	0	1	2
50,9333	0,0000	1,0000	0,0000	1	0	1

**Tabelle 2:** Median-Zeit Gesamtüberleben univariate Analyse

Gruppe	Median-Zeit	95% KI unten	95% KI oben	25% Ausfälle	75% Ausfälle
0	12,7	10,333	16,767	8,6667	19,4
1	25,2	17,736	55,533	16	55,533
2	28,567	24,4	.	21,433	.

Kombiniert	23,167	19,4	28,567	14,467	51,233
------------	--------	------	--------	--------	--------

**Tabelle 3:** Gesamtüberlebensdauer Gruppe B (exakt 6 Zyklen)

Overall Survival	Überlebenswahrscheinlichkeit	Ausfallwahrscheinlichkeit	Überleben Std.-Fehler	Anzahl ausgefallen	Anzahl zensiert	Überlebend
0,0000	1,0000	0,0000	0,0000	0	0	32
9,8667	0,9688	0,0313	0,0308	1	0	32
11,2333	0,9375	0,0625	0,0428	1	0	31
11,8000	0,9063	0,0938	0,0515	1	0	30
12,2694	0,9063	0,0938	0,0515	0	1	29
12,5667	0,8739	0,1261	0,0590	1	0	28
13,7000	0,8415	0,1585	0,0651	1	0	27
14,1000	0,8092	0,1908	0,0702	1	0	26
15,3667	0,8092	0,1908	0,0702	0	1	25
15,5667	0,7754	0,2246	0,0749	1	0	24
16,0000	0,7417	0,2583	0,0789	1	0	23
16,0347	0,7417	0,2583	0,0789	0	1	22
17,7000	0,7064	0,2936	0,0826	1	0	21
17,7361	0,6711	0,3289	0,0857	1	0	20
19,0667	0,6358	0,3642	0,0882	1	0	19
19,4028	0,6358	0,3642	0,0882	0	1	18
20,1000	0,5984	0,4016	0,0906	1	0	17
21,6694	0,5984	0,4016	0,0906	0	1	16
22,3333	0,5984	0,4016	0,0906	0	1	15
22,7347	0,5556	0,4444	0,0937	1	0	14

23,1667	0,5129	0,4871	0,0957	1	0	13
23,3361	0,5129	0,4871	0,0957	0	1	12
24,0681	0,5129	0,4871	0,0957	0	1	11
24,1347	0,5129	0,4871	0,0957	0	1	10
24,4681	0,5129	0,4871	0,0957	0	1	9
25,2000	0,4488	0,5512	0,1030	1	0	8
32,2333	0,4488	0,5512	0,1030	0	1	7
32,9000	0,4488	0,5512	0,1030	0	1	6
33,2333	0,3590	0,6410	0,1150	1	0	5
36,6333	0,3590	0,6410	0,1150	0	1	4
51,9333	0,3590	0,6410	0,1150	0	1	3
55,5333	0,1795	0,8205	0,1394	1	0	2
83,5667	0,0000	1,0000	0,0000	1	0	1

**Tabelle 4:** Gesamtüberlebensdauer Gruppe C (mehr als 6 Zyklen)

<b>Overall Survival</b>	<b>Überlebenswahrscheinlichkeit</b>	<b>Ausfallwahrscheinlichkeit</b>	<b>Überleben Std.-Fehler</b>	<b>Anzahl ausgefallen</b>	<b>Anzahl zensiert</b>	<b>Überlebend</b>
0,000	1,0000	0,0000	0,0000	0	0	43
10,867	1,0000	0,0000	0,0000	0	1	43
11,167	1,0000	0,0000	0,0000	0	1	42
11,733	0,9756	0,0244	0,0241	1	0	41
12,200	0,9512	0,0488	0,0336	1	0	40
14,467	0,9268	0,0732	0,0407	1	0	39
15,000	0,9268	0,0732	0,0407	0	1	38

15,633	0,9018	0,0982	0,0467	1	0	37
16,600	0,8767	0,1233	0,0516	1	0	36
16,768	0,8517	0,1483	0,0559	1	0	35
16,803	0,8517	0,1483	0,0559	0	1	34
17,403	0,8517	0,1483	0,0559	0	1	33
18,203	0,8517	0,1483	0,0559	0	1	32
19,703	0,8517	0,1483	0,0559	0	1	31
20,000	0,8233	0,1767	0,0608	1	0	30
20,367	0,7949	0,2051	0,0650	1	0	29
20,867	0,7665	0,2335	0,0686	1	0	28
21,433	0,7381	0,2619	0,0717	1	0	27
22,300	0,7097	0,2903	0,0744	1	0	26
22,867	0,6813	0,3187	0,0766	1	0	25
24,400	0,6530	0,3470	0,0785	1	0	24
24,567	0,6246	0,3754	0,0801	1	0	23
24,867	0,5962	0,4038	0,0813	1	0	22
27,400	0,5678	0,4322	0,0822	1	0	21
27,533	0,5678	0,4322	0,0822	0	1	20
27,600	0,5379	0,4621	0,0832	1	0	19
28,367	0,5080	0,4920	0,0837	1	0	18
28,567	0,4781	0,5219	0,0840	1	0	17
29,667	0,4781	0,5219	0,0840	0	1	16
30,133	0,4781	0,5219	0,0840	0	1	15
30,467	0,4440	0,5560	0,0846	1	0	14
38,367	0,4440	0,5560	0,0846	0	1	13
40,267	0,4440	0,5560	0,0846	0	1	12
45,633	0,4440	0,5560	0,0846	0	1	11

49,533	0,3996	0,6004	0,0870	1	0	10
51,233	0,3552	0,6448	0,0880	1	0	9
56,233	0,3552	0,6448	0,0880	0	1	8
57,667	0,3552	0,6448	0,0880	0	1	7
58,933	0,3552	0,6448	0,0880	0	1	6
67,400	0,3552	0,6448	0,0880	0	1	5
69,167	0,3552	0,6448	0,0880	0	1	4
71,833	0,3552	0,6448	0,0880	0	1	3
81,433	0,3552	0,6448	0,0880	0	1	2
107,900	0,3552	0,6448	0,0880	0	1	1

**Tabelle 5:** Gesamtüberlebensdauer Lebensalter unter 50 Jahre (0=Gruppe A, 1=Gruppe B, 2=Gruppe C)

<b>Gruppe</b>	<b>Median-Zeit</b>	<b>95% KI unten</b>	<b>95% KI oben</b>	<b>25% Ausfälle</b>	<b>75% Ausfälle</b>
0	22,95	10,333	50,933	13,933	40,833
1	83,567	11,8	83,567	83,567	83,567
2	28,567	20,367	.	21,433	.
Kombiniert	50,933	21,433	83,567	20,367	83,567

**Tabelle 6:** Gesamtüberlebensdauer Lebensalter über 50 Jahre (0= Gruppe A, 1=Gruppe B, 2=Gruppe C)

Gruppe	Median-Zeit	95% KI unten	95% KI oben	25% Ausfälle	75% Ausfälle
0	11,45	8,1333	16,533	6,9667	19,133
1	22,735	16	33,233	16	33,233
2	28,367	22,3	51,233	22,3	.
Kombiniert	20,867	16,767	25,2	12,9	35,233

**Tabelle 7:** Gesamtüberleben methylierter MGMT-Status (0= Gruppe A, 1= Gruppe B, 2= Gruppe C)

Gruppe	Median-Zeit	95% KI unten	95% KI oben	25% Ausfälle	75% Ausfälle
0	16,767	6,9667	33,867	9,2	33,867
1	55,533	20,1	83,567	25,2	83,567
2	49,533	21,433	.	24,4	.
Kombiniert	33,233	24,4	51,233	19,133	55,533

**Tabelle 8:** Gesamtüberleben unmethylierter MGMT-Status (0= Gruppe A, 1= Gruppe B, 2= Gruppe C)

Gruppe	Median-Zeit	95% KI unten	95% KI oben	25% Ausfälle	75% Ausfälle
0	11,333	8,1333	15,167	10,333	15,167
1	19,067	12,567	.	13,7	23,167
2	27,4	20,367	.	20,367	.
Kombiniert	20,367	14,1	24,867	12,2	28,567

**Tabelle 9:** Gesamtüberleben Totalresektion (0= Gruppe A, 1=Gruppe B, 2= Gruppe C)

Gruppe	Median-Zeit	95% KI unten	95% KI oben	25% Ausfälle	75% Ausfälle
0	16,533	8,1333	30,733	9,2	33,867
1	55,533	17,736	83,567	17,736	83,567
2	30,467	24,4	.	22,3	.
Kombiniert	30,467	22,867	50,933	16,768	83,567

**Tabelle 10:** Gesamtüberleben subtotale Resektion oder Biopsie

Gruppe	Median-Zeit	95% KI unten	95% KI oben	25% Ausfälle	75% Ausfälle
0	11,333	5,8333	15,167	6,9667	15,167
1	19,067	14,1	33,233	15,567	25,2
2	24,567	12,2	.	20	27,6
Kombiniert	16	12,2	20,1	11,267	25,2

**Tabelle 11:** Übersicht Totalresektion (0=Gruppe A, 1=Gruppe B, 2=Gruppe C)

Gruppe	Anzahl ausgefallen	Anzahl zensiert	Mittelwert		Std.-Fehler
0	14	1	21,3691		3,98287
1	9	12	48,9827		9,19433
2	17	18	36,5652	Biased	2,81581
Kombiniert	40	31	42,1782	Biased	4,01348

**Tabelle 12:** Cox-Regression des Gesamtüberlebens und des progressionsfreien Überlebens, multivariat

Überleben	0-5 Zyklen	6 Zyklen	> 6 Zyklen
<b>Gesamtüberleben</b>			
nicht adjustiert	1,0	0,38 (0,20-0,68) p=0,001	0,26 (0,14-0,46) p< 0,0001
adjustiert	1,0	0,36 (0,19-0,68) p=0,002	0,28 (0,14-0,54) p= 0,002
adjustiert		1,0	0,77 (0,39-1,55) p= 0,46
<b>progressionsfreies Überleben</b>			
nicht adjustiert	1,0	0,49 (0,28-0,86) p= 0,14	0,25 (0,14-0,45) p< 0,0001
adjustiert	1,0	0,44 (0,23-0,83) p= 0,012	0,23 (0,11-0,46) p< 0,0001
adjustiert		1,0	0,52 (0,28-0,94) p=0,03

**Tabelle 13:** Gesamtüberleben unter 50 Jahre (Stufe 1 = <50 Jahre, Stufe 2 >50 Jahre), multivariat

Stufe1	Stufe2	Verhältnis Risiko	Wahrsch. > Chi-Qu.	Untere 95%	Obere 95%
1	0	2,0676084	0,0103	1,1780447	3,8827721
0	1	0,4836506	0,0103	0,257548	0,8488642

**Tabelle 14:** progressionsfreies Überleben unter 50 Jahre (Stufe 1= <50 Jahre, Stufe 2= >50 Jahre), multivariat

Stufe1	Stufe2	Verhältnis Risiko	Wahrsch. > Chi-Qu.	Untere 95%	Obere 95%
1	0	1,2515796	0,3782	0,7659997	2,1228342
0	1	0,7989903	0,3782	0,4710683	1,3054835

**Tabelle 15:** Gesamtüberleben bei Karnofsky-Index <70 (Stufe 1= <70 KPS, Stufe 2= >70 KPS), multivariat

Stufe1	Stufe2	Verhältnis Risiko	Wahrsch. > Chi-Qu.	Untere 95%	Obere 95%
1	0	1,2142781	0,6198	0,5927412	2,9272909
0	1	0,8235346	0,6198	0,3416128	1,6870768

**Tabelle 16:** progressionsfreies Überleben bei Karnofsky-Index <70 (Stufe 1= <70 KPS, Stufe 2= >70 KPS), multivariat

Stufe1	Stufe2	Verhältnis Risiko	Wahrsch. > Chi-Qu.	Untere 95%	Obere 95%
1	0	1,0219193	0,9514	0,5359821	2,2048237
0	1	0,9785509	0,9514	0,453551	1,8657339

**Tabelle 17:** Gesamtüberleben mit Totalresektion (Stufe1= Totalresektion, Stufe 2= subtotale Resektion oder Biopsie)

Stufe1	Stufe2	Verhältnis Risiko	Wahrsch. > Chi-Qu.	Untere 95%	Obere 95%
1	0	2,4545584	0,0006	1,4811976	4,0205295
0	1	0,4074053	0,0006	0,2487235	0,6751294

**Tabelle 18:** progressionsfreies Überleben mit Totalresektion (Stufe1= Totalresektion, Stufe 2= subtotale Resektion oder Biopsie), multivariat

Stufe1	Stufe2	Verhältnis Risiko	Wahrsch. > Chi-Qu.	Untere 95%	Obere 95%
1	0	2,6132536	0,0002	1,6035326	4,1963752
0	1	0,3826647	0,0002	0,2383009	0,6236231

**Tabelle 19:** Gesamtüberleben mit methylierten MGMT-Status, multivariat

Status	Status	Verhältnis Risiko	Wahrsch. > Chi-Qu.	Untere 95%	Obere 95%
unmethyliert	methyliert	1,728071	0,0307	1,0522965	2,8666036
methyliert	unmethyliert	0,5786799	0,0307	0,3488449	0,9503025

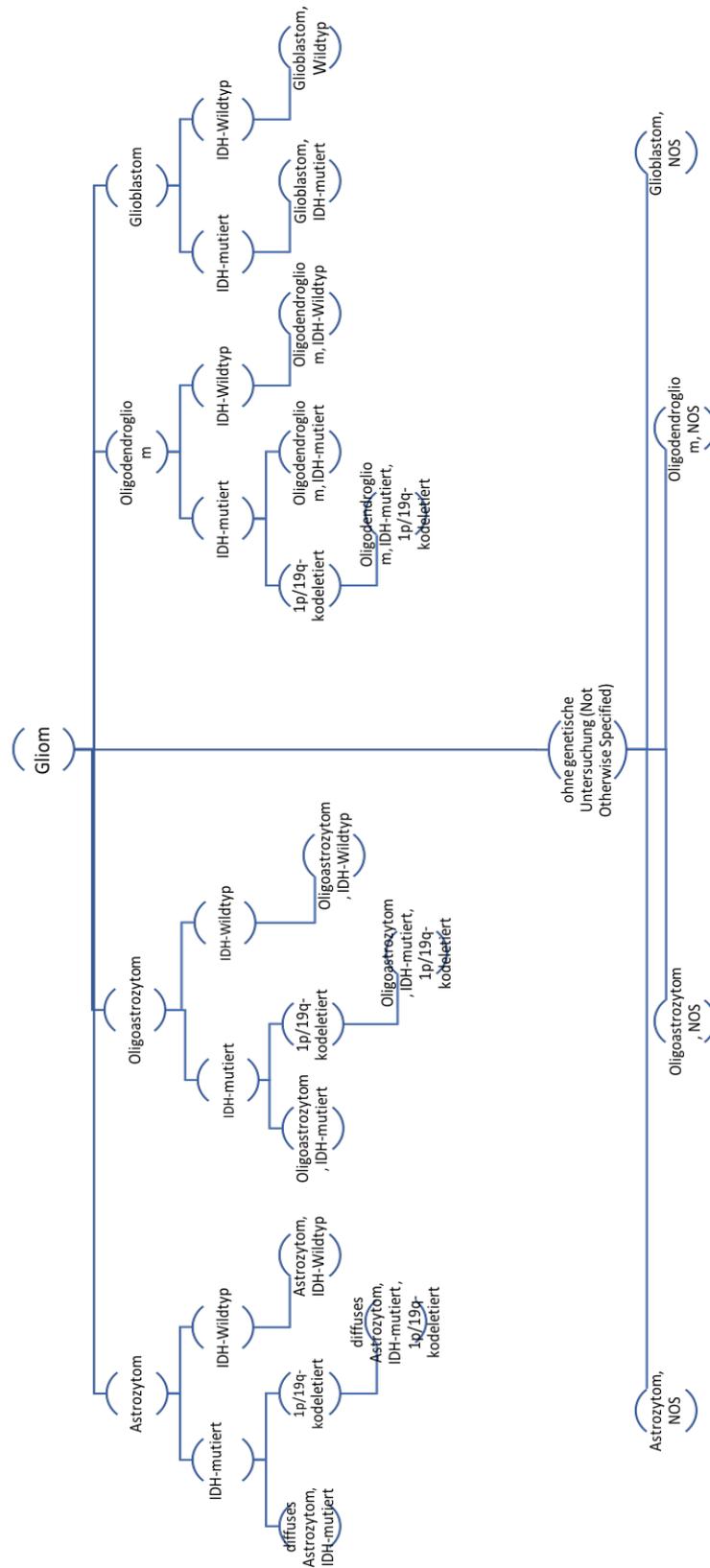
**Tabelle 20:** progressionsfreies Überleben mit methylierten MGMT-Status, multivariat

Status	Status	Verhältnis Risiko	Wahrsch. > Chi-Qu.	Untere 95%	Obere 95%
unmethyliert	methyliert	2,471772	0,0002	1,535228	4,054237
methyliert	unmethyliert	0,4045681	0,0002	0,2466555	0,6513691

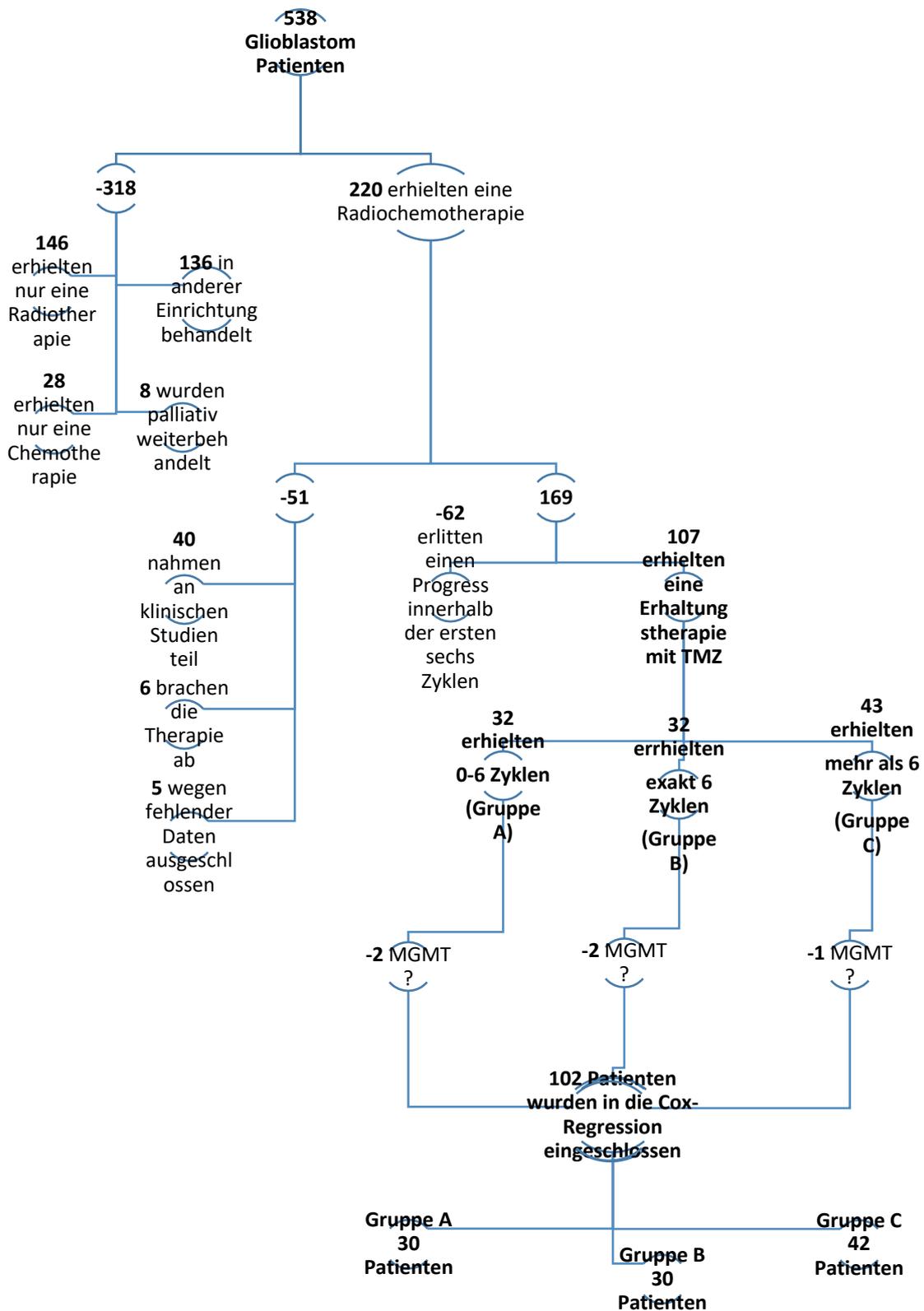
**Tabelle 21:** Cox-Regression der prognostischen Kovariaten für das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben, multivariat

Kovariaten	Gesamtüberleben, RR (95% CI)		progressionsfreies Überleben, RR (95% CI)	
	>50 Jahre	≤ 50 Jahre	>50 Jahre	≤ 50 Jahre
<b>Alter</b>	1,0	0,40 (0,19-0,78) p= 0,006	1,0	0,71 (0,37-1,28) p= 0,27
<b>Karnofsky-Index bei Erstdiagnose</b>	<70 1,0	≥70 0,84 (0,28-2,89) p=0,77	<70 1,0	≥70 0,91 (=,32-2,32) p= 0,84
<b>Resektionsausmaß</b>	Teilresektion oder Biopsie 1,0	Totalresektion 0,49 (0,28-0,87) p= 0,15	Teilresektion oder Biopsie 1,0	Totalresektion 0,50 (0,29-0,89) p= 0,2
<b>MGMT-Status</b>	unmethyliert 1,0	methyliert 0,44 (0,26-0,75) p= 0,002	unmethyliert 1,0	methyliert 0,31 (0,18-0,51) p< 0,0001

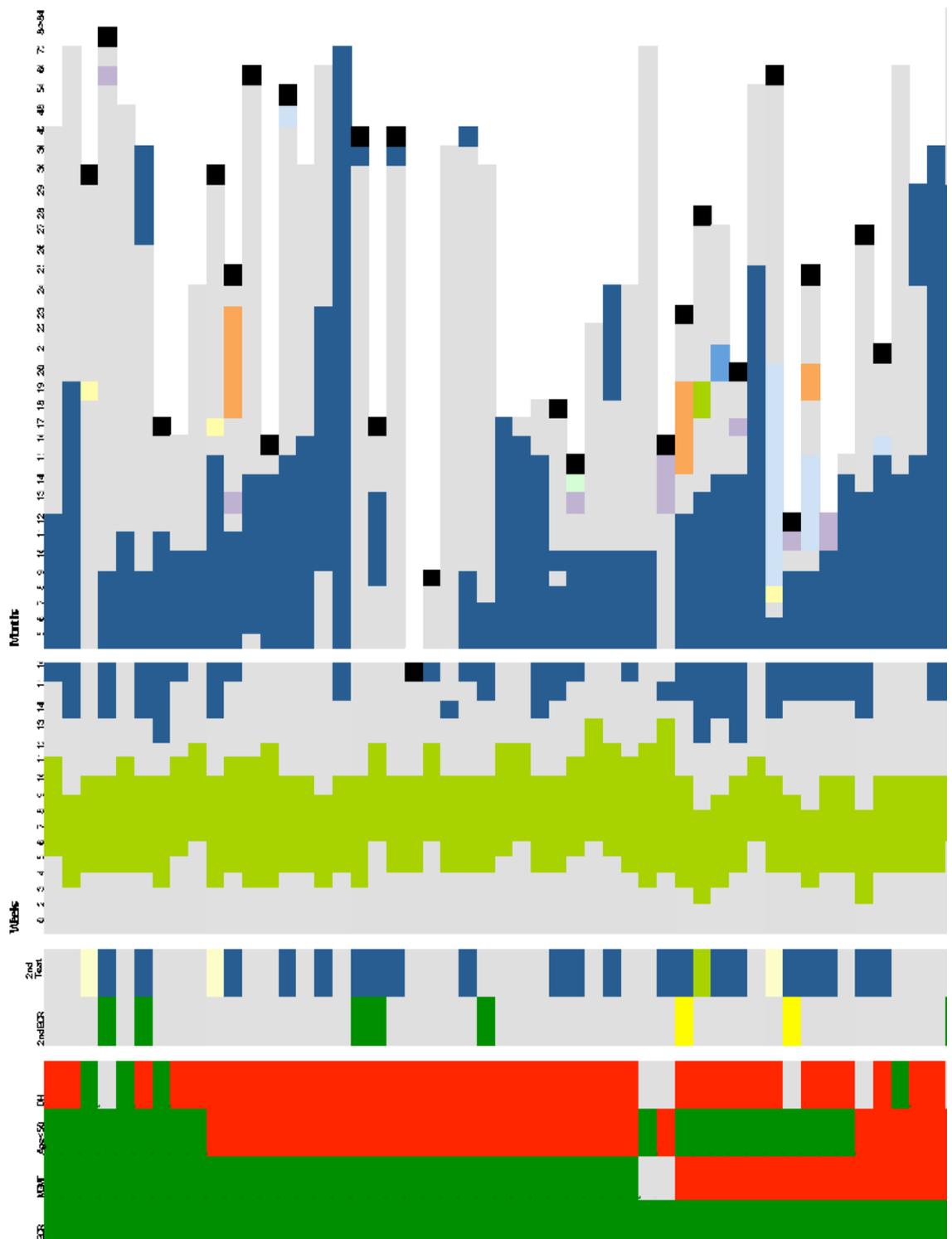
**Figur 1:** vereinfachter Algorithmus zur Klassifizierung der diffusen Gliome basierend auf histologischen und genetischen Merkmalen [18]

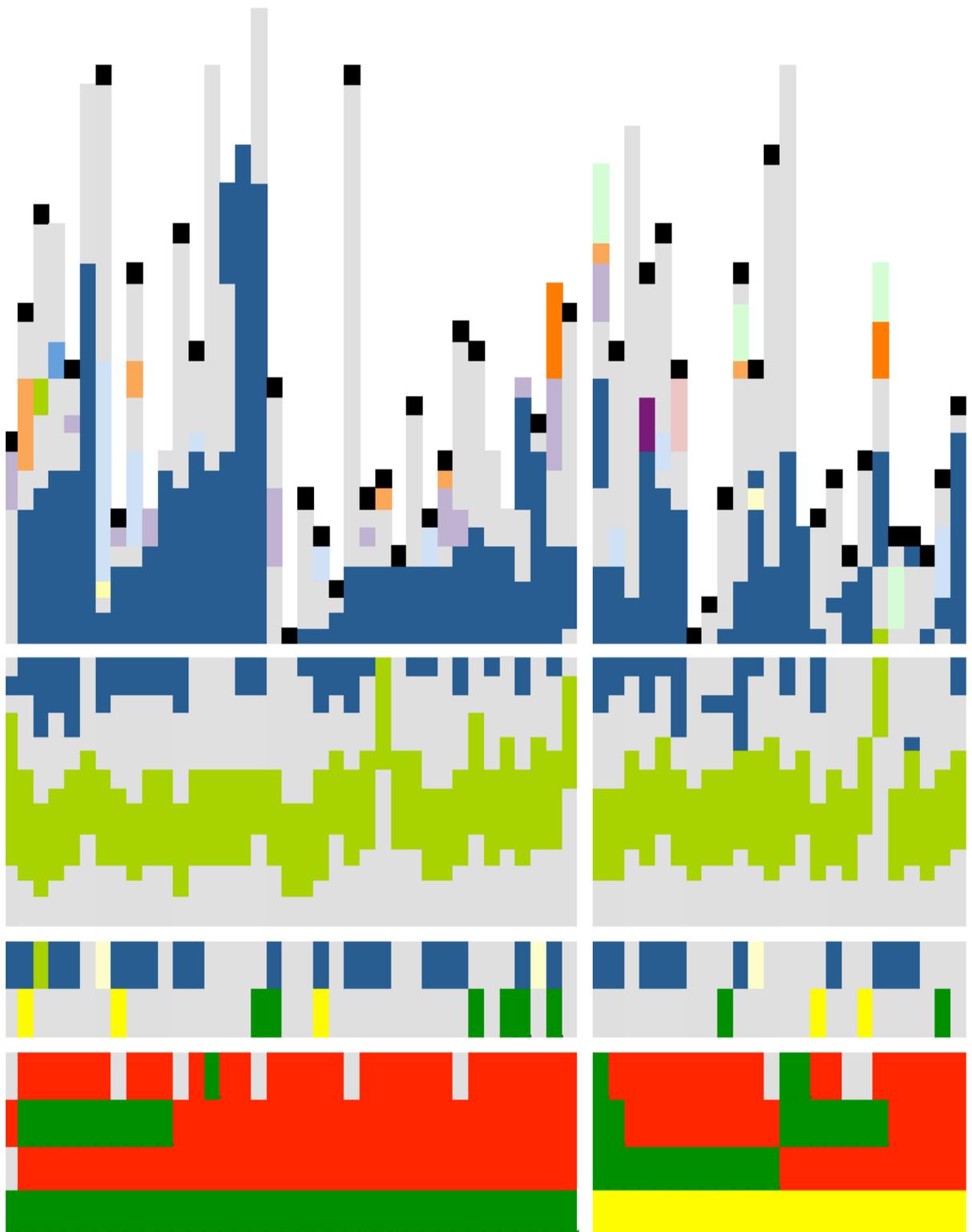


**Figur 2:** CONSORT-Diagramm zur schematischen Darstellung der Patientenkohorte



Figur 3: Swimmers Plot







gross total	methylated	<50 yrs	mutated
subtotal	unmethylated	>50 yrs	Wildtype
biopsy			not assessed

RCT	TMZ 5/28	PCV	TMZ/Lom	No Therapy
RT	TMZ 7/14	Lom	TMZ/Bev	Month of death
CT		Bev	Lom/Bev	
No therapy				

## 10 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Universitätsklinik Tübingen an der Interdisziplinären Sektion für Neuroonkologie und Klinik für Neurochirurgie unter Betreuung von Frau Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Ghazaleh Tabatabai durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herr PD Dr. med. Marco Skardelly, meinem Mentor bei dieser Dissertation.

Die Aktenrecherche und Datenerfassung aus digitalen Patientenakten und dem Krankenhausinformationssystem erfolgte in Kooperation mit Frau Julia Gohde. Die Datenverarbeitung erfolgte in Kooperation mit Herrn PD Dr. Marco Skardelly.

Die statistische Auswertung wurde nach Beratung durch das Institut für Biometrie, durch Herrn PD Dr. med. Marco Skardelly durchgeführt.

Die Interpretation der gewonnenen Ergebnisse und Diskussion erfolgte durch mich nach Rücksprache mit Herrn PD Dr. Marco Skardelly.

Alle in dieser Arbeit verwendeten Abbildungen, Übersichten und Tabellen sind eigenständig durch mich angefertigt worden.

Bestandteile dieser Doktorarbeit wurden bereits im Journal „The Oncologist“, „Prolonged Temozolomide Maintenance Therapy in Newly Diagnosed Glioblastoma“[61] publiziert.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Alle wörtlich und inhaltlich übernommenen Passagen sind als solche gekennzeichnet.

Tübingen, den 23.03.2021

## 11 Veröffentlichungen

Die Ergebnisse, sowie weitere Elemente dieser Dissertation, sind bereits in der folgender Publikation veröffentlicht:

Skardelly, M., Dangel, E., Gohde, J., Noell, S., Behling, F., Lepski, G., Borchers, C., Koch, M., Schittenhelm, J., Bisdas, S., Naumann, A., Paulsen, F., Zips, D., von Hehn, U., Ritz, R., Tatagiba, M. S., Tabatabai, G. Prolonged Temozolomide Maintenance Therapy in Newly Diagnosed Glioblastoma. *The Oncologist* (2017) theoncologist.2016-0347. doi:10.1634/theoncologist.2016-0347

Alle Daten, die bereits in der oben genannten Publikation veröffentlicht sind, sind entsprechend zitiert.

## 12 Danksagung

Ich danke ganz herzlich Frau Prof.Dr.med.Dr.rer.nat G. Tabatabai für die Möglichkeit an der Interdisziplinären Sektion für Neuroonkologie und Klinik für Neurochirurgie am Universitätsklinikum Tübingen teilhaben und diese interessante Arbeit anfertigen zu dürfen.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer und Mentor Herr PD.Dr.med. M. Skardelly für die uneingeschränkte und überaus engagierte Unterstützung, für die Motivation und konstruktive Hilfestellung, über den gesamten Zeitraum der Anfertigung dieser Arbeit hinweg. Darüber hinaus bedanke ich mich ganz herzlich für seine sehr unkomplizierte und ehrliche Art hinsichtlich Rat und Tadel.

Ich bedanke mich bei Frau J. Gohde für die Unterstützung, sowie den anspornenden und unterhaltsamen Stunden und Tagen bei der Datenerfassung.

Ich bedanke mich bei Frau C. Lau für das überaus mühevollen und sehr anspruchsvollen Korrekturlesen meiner Arbeit.

Ich bedanke mich bei Frau Dr. N. Janssen für die Unterstützung bei der Formatierung und für ihren beständigen, motivierenden Zuspruch.

Ich bedanke mich bei meinem Ehemann Herrn B. Dangel für die Bereitstellung der Hardware, permanente Motivation, Unterstützung und für seine besondere Art, mir immer wieder das Ziel vor Augen zu führen.

Ich bedanke mich bei meiner Schwester Frau I. Wink dafür, dass sie mir den Mut verliehen hat, dieses Studium in Angriff zu nehmen und durchzuhalten.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern Frau N. Müller und Herrn H. Müller. Ich danke ihnen von ganzen Herzen für die Ermöglichung meines Studiums, sowie für die unerschöpfliche und bedingungslose Unterstützung in jeglicher Hinsicht, während des gesamten Studiums und auch weit darüber hinaus.