

Aus dem
Department für Neurochirurgie und Neurotechnologie

**H3K27me3 und H3K36me3 in hochgradigen primären
Hirntumoren**

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

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

vorgelegt von

Winkler, Linda Maria

2025

Dekan: Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. F. Behling
2. Berichterstatter: Professor Dr. F. Fend

Tag der Disputation: 20.01.2025

Für meine lieben Eltern Sabine und Hagen

Für Oma Alice

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	VI
Abkürzungsverzeichnis	VII
1 EINLEITUNG	1
1.1 Tumore des zentralen Nervensystems (ZNS).....	1
1.2 WHO-Klassifikation.....	2
1.3 Primäre hochgradige Gliome	4
1.3.1 Epidemiologie	4
1.3.2 Klinik und Symptomatik.....	6
1.3.3 Diagnostik	7
1.3.4 Histologische und molekulare Merkmale.....	8
1.3.5 Therapie.....	13
1.3.6 Prognose.....	19
1.4 Prognostische Marker.....	24
1.4.1 H3K27me3	24
1.4.2 H3K36me3	27
1.5 Ziel der Arbeit	30
1.6 Zusatz: Neue WHO-Klassifikation	31
2 MATERIAL UND METHODEN.....	33
2.1 Patientenkollektiv.....	33
2.2 Gewebeproben	33
2.3 Tissue Microarray	35
2.3.1 Herstellung der Empfängerblöcke	36
2.3.2 TMA-Anordnung.....	36
2.3.3 TMA-Erstellung	37
2.4 Erstellung der HE-Färbung	40
2.5 Immunhistochemische Färbung.....	41
2.5.1 Allgemeines zur Immunhistochemie.....	41
2.5.2 OptiView System.....	42
2.5.3 Färbeverfahren mittels OptiviewKit	43
2.6 Auswertung.....	47
2.6.1 Mikroskopische Auswertung	47
2.6.2 Einteilung in Ausprägungsgrade	47

2.6.3	Ausschlusskriterien	49
2.6.4	Verwendete Färbungsverdünnungen	50
2.6.5	Statistische Auswertung	51
2.6.6	Computersoftware und technische Geräte	52
3	ERGEBNISSE	54
3.1	Klinische prognostische Faktoren	54
3.1.1	Tumorentität	54
3.1.2	Erkrankungsalter	55
3.1.3	Geschlecht	58
3.1.4	Karnofsky-Index	61
3.1.5	Resektionsausmaß	64
3.1.6	Präoperatives Tumolvolumen	68
3.1.7	Therapie	70
3.1.8	Lokalisation	75
3.2	Molekulare prognostische Marker	78
3.2.1	MGMT	78
3.2.2	H3K27me3	80
3.2.2.1	Häufigkeitsverteilung der Ausprägungsgrade	80
3.2.2.2	H3K27me3 als prognostischer Faktor	85
3.2.2.3	Progressionsfreies Überleben und H3K27me3	89
3.2.3	H3K36me3	95
3.2.3.1	Häufigkeitsverteilung der Ausprägungsgrade	95
3.2.3.2	H3K36me3 als prognostischer Faktor	100
3.2.3.3	Progressionsfreies Überleben und H3K36me3	104
3.3	Multivariate Analysen	109
3.3.1	H3K27me3	110
3.3.2	H3K36me3	112
4	DISKUSSION	115
4.1	Klinische prognostische Faktoren	115
4.1.1	Tumorentität	115
4.1.2	Erkrankungsalter	116
4.1.3	Geschlecht	119
4.1.4	KPS, Therapie	120
4.1.5	Resektionsausmaß	123
4.1.6	Lokalisation	124
4.1.7	Präoperatives Tumolvolumen	125
4.2	Molekulare prognostische Faktoren	126
4.2.1	H3K27me3	126
4.2.2	H3K36me3	130

4.3	Limitationen der Studie	133
5	ZUSAMMENFASSUNG	135
	Literaturverzeichnis	137
	Anhang	156
	A Erklärung zum Eigenanteil	156
	B Danksagung	157

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Algorithmus zur Klassifikation ausgewählter ZNS-Tumore	4
Abbildung 2: Histologische Eigenschaften des GBM im HE-Schnitt.....	9
Abbildung 3: Differenzierung und genetischer Signalweg des GBM	11
Abbildung 4: Auswirkungen von Mutationen auf H3K27me3 und die Tumorgenese.	25
Abbildung 5: Auswirkungen von Mutationen auf H3K36me3 und die Tumorgenese.	29
Abbildung 6: Flowchart der Fallauswahl.....	35
Abbildung 7: TMA-Herstellung.....	37
Abbildung 8: Tissue Micorarray.....	38
Abbildung 9: Schematische Darstellung der Immunhistochemie.....	42
Abbildung 10: Positivkontrollen nach erfolgreicher immunhistochemischer Färbung.	45
Abbildung 11: Score-Klassifikation 0-4.....	49
Abbildung 12: Mikroskopische Ausschlusskriterien.	50
Abbildung 13: Kaplan-Meier-Überlebenskurven der Tumorentitäten.....	55
Abbildung 14: Verteilung des Erkrankungsalters nach Tumorentität.	56
Abbildung 15: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des Erkrankungsalters.....	57
Abbildung 16: Geschlechtszugehörigkeit unter Betrachtung klinischer Aspekte	59
Abbildung 17: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Geschlechtszugehörigkeit.....	61
Abbildung 18: Häufigkeitsverteilung des KPS innerhalb der Gesamtkohorte. ...	62
Abbildung 19: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des KPS.....	63
Abbildung 20: Resektionsausmaß unter Betrachtung klinischer Aspekte.....	65
Abbildung 21: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des Tumorresektionsausmaß.....	67
Abbildung 22: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des präoperativen Tumolvolumens.....	70
Abbildung 23: Gewähltes Therapiekonzept unter Betrachtung klinischer Aspekte.....	72
Abbildung 24: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des Therapieregimes.....	74
Abbildung 25: Häufigkeitsverteilung der Tumorlokalisationen bei Patient:innen mit GBM.....	75

Abbildung 26: Häufigkeitstabelle der Tumorlokalisation mit Auflistung des dazugehörigen Gesamtüberlebens bei Patient:innen mit GBM .	76
Abbildung 27: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit einer parietalen Tumorlokalisation.	77
Abbildung 28: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit MGMT-Status.	78
Abbildung 29: Charakteristika der Patientenkohorte unter Betrachtung von H3K27me3.	81
Abbildung 30: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K27me3 im Glioblastom WHO IV.	87
Abbildung 31: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K27me3 im Astrozytom WHO III.	88
Abbildung 32: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K27me3 im Oligodendrogliom WHO III.	89
Abbildung 33: Progressionsfreies Intervall in Abhängigkeit der H3K27me3-Expression im Primärtumor.	91
Abbildung 34: Verteilung der Ausprägungsgrade von H3K27me3 im Rezidivtumor in Abhängigkeit der Tumorentität.	92
Abbildung 35: Charakteristika der Patientenkohorte unter Betrachtung von H3K36me3.	96
Abbildung 36: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K36me3 im Glioblastom WHO IV.	101
Abbildung 37: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K36me3 im Astrozytom WHO III.	103
Abbildung 38: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K36me3 im Oligodendrogliom WHO III.	104
Abbildung 39: Progressionsfreies Intervall in Abhängigkeit des Scores von H3K36me3 im Primärtumor.	105
Abbildung 40: Verteilung der Ausprägungsgrade von H3K36me3 im Rezidivtumor in Abhängigkeit der Tumorentität.	106

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation ausgewählter Tumore des ZNS	3
Tabelle 2: Symptome bei Patient:innen mit hochgradigen Gliomen.	7
Tabelle 3: KPS-Skala.	20
Tabelle 4: Material zur TMA-Herstellung.	39
Tabelle 5: Färbemittel für die HE-Färbung.	41
Tabelle 6: Verwendetes Material für die Immunhistochemie	45
Tabelle 7: Färbesubstanzen für die Immunhistochemie	46
Tabelle 8: Verwendete Antikörper für die Immunhistochemie	46
Tabelle 9: Einteilung der Ausprägungsgrade in Scores.....	48
Tabelle 10: Verwendete Computersoftware und Geräte.	53
Tabelle 11: Medianer Score von H3K27me3 der Rezidivtumore in Abhängigkeit des Scores im Primärtumor.	93
Tabelle 12: Medianer Score von H3K36me3 der Rezidivtumore in Abhängigkeit des Scores im Primärtumor.	107
Tabelle 13: Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse unter Betrachtung der H3K27me3-Expression.	110
Tabelle 14: Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse unter Betrachtung eines H3K27me3-Verlusts gegenüber einer H3K27me3-Retention.	111
Tabelle 15: Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse unter Betrachtung der H3K36me3-Expression.	113
Tabelle 16: Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse unter Betrachtung eines H3K36me3-Verlusts gegenüber einer H3K36me3-Retention.	114

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celcius
1p/19q- Codeletion	Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 und des langen Arms von Chromosom 19
3D	dreidimensional
5-ALA	5-Aminolävulinsäure
AA	Anaplastisches Astrozytom
ANOVA	Varianzanalyse (englisch: analysis of variance)
AO	Anaplastisches Oligodendrogliom
AOA	Anaplastisches Oligoastrozytom
ATRX	X- chromosomale alpha-Thalassämie mentale Retardierung (englisch: Alpha Thalassemia/mental Retardation, X- linked)
BVC	Bevacizumab
CC1	Zellkonditionierer 1 (englisch: cell conditioner 1)
CC2	Zellkonditionierer 2 (englisch: cell conditioner 2)
CDKN2A	Cyclin- abhängiger- Kinase- Inhibitor 2A (englisch: Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A)
CIMP+	Gliom-CpG Insel Methylator Phenotyp
cm	Zentimeter
cm ³	Kubikzentimeter
CT	Computertomographie
DAB	Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid
DCG	diffuses cerebelläres Gliom (englisch: Diffuse Cerebellum Glioma)
de novo	von neuem
DIPG	diffuse intrinsische pontine Gliome
DM2	Diabetes mellitus Typ 2
DNA	Desoxyribonucleinsäure (englisch: Desoxyribonucleic Acid)
EGF	epidermaler Wachstumsfaktor (englisch: Epidermal Growth Factor)
GBM	Glioblastoma multiforme
GD-DTPA	Gadopentetat- Dimeglumin
GFAP	saures Gliafaserprotein (englisch: Glial Fibrillary Acidic Protein)

Gy	Gray
H3K27M	Mutation des Histons 3 an Stelle 27
H3K36M	Mutation des Histons 3 an Stelle 36
H3K27me3	Trimethylierung im Histon 3 an Stelle 27
H3K36me3	Trimethylierung im Histon 3 an Stelle 36
HE	Hämatoxylin-Eosin
HGG	hochgradige Gliome
IDH	Isocitrat-Dehydrogenase
IgG	Immunglobulin G
ioMRT	intraoperative Magnetresonanztomographie
Kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kHz	Kilohertz
KOF	Körperoberfläche
KPS	Karnofsky-Index (englisch: Karnofsky Performance Status)
LCS	flüssiges Deckglas (englisch: Liquid Cover Slip)
mg	Mikrogramm
MGMT	O6-Methylguanin- DNA Methyltransferase
MGMT-	unmethylierter MGMT-Promoter
MGMT+	methylierter MGMT-Promoter
MHz	Megahertz
MIB-Index	molekularer immunologischer Borstel-Index (englisch: Molecular Immunology Borstel- Index)
min	Minute
mm	Millimeter
MMR	Reparatur fehlerhafter DNA (englisch: Miss Match Repair)
MMST	Mini-Mental-Status-Test
MPNST	Maligne periphere Nervenscheidentumore
mRNA	Boten-Ribonucleinsäure (englisch: messenger Ribonucleic Acid)
MRT	Magnetresonanztomographie
MTA-1	Manual Tissue Arrayer 1
N	Anzahl
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NF1	Neurofibromatose Typ 1
NF2	Neurofibromatose Typ 2
NOS	nicht anders spezifiziert (englisch: not otherwise specified)

OS	Gesamtüberlebenszeit (englisch: overall survival)
p	probabilitas
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (englisch: Polymerase Chain Reaction)
PCV	Polychemotherapie Procarbazin, Lomustin, Vincristin
PDGFRA	von Blutplättchen abgeleiteter Wachstumsfaktorrezeptors A (englisch: Platelet-Derived Growth Factor Receptor A)
PET	Positronenemissionstomographie
PFS	Progressionsfreies Überleben (englisch: progression free survival)
pH	Pondus Hydrogenii
pHGG	primäre hochgradige Gliome
PRC2	Polycomb-repressiver Komplex 2 (englisch: Polycomb Repressive Complex 2)
qm ²	Quadratmeter
R0	Resektion im Gesunden
RT-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (englisch: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)
SEM	Standardfehler
SETD2	SET-Domäne 2
TMA	Tissue Microarray
TMZ	Temozolomid
TP53	Tumorprotein 53
TTF	Tumortheraiefelder
USA	Vereinigte Staaten (englisch: United States of America)
UV-Licht	ultraviolettes Licht
VEGF	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (englisch: Vascular Endothelial Growth Factor)
WHO	Weltgesundheitsorganisation (englisch: World Health Organization)
ZNS	zentrales Nervensystem
µl	Mikroliter

1 EINLEITUNG

1.1 Tumore des zentralen Nervensystems (ZNS)

Zu den Neoplasien des zentralen Nervensystems zählen neben den sekundären, aus anderen Neoplasien entstandenen Absiedlungen, die primären Hirntumore, welche sich durch ihre molekulare, histologische und klinische Heterogenität in unterschiedliche Entitäten einteilen lassen (Wirsching und Weller 2018; Louis et al. 2016). Sie entwickeln sich aus unterschiedlichen Zellen des zentralen Nervengewebes, auf welche die Nomenklatur der Hirntumore anhand derer typischen histopathologischen Ähnlichkeiten basiert. Zum Beispiel Astrozytome, inklusive dem Glioblastom, Oligodendrogliome, Ependymome oder Neurozytome (Louis et al. 2016; Louis et al. 2021).

Der Großteil der hirneigenen Tumore tritt sporadisch auf. Eine familiäre Häufung oder der Einfluss von exogenen Faktoren ist in den allermeisten Fällen nicht zu beobachten (Wirsching und Weller 2018).

Eine Besonderheit stellen die Hirntumore hinsichtlich der hämatogenen Metastasierung dar, die anders als bei Krebsarten der allermeisten Organe nur in Einzelfällen beobachtet wird. Im Gegensatz zur seltenen extraneuralen Metastasierung, zeigen die meisten primären Gliome jedoch ein ausgeprägtes infiltratives Wachstum in angrenzende Hirnregionen, was die lokalen Therapiemöglichkeiten begrenzt (Torres und Canoll 2019). Häufig ist bei höhergradigen Gliomen die Rede von einer Ganzhirnerkrankung, da auch in Frühstadien und scheinbar begrenzter Ausdehnung schon eine weit fortgeschrittene Tumorzellinfiltration in distante Hirnregionen vorliegt (Sahm et al. 2012).

Trotz intensiver wissenschaftlicher Bemühungen hat sich die Prognose insbesondere von Patient:innen mit hochgradigen Gliomen (HGG) bisher kaum verbessert (Weller et al. 2015).

1.2 WHO-Klassifikation

Definitionsgemäß werden Gliome nach histopathologischen Kriterien gemäß der WHO-Klassifikation in die Grade I-IV unterteilt. Hierbei zählen die niedriggradigen Tumore zu den Graden I-II, wohingegen die hochgradigen Hirntumore den Graden III und IV zugeordnet werden (Louis et al. 2016; Louis et al. 2021). Pilozytische Astrozytome, als Vertreter der WHO Grad I-Tumore zeichnen sich durch ein langsames Wachstum und möglicher Heilung der betroffenen Patient:innen nach vollständiger chirurgischer Resektion aus. Im Gegensatz dazu neigen die WHO Grad II-Tumore zur Rezidivbildung und einer malignen Progression (Kirchner et al. 2014). Weiter entsprechen Gliome der WHO-Grade III und IV malignen Entitäten, charakterisiert durch schnelles und infiltratives Wachstum, welche neben einer maximalen Resektion zusätzlich durch eine anschließende Radiochemotherapie behandelt werden sollten (Stupp et al. 2005). Dennoch liegt das mittlere Gesamtüberleben bei Letzteren trotz aggressiver multimodaler Behandlung bei 14 Monaten (Stupp et al. 2005).

Bis zur Veröffentlichung der WHO-Klassifikation von Tumoren des ZNS im Jahr 2016 erfolgte die Einteilung hauptsächlich basierend auf histopathologischen Merkmalen, den unterschiedlichen Herkunftszellen sowie aufgrund des Differenzierungslevels der Tumore. Seit 2016 gehen nun neben histologischen Kriterien zusätzlich molekulare Marker in die Beurteilung der Tumorentität sowie des Malignitätsgrades mit ein (Louis et al. 2016) und dienen so einer klaren Zuordnung innerhalb der WHO-Klassifikation (Tabelle 1). So werden zum Beispiel Glioblastome vom Isocitrat-Dehydrogenase (IDH)-Wildtyp von solchen mit dem Vorliegen einer IDH-Mutation unterschieden, wobei letztere wahrscheinlich sekundären Glioblastomen entsprechen (Ohgaki und Kleihues 2013). Die IDH-Enzyme wirken als Katalysatoren in der Reaktion von Isocitrat zu α -Ketoglutarat (Gupta et al. 2011). Eine Mutation der Enzyme ist dabei mit einer großen Menge von ansonsten geringfügig vorhandenen Stoffwechselprodukten 2-Hydroxyglutarat und Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH) assoziiert (Brennan 2011; Parsons et al. 2008). Weiterhin stellt der Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 und des langen Arms von Chromosom 19 (1p/19q-Codeletion)

einen diagnostischen Marker für das Vorliegen eines Oligodendroglioms dar, wodurch die früher regelmäßig diagnostizierte Mischform eines Oligoastrozytoms praktisch abgeschafft wurde (Sahm et al. 2014). Speziell für diese Arbeit von Bedeutung sind außerdem die seit 2016 in der Klassifikation der WHO berücksichtigten Glioblastome mit vorliegender Mutation des Histons 3 an Stelle 27 (H3K27M) (Louis et al. 2016), welche sich als Marker für diffuse Mittellinienglioma etabliert hat (Cooney et al. 2020).

Aufgrund des schnellen fortwährenden Fortschritts auf dem Gebiet der Gliomklassifikation erscheinen regelmäßig Updates des Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy (cIMPACT-NOW) (Louis et al. 2019; Louis et al. 2021). In der aktuellen Klassifikation haben molekulare Charakteristika einen zunehmenden Stellenwert bei der Einteilung der Gliome. Angesichts der Erstellung dieser Arbeit vor Erscheinen der neuen Klassifikation wird diese in einem gesonderten Kapitel besprochen (s. Kapitel 1.6 Zusatz: Neue WHO-Klassifikation).

Tabelle 1: **Klassifikation ausgewählter Tumore des ZNS**, nach Louis et al. 2016. Seit 2016 werden ZNS-Tumore zusätzlich nach Vorliegen unterschiedlicher molekularer Marker differenziert. Die römischen Zahlen I, II, III und IV entsprechen dabei den Graden der Weltgesundheitsorganisation (WHO).

Diffuse astrozytäre und oligodendrogliale Tumore	I	II	III	IV
Diffuses Astrozytom, IDH-mutiert		•		
Anaplastisches Astrozytom, IDH-mutiert			•	
Glioblastom, IDH-Wildtyp				•
Glioblastom, IDH-mutiert				•
Diffuses Mittelliniengliom, H3K27M-mutiert				•
Oligodendrogliom, IDH-mutiert und 1p/19q-Codeletion		•		
Anaplastisches Oligodendrogliom, IDH-mutiert und 1p/19q-Codeletion			•	

Ein Algorithmus zur Herleitung des WHO-Grades anhand der gegebenen histologischen sowie molekularen Gegebenheiten ist in Abbildung 1 dargestellt.

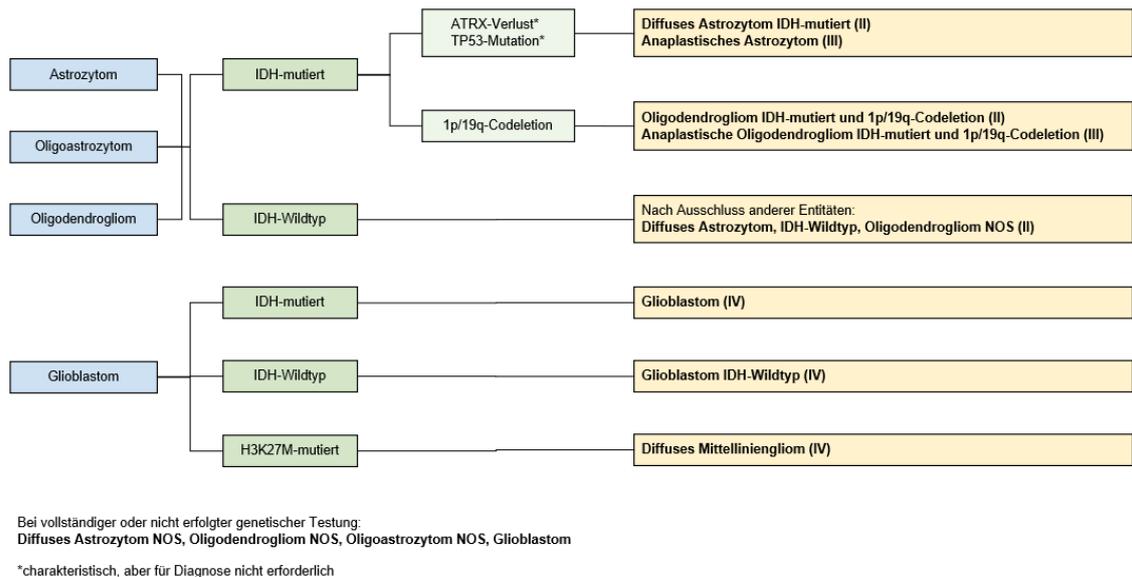


Abbildung 1: **Algorithmus zur Klassifikation ausgewählter ZNS-Tumore**, modifiziert nach Louis et al. 2016. Dargestellt sind ZNS-Tumorentitäten mit möglichen molekularen Merkmalen und dem daraus resultierenden WHO-Grad.

Die dargestellte Einstufung ausgewählter zentraler Neoplasien kann im klinischen Alltag als Referenz für die weitere Therapie mit einer adjuvanten Bestrahlung und spezifischen Chemotherapie herangezogen (Hegi et al. 2005; Weller et al. 2017) und daraus prognostische Werte abgeleitet werden. Darüber hinaus müssen weitere Variablen für eine Prognosefestlegung betrachtet werden. Hierzu zählen neben der WHO-Klassifikation zum einen klinische Kriterien wie das Alter der Erkrankten, der neurologische Status sowie die Tumorlokalisation. Auch das Ausmaß der chirurgischen Resektion wird als prognostischer Faktor betrachtet (Lamborn et al. 2004; Lacroix et al. 2001; Dobran et al. 2018; Mineo et al. 2007).

1.3 Primäre hochgradige Gliome

1.3.1 Epidemiologie

Aufgrund des demografischen Wandels mit Zunahme der älteren Population sowie der verbesserten Diagnosemöglichkeiten, nahm die Inzidenz der

Patient:innen mit Glioblastoma multiforme (GBM), insbesondere mit einem Alter über 70 Jahren, in der vergangenen Zeit stetig zu (Hess et al. 2004). Nach den Meningeomen (39,0%) und Hypophysentumoren (17,1%) vertritt das GBM (14,3%) in den USA die dritthäufigste Neoplasie des ZNS (Ostrom et al. 2021). Das GBM stellt dabei mit 49,1% aller malignen (Ostrom et al. 2021) und 52% aller primären Hirntumore (Cairncross et al. 2013) die häufigste primäre und maligne Hirnneoplasie im Erwachsenenalter (Ohgaki, 2009; Yong & Lonser, 2011; Young et al., 2017) mit einer jährlichen Inzidenz von 3,23/100.000 (Stupp et al. 2017; Ostrom et al. 2015; Ostrom et al. 2021) dar und geht mit einer schlechten Prognose einher. Weiter rangiert das anaplastische Astrozytom (AA) mit etwa 6,8 % aller primären ZNS-Gliome (Ostrom et al. 2021) an zweiter Stelle. Eine weitere seltene Untergruppe repräsentiert das anaplastische Oligodendrogliom (AO) mit einer sehr variablen Prognose (Labreche et al. 2015). Oligodendrogliome haben einen Anteil von 1,7% aller primären Gliome des ZNS (Ostrom et al. 2021).

Für den Großteil der Gliome lassen sich keine eindeutigen Risikofaktoren identifizieren. Typische, mit anderen Krebsarten assoziierten Faktoren, wie Nikotin- oder Alkoholabusus wurden untersucht, boten jedoch keine eindeutige Korrelation zum Auftreten der Erkrankung (Francis et al. 2022). Ein kleiner Anteil dieser Tumore ist auf genetische Veränderungen und Risikofaktoren zurückzuführen. So stellen die Neurofibromatose Typ 1 (NF1) und 2 (NF2), das Li-Fraumeni-Syndrom und die tuberöse Sklerose sowie ionisierende Strahlung ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Gliomen dar (Grimm und Chamberlain 2016; Ostrom et al. 2014; Francis et al. 2022).

Die Hälfte aller betroffenen Patient:innen mit GBM in den USA sind über 65 Jahre und ein Fünftel über 75 Jahre alt (Ostrom et al. 2015). Während beim AA und GBM die Inzidenz altersabhängig steigt (Ostrom et al., 2014; Ostrom et al., 2015; Ostrom et al., 2021; Reardon & Wen, 2006; Young et al., 2017), tritt das AO gehäuft in jüngeren Jahren (Ostrom et al. 2014) auf. Das durchschnittliche Diagnosealter beim AO beträgt dabei 49,2 Jahre (Liu et al. 2019) und erreicht weiterhin die höchste Inzidenz im Alter von 45-54 Jahren (Ostrom et al., 2021).

Bekannt ist auch, dass Männer etwas häufiger von hirneigenen Tumoren betroffen sind als Frauen (Reardon und Wen 2006; Hardell et al. 2013; Ostrom et al. 2021). In einer epidemiologischen Studie von Hardell et al. zeigt sich diesbezüglich ein Verhältnis von 64,5% zu 35,5% zwischen dem männlichen und weiblichen Geschlecht unter Berücksichtigung der Astrozytome WHO III-IV (Hardell et al. 2013). Eine ähnliche Verteilung konnte auch bei Patient:innen mit AO (Engelhard et al. 2003) mit einem Verhältnis von 56,19% zu 43,81% Männer zu Frauen festgestellt werden (Liu et al. 2019).

Darüber hinaus wird eine höhere Inzidenz von malignen Gliomen (Reardon und Wen 2006; Liu et al. 2019; Ostrom et al. 2015) bei vergleichbarer Therapie und eine schlechtere Überlebensrate in der weißen Bevölkerung beschrieben (Miller et al. 2021).

1.3.2 Klinik und Symptomatik

Höhergradige Gliome, insbesondere das GBM, werden durch ihr invasives Wachstum in die Umgebung und dem daraus entstehenden Druck und ödematöser Schwellung in angrenzende Hirnareale symptomatisch (Yong und Lonser 2011; Batchelor 2017; Schijns et al. 2018). Die Symptome sind dabei vielfältig und reichen von Kopfschmerzen, Krampfanfällen, Sprachdefiziten bis hin zu motorischen Ausfallserscheinungen, welche von der jeweiligen Lokalisation abhängen (Batchelor 2017; Chaichana et al. 2014). Weiterhin können Gedächtnisverluste, Persönlichkeitsveränderungen und Verwirrtheit auftreten (Batchelor 2017). Ein häufiges Erscheinungsbild geben dabei Krampfanfälle ab, welche bei etwa der Hälfte aller Patient:innen mit einem Gliom WHO III und bei etwa einem Viertel der Patient:innen mit einem Gliom Grad IV auftreten (Batchelor 2017; Chang et al. 2005). Diese können generalisiert oder fokal auftreten und unterscheiden sich abhängig von der Tumorlokalisierung (Schijns et al. 2018). Krampfanfälle sind Folgeerscheinungen der durch die Neoplasie bedingten veränderten und unorganisierten elektrischen Aktivität der Zellen, welche allerdings in vielen Fällen medikamentös kontrolliert werden können (Batchelor 2017). Darüber hinaus zeigen Betroffene mit einem langen Gesamtüberleben vermehrt kognitive Defizite.

Grund hierfür können durch die Behandlung entstandene Strahlenschäden, ein kommunizierender Hydrozephalus, Schädelneuropathien und Polyradikulopathien durch eine leptomeningeale Ausbreitung sein (Schijns et al. 2018). In Tabelle 2 wurden nun die wichtigsten Symptome der Patient:innen mit HGG nach einer Studie von Chang et al. aufgeführt (Chang et al. 2005).

Tabelle 2: **Symptome bei Patient:innen mit hochgradigen Gliomen** (Chang et al. 2005). Die Symptome der Patient:innen sind sehr vielfältig und reichen von kognitiven über motorische bis hin zu sensorischen Defiziten.

Symptome	Prozentualer Anteil symptomatischer Patient:innen		
	(%)	WHO III	WHO IV
Kopfschmerzen	56,0	52,7	57,3
Gedächtnisverlust	35,5	26,5	39,2
Kognitive Störungen	34,4	22,5	38,8
Motorische Defizite	33,0	25,2	35,9
Sprachstörungen	32,5	22,5	36,2
Krampfanfälle	31,9	56,5	23,5
Persönlichkeitsstörungen	23,1	10,9	27,4
Sehstörungen	21,6	23,1	21,1
Andere	17,4	14,3	18,5
Bewusstseinsstörungen	16,2	10,9	18,3
Übelkeit/Erbrechen	13,1	8,2	14,8
Sensorische Defizite	12,6	5,0	11,9
Papillenödem	4,6	4,8	4,6
Karnofsky-Index Mittelwert (%)	81	86	79

1.3.3 Diagnostik

Häufig wird im Rahmen der ersten diagnostischen Schritte eine Computertomographie (CT) durchgeführt, um eine Blutung oder einen Schlaganfall bei zum Beispiel (z.B.) plötzlich einsetzenden neurologischen Symptomen, ausschließen zu

können. Die Magnetresonanztomographie (MRT) stellt die diagnostische Methode der Wahl bei hirneigenen Tumoren dar. Zur besseren Abgrenzung der Ausdehnung des Tumorgewebes erfolgt die Bildgebung in der Regel mithilfe von über die Vene verabreichtem Kontrastmittel z.B. Gadolinium (Grimm und Chamberlain 2016). Ergänzend kann eine Diffusions-MRT, Perfusions-MRT, MR-Spektroskopie sowie eine Positronenemissionstomographie (PET) zur genaueren Darstellung und Differenzierung beitragen (Mechtler 2009). Während die MRT eine hohe Sensitivität in der Darstellung eines Hirntumors und dessen Lokalisation aufweist, ist ihre Spezifität eher gering. So sollte im weiteren Verlauf eine Gewebesicherung stattfinden, um die Diagnose zu sichern (Taal et al. 2015). Diese wird in den allermeisten Fällen im Rahmen einer Operation mit gleichzeitiger Resektion des Tumors durchgeführt, welche in speziellen Fällen auch mittels einer stereotaktischen oder navigierten Biopsie erfolgen kann (Batchelor 2017). Letztere kommt dann zum Einsatz, wenn der Tumor sich in einer sehr ungünstigen, schwer zu operierenden Region des funktionellen Gehirngewebes befindet oder wenn die betroffene Person aufgrund seines Allgemeinzustands nicht operationsfähig ist (Batchelor 2017). Im Anschluss an die Entnahme der Gewebeprobe erfolgt die histopathologische Begutachtung und anhand dessen die genaue Diagnose (Taal et al. 2015).

1.3.4 Histologische und molekulare Merkmale

Durch unterschiedliche histopathologische Merkmale können die unterschiedlichen Gliome differenziert und diagnostiziert werden, wobei die Beschreibung von molekularen Veränderungen einen wachsenden Stellenwert zur Sicherung der Diagnose und prognostischen Einschätzung darstellt (Louis et al. 2016).

Im Folgenden werden die wichtigsten Eigenschaften nach Tumorentitäten getrennt voneinander erläutert.

Die im Laufe der Fertigung meiner Arbeit neu erschienene WHO-Klassifikation aus dem Jahr 2021 und deren Bedeutung für die untersuchten Tumorentitäten

wird in einem separaten Kapitel erläutert (s. Kapitel 1.6 Zusatz: Neue WHO-Klassifikation).

1.3.4.1 *Glioblastoma multiforme*

Das GBM zeichnet sich durch seine hohen proliferativen und infiltrativen Eigenschaften aus (Louis et al. 2007). Darüber hinaus zeigt das GBM ein typisches mikroskopisches Bild (Abbildung 2). Zu den wichtigsten histologischen Merkmalen zählen dabei eine hohe Zelldichte mit schlecht differenzierten, runden und pleomorphen, zum Teil mehrkernigen Zellen mit atypischen Zellkernen (Reardon und Wen 2006). Definierende histopathologische Kennzeichen sind eine hohe Endothelproliferation und Pseudopallisaden mit strichförmiger Nekrose (Reardon und Wen 2006; Taal et al. 2015; Wirsching et al. 2016). Zudem existiert eine hohe inter- und intratumorale Heterogenität (Patel et al. 2014; Sottoriva et al. 2013).

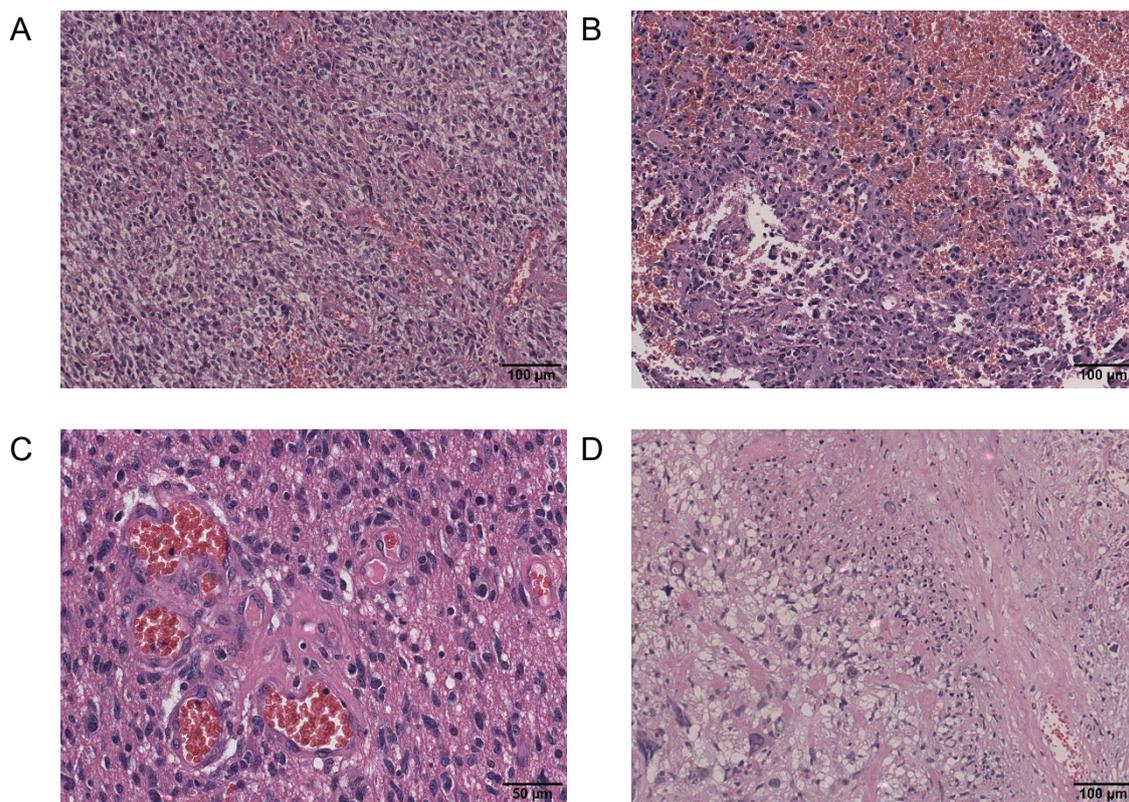


Abbildung 2: **Histologische Eigenschaften des GBM im HE-Schnitt.** **A** Kern- und Zellpleomorphie, erhöhte Mitose- und Proliferationsrate. **B** Einblutungen in das Tumorgewebe. **C** pathologische glomerulumartige Gefäßproliferate. **D** strichförmige Nekrose mit perinekrotischen Pseudopallisaden.

Gemäß der WHO-Klassifikation wird das GBM in IDH-mutierte und IDH-Wildtyp Varianten unterschieden (Louis et al. 2016; Taal et al. 2015). Das GBM mit IDH-Wildtyp stellt mit über 90% der Fälle den vorherrschenden Typ dar und tritt vermehrt als sogenanntes primäres oder von Neuem (de novo) entstandenes GBM auf. Dagegen wird angenommen, dass sich IDH-mutierte Tumore als sekundäre GBM aus einer zuvor bestehenden niedriggradigeren Entität entwickelt haben und kommen häufiger bei jüngeren Patient:innen vor (Ohgaki & Kleihues, 2013).

Das primäre GBM entwickelt sich aus Gliazellen des Gehirns (Reardon und Wen 2006) und zeigt gehäuft eine Überexpression oder Amplifikation des epidermalen Wachstumsfaktors (EGF) (Benjamin et al. 2003; Ohgaki 2005). 80% der Tumormasse ist gekennzeichnet durch typische Tumorzellen sowie zentraler Nekrose, während der andere Teil die schlecht zu definierende Invasionszone, bestehend aus Endothelzellen, Blutgefäßen, Makrophagen, Mikroglia, myeloischen Zellen, Lymphozyten und anderen Immunzellen, widerspiegelt (Krichevsky und Uhlmann 2019). Letzteren wird zudem eine immunsuppressive und dadurch das Tumorstadium fördernde Eigenschaft nachgesagt (Krichevsky und Uhlmann 2019). Das primäre GBM kann in drei weitere Subtypen unterteilt werden. Je nach Vorliegen unterschiedlicher genetischer und molekularer Veränderungen und Transkriptionsfaktoren unterscheidet man proneurale, klassische und mesenchymale GBM (Brennan et al. 2013; Phillips et al. 2006; Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways 2008; Khan et al. 2022). Dabei weisen proneurale Tumore vermehrt eine Mutation von IDH 1 oder des von Blutplättchen abgeleiteten Wachstumsfaktorrezeptors A (PDGFRA) auf und beinhalten weiterhin eine CpG-Insel (CIMP+)-Subgruppe im Genom (Xie et al. 2015). Das klassische GBM dagegen zeigt häufig eine EGFR-Amplifikation sowie eine homozygote Deletion vom Cyclin-abhängigen-Kinase-Inhibitor 2A (CDKN2A). Mesenchymale Proben sind dabei häufig mit einer hemizygoten Deletion von NF 1 assoziiert (Xie et al. 2015). Die große Heterogenität innerhalb des Tumors erschwert jedoch die Differenzierung und kann eine Einteilung verschiedener Tumoranteile in unterschiedliche Subtypen zur Folge haben (Sottoriva et al. 2013).

Das sekundäre Glioblastom entwickelt sich aus niedriggradigeren Gliomen des WHO-Grades II oder III und stellt die Minderheit aller GBM dar (Wirsching et al. 2016). Auf molekularer Ebene werden diese durch eine spezifische Punktmutation auf den für die IDH 1 und 2 kodierenden Genen definiert (Wirsching et al. 2016; Ohgaki und Kleihues 2013). Im Gegensatz zu den primären sind die sekundären GBM mit einem längeren Gesamtüberleben verbunden und werden gehäuft in jüngeren Altersgruppen diagnostiziert (Wirsching et al. 2016).

Eine Übersicht über die Differenzierung der beiden Glioblastomvarianten unter Berücksichtigung genetischer Veränderungen bietet die Abbildung 3.

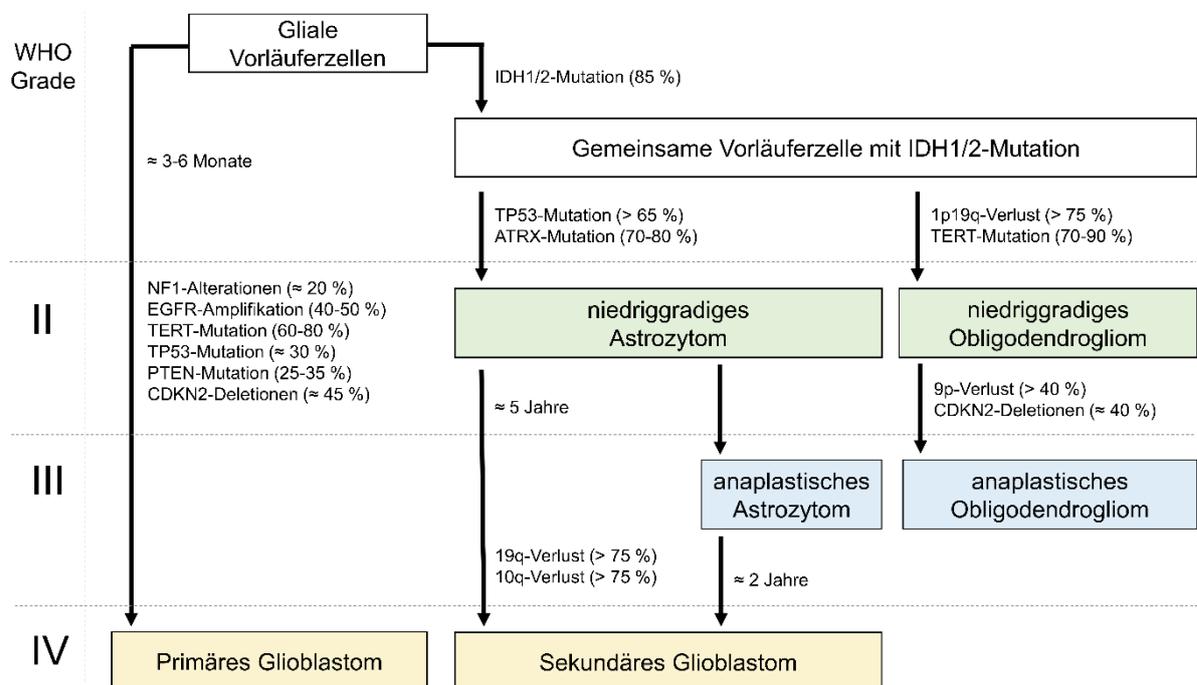


Abbildung 3: **Differenzierung und genetischer Signalweg des GBM**, modifiziert nach Ohgaki und Kleihues 2013. Während das primäre GBM direkt aus einer glialen Vorläuferzelle entsteht, entwickelt sich das sekundäre GBM aus einer zuvor bestehenden niedriggradigeren Tumorentität. Genetische Veränderungen spielen dabei in beiden Entstehungswegen eine Rolle.

1.3.4.2 Anaplastisches Astrozytom

Ähnlich zum GBM wird das AA in ein primäres und sekundäres AA unterteilt. Mit einem Anteil von etwa 25% repräsentiert das direkt aus Gliazellen des Gehirns entstehende primäre AA die Minderheit in dieser Subgruppe der HGG (Mechtler 2009). Die restlichen 75% werden dagegen von den sekundären AA vertreten,

welche sich aus niedriggradigen Astrozytomen entwickeln (Mechtler 2009). Eine hohe intratumorale Heterogenität, bestehend aus niedrig- und hochgradigen Neoplasieeregionen, lässt dabei Rückschlüsse auf eine Entstehung aus niedrigmaligneren Astrozytomen zu (Grimm und Chamberlain 2016). Zu den charakteristischsten histopathologischen Merkmalen des AA gehören eine hohe Mitoseaktivität, eine hohe Zelldichte, Kernatypien sowie der immunhistochemische Nachweis des sauren Gliafaserproteins (GFAP) und das Fehlen neuronaler Marker (Louis et al. 2007). Wichtigste differentialdiagnostische Merkmale zum ebenfalls astrozytären GBM stellen die Nekrose und Mikrovaskularisation dar, welche bei einem AA nicht auftreten, sondern Diagnosekriterien des GBM darstellen (Louis et al. 2007). In über 70% der AA treten Mutationen in den Genen TP53 und ATRX auf („alpha thalassemia mental retardation syndrome x-linked“). Bei ATRX handelt es sich um einen Multiproteinkomplex, welcher einen wichtigen Mechanismus in der Aufrechterhaltung der Telomere von Chromosomen darstellt und dessen Mutationen in einer aufgehobenen Proteinexpression endet (Grimm und Chamberlain 2016). Bei TP53 hingegen handelt es sich um ein Tumorsuppressorgen. Weiterhin existiert bis heute kein eigenständiger molekularer Marker zur Definition des AA, sodass die Diagnosestellung aus einer Verknüpfung der histologischen und molekularen Marker erfolgt. Darüber hinaus spielt, ähnlich wie bei den sekundären GBM (Brennan 2011; Gupta et al. 2011), eine IDH-Mutation eine wichtige Rolle, welche sich im Übrigen unabhängig von anderen Faktoren als prognostisch günstig erweist (Grimm und Chamberlain 2016). Zudem ist der IDH-Mutation in der aktuellen WHO-Klassifikation eine differenzierende Rolle bei der Abgrenzung zum GBM zuteilgeworden. Der Verlust der IDH-Mutation definiert einen astrozytären Tumor als Glioblastom (Louis et al. 2021).

1.3.4.3 Anaplastisches Oligodendrogliom

Das AO stellt einen seltenen, aber mit ausgeprägten histopathologischen Eigenschaften ausgestatteten Gliomtyp dar (Louis et al. 2007; Louis et al. 2016). Die Diagnose eines AO wird bei Vorliegen einer IDH-Mutation sowie der 1p/19q-Codeletion, einem AO spezifischen molekularen Marker (Grimm und Chamberlain 2016), gestellt.

Das klassische Oligodendrogliom zeigt typische histopathologische Eigenschaften. Diese umfassen eine wabenartige Anordnung der Tumorzellen mit einem „Spiegelei“-ähnlichen Erscheinungsbild durch runde Zellkerne mit umgebenden klaren Höfen. Häufig, allerdings nicht spezifisch, existieren zudem verzweigte Netzwerke feiner Kapillaren (Wesseling et al. 2015). Eine ausgeprägte mitotische Aktivität mit erhöhter Zelldichte und Zellpleomorphie, eine mikrovaskuläre Proliferation oder auffällige Nekrosen sind weitere Kennzeichen eines AO (Engelhard et al. 2003; Wesseling et al. 2015). Ferner kann in Oligodendrogliomen in manchen Fällen ein Wachstum in die Leptomeningen beobachtet werden (Engelhard et al. 2003). Das AO weist in der Regel eine Mutation von IDH 1 und 2 auf und zeigt hierbei einen Hypermethylierungs-Phänotyp (Yan et al. 2009; Noushmehr et al. 2010).

1.3.5 Therapie

Trotz zahlreicher Bemühungen und Fortschritte bleibt die Behandlung von HGG bis heute eine Herausforderung und erfordert das Zusammenwirken eines multidisziplinären Teams. In der Vergangenheit hat sich neben einer adäquaten Symptombehandlung die Standardtherapie aus Operation, Bestrahlung und Chemotherapie durchgesetzt.

1.3.5.1 Chirurgische Resektion

In der Behandlung des GBM ist die Operation und das Ausmaß der erfolgten Tumorsektion ein signifikanter unabhängiger prognostischer Faktor (Mahboob und Eljamel 2017). Somit stellt die chirurgische Resektion des Tumorgewebes den ersten entscheidenden therapeutischen Schritt dar, um zum einen die Diagnose zu sichern und zum anderen die Tumorlast bestmöglich zu reduzieren (Schijns et al. 2018; Grimm und Chamberlain 2016; Stupp et al. 2007). In der Vergangenheit wurden hierfür zahlreiche Verfahrenstechniken wie das Operationmikroskop, der intraoperative Ultraschall, die Neuronavigation, die fluoreszenzgesteuerte Resektion und die intraoperative MRT entwickelt (Heßelmann et al. 2017). Mit diesen Hilfsmitteln kann eine möglichst radikale Resektion, selbst

bei schwieriger Lokalisation, erreicht werden. Hierbei ist entscheidend den neurologischen Zustand des Erkrankten durch die Operation nicht weiter einzuschränken und somit eine Weiterbehandlung zu ermöglichen (Yong und Lonser 2011).

Mithilfe der *Neuronavigation* kann anhand einer präoperativen Bildgebung die exakte Tumorlokalisierung und somit eine zielgerichtete Kraniotomie erfolgen. Eine intraoperative Hirnverschiebung, welche die präoperativ dargestellte Anatomie verändert, beeinträchtigt jedoch nach einem gewissen Resektionsausmaß die Genauigkeit der Neuronavigation, was den Nutzen dieser Technologie ab einem bestimmten Punkt der Tumorresektion einschränkt (Jenkinson et al. 2018).

Die *fluoreszenzgesteuerte Resektion* erfolgt nach der präoperativen oralen Gabe von 5-Aminolävulinsäure (5-ALA). Durch Akkumulation der fluoreszierenden, als Metabolite von 5-ALA entstandenen, Porphyrine in bevorzugt mitotisch aktivem Gewebe (Regula et al. 1995), können so GBM mithilfe spezieller Operationsmikroskope und ultraviolettem Licht (UV-Licht) identifiziert werden (Stummer et al. 2000; Stummer et al. 1998). Hierbei ist das Signal von der Zelldichte und der Porphyrinkonzentration abhängig (Guyotat et al. 2016). Mit einer Sensitivität von 90% ermöglicht die fluoreszenzgesteuerte Resektion einen verbesserten Resektionsgrad von Kontrastmittel aufnehmendem Gewebe (Heßelmann et al. 2017). Die zum Teil fehlenden klaren Grenzen zwischen neoplastischem und funktionellem Gewebe sowie die Unterschiede in der 5-ALA-Aufnahmeaktivität, abhängig von den Tumoreigenschaften, stellen eine Limitation dar (Jenkinson et al. 2018).

Die *intraoperative Kernspintomographie (ioMRT)* ermöglicht eine Echtzeit-Bildgebung während der Tumorresektion. Dadurch bietet sie eine Optimierung in der Erkennung von Tumorrestgewebe und dessen Resektion (Heßelmann et al. 2017). Studien zeigen, dass allein durch die ioMRT die Bruttotumorresektion von 68% auf 96% im Vergleich zur einfachen Mikrochirurgie erhöht werden konnte (Senft et al. 2011). Eine verbesserte Abgrenzung von neoplastischen zum gesunden Gehirngewebe wird weiterhin mithilfe einer Kombination aus 5-ALA und ioMRT signifikant verbessert, was wiederum ein höheres Resektionsausmaß ermöglicht (Coburger et al. 2014; Coburger et al. 2015).

Eine weitere Alternative bietet der *Ultraschall*, welcher durch Detektion der Reflexion von Ultraschallwellen von 20 Megahertz (MHz) eine intraoperative Darstellung von Neoplasien ermöglicht (Jenkinson et al. 2018). Durch manuelle Bewegung des Schallkopfes kann so während der Operation ein aktuelles dreidimensionales (3D)-Bild erzeugt und das Tumolvolumen so rekonstruiert werden, wodurch eine Neuronavigation auf 1,4 mm genau erfolgen kann (Jenkinson et al. 2018).

Trotz all dieser Bemühungen ist eine vollständige Resektion oft aufgrund der Nähe des Tumorgewebes zu funktionellem Gewebe und daraus resultierenden möglichen neurologischen Defiziten nicht oder nur eingeschränkt durchführbar (Chaichana et al. 2014; Jenkinson et al. 2018). Eine große Hilfe ist insbesondere für die Resektion von Tumoren in der Nähe eloquenter Areale das intraoperative Neuromonitoring, wodurch radikale Resektionen in unmittelbarer Nähe zu motorischen Arealen wie der Pyramidenbahn oder dem primären motorischen Kortex mit gutem Risikoprofil möglich sind (Schupper et al. 2021)

Darüber hinaus belegen neuere Studien einen fehlenden Zusammenhang zwischen einer vollständigen Tumorresektion und einem Gesamtüberleben bei Oligodendrogliomen, im Gegensatz zum positiven Einfluss bei Astrozytomen und Glioblastomen. Die Autoren dieser Studie führen dieses Phänomen auf die erhöhte Chemosensibilität dieser Subgruppe zurück (Alattar et al. 2018).

1.3.5.2 Radiochemotherapie

Die meisten Tumorrezidive bei Patient:innen mit GBM treten in unmittelbarer Nähe zur Primärlokalisation der Neoplasie auf (Gaspar et al. 1992; Choucair et al. 1986; Hochberg und Pruitt 1980). Im Anschluss an die chirurgische Resektion hat sich daher die Radiotherapie etabliert.

Seit 2005 erfolgt diese standardmäßig als kombinierte Radiochemotherapie nach dem sogenannten Stupp-Schema. Die 2005 veröffentlichte klinische Studie konnte ein längeres Gesamtüberleben durch diese Kombinationstherapie demonstrieren (Stupp et al. 2005; McTyre et al. 2018). Parallel zur Bestrahlung mit 60 Gy (2 Gy/Tag für 5 Tage/Woche für insgesamt 6 Wochen) erhalten die

Patient:innen das alkylierende Zytostatikum Temozolomid (TMZ) in einer Dosis von täglich 75 mg/m² Körperoberfläche (KOF) für die gesamte Dauer der Radiotherapie und einer weiteren anschließenden sechsmonatigen Erhaltungstherapie über 6 Zyklen mit einer Dosierung von 150-200 mg/m² KOF für fünf Tage zu Beginn jedes 28 Tage dauernden Zyklus (Stupp et al. 2005; Barani und Larson 2015). Alkylierende Substanzen wie TMZ sind hochreaktive Moleküle, welche durch Ausbildung von Quervernetzungen zwischen Doppelsträngen der Desoxyribonucleinsäure (DNA) proliferierende Zellen schädigen. Das Reparaturprotein O⁶-Methylguanin-DNA-Methyltransferase (MGMT) verhindert dagegen diese Vernetzungen (Esteller et al. 2000) durch rasche Umkehrung der Alkylierung an der O⁶-Position des Guanins (Ludlum 1990; Pegg et al. 1995). Insbesondere Patient:innen, bei welchen ein methylierter MGMT-Promoter (MGMT+) vorliegt, zeigen ein besseres Ansprechen auf TMZ (Stupp et al. 2009; Hegi et al. 2005).

Dem gegenübergestellt unterscheidet sich das Behandlungskonzept des AA. Obwohl mehrere Studien in der Vergangenheit keinen deutlichen Nutzen durch Hinzunahme einer Chemotherapie mit TMZ feststellen konnten, zählt diese bis heute, in Ergänzung zur chirurgischen Resektion und Feldbestrahlung, zur Standardtherapie des AA.

In einer aktuellen Studie konnte nun ein neuer Therapiestandard des AA unter Berücksichtigung der molekularen Tumoreigenschaften definiert werden. Diese zeigt einen signifikanten Vorteil einer adjuvanten, aus 12 Zyklen bestehenden, Chemotherapie mit TMZ für Patient:innen mit AA und vorliegender IDH-Mutation hinsichtlich des Gesamtüberlebens sowie des progressionsfreien Intervalls. Erkrankte mit AA und IDH-Wildtyp dagegen profitierten weder von einer zur Bestrahlung gleichzeitig durchgeführten noch von einer adjuvanten TMZ-Gabe (van den Bent, Martin J. et al. 2021). So beschreiben Grimm & Chamberlain in ihrer Studie weiterhin die bestmögliche Therapie des anaplastischen Astrozytoms WHO III mit IDH-Wildtyp, C-GIMP sowie unmethyliertem MGMT-Promoter (MGMT-) in einer alleinigen Radiotherapie. Bei MGMT+ hingegen wird eine Therapie mit TMZ oder der Polychemotherapie Procarbazin, Lomustin, Vincristin (PCV) angestrebt (Grimm und Chamberlain 2016; Batchelor 2017).

Eine weitere Besonderheit stellt die Behandlung der Oligodendrogliome im Vergleich zu Tumoren astrozytären Ursprungs aufgrund ihrer hohen Chemosensitivität dar (Galanis und Buckner 2000; Cairncross und Macdonald 1988; Khan et al. 2014). Im Gegensatz zu dem bei Astrozytomen bevorzugtem alkylierenden Zytostatikum TMZ hat sich bei Oligodendrogliomen eine Kombination aus Procarbazin, CCNU (Lomustin) und Vincristin (PCV) als Therapiestandard etabliert (Taal et al. 2015; Grimm und Chamberlain 2016). Die Hinzunahme von PCV über 6 Zyklen nach erfolgter Radiotherapie hat nicht nur einen positiven Einfluss auf das progressionsfreie Intervall, sondern auch auf das Gesamtüberleben der Patient:innen mit einem AO (van den Bent, Martin J. et al. 2013).

1.3.5.3 Weitere Therapieansätze

In den letzten Jahren wurden viele neue Erkenntnisse über die Biologie sowie molekularen Untergruppen von Gliomen gewonnen, was sich in den Anpassungen der WHO-Klassifikation von 2016 widerspiegelt. Insbesondere beim GBM haben sich trotz diverser klinischer Studien seither keine neuen Therapieformen etablieren können. Es sollen jedoch hier einige erwähnenswerte Ansätze aufgeführt werden.

Tumortheraiefelder

Als Endstrecke aller proliferierenden Zellen steht die Mitose, welche von der Funktion der Mikrotubuli abhängig ist. Durch Applikation von alternierenden elektrischen Feldern kann die Formation der Mikrotubuli und somit der Vorgang der Mitose gestört werden. Dies führte zur Entwicklung der sogenannten Tumortheraiefeldern (TTF) (Zhu und Zhu 2017). Ein therapeutischer Benefit konnte in einer prospektiven Studie gezeigt werden (Stupp et al. 2015). Durch das Anbringen von alternierenden elektrischen Feldern mit geringer Intensität und mittlerer Frequenz von 200 Kilohertz (kHz) mittels eines Energieumwandlers auf der Kopfhaut der Patient:innen kann so nach erfolgter Radiochemotherapie das Wachstum von Tumorzellen in den Randbereichen beeinflusst werden (Stupp et al. 2017; Swanson et al. 2016). In einer Studie mit an GBM erkrankten Patient:innen konnte gezeigt werden, dass nach vollständig erhaltener Standardtherapie und anschließender Behandlung mit TTF ergänzend zur

Erhaltungstherapie mit TMZ ein signifikant längeres progressionsfreies Intervall und Gesamtüberleben im Vergleich zur einfachen Standardtherapie zur Folge hat (Stupp et al. 2015). Das Therapiekonzept konnte sich jedoch bisher nicht als Ergänzung zur Standardtherapie durchsetzen.

Antiangiogenetische Therapie

Insbesondere das GBM ist häufig charakterisiert durch ein exzessives Wachstum von pathologischen Blutgefäßen (Winkler et al. 2018). Bereits vor über 25 Jahren wurde der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF) als angiogenetischer Indikator von Tumorwachstum identifiziert (Plate et al. 1992). Dieser wurde als Angriffspunkt einer antiangiogenetischen Therapie bei der Behandlung von GBM mit dem Antikörper Bevacizumab (BVC) untersucht (Winkler et al. 2018). Eine Zulassung für das GBM gibt es allerdings bisher lediglich in den USA (Schijns et al. 2018). Hierbei handelt es sich um einen humanisierten monoklonalen Antikörper, welcher den von den Tumorzellen produzierten Faktor VEGF bindet und somit wiederum dessen Bindung an die Endothelzellen der Blutgefäße in der Umgebung verhindert. In der klinischen Praxis erhalten Patient:innen BVC alle zwei Wochen in einer Dosierung von 10 mg/kgKG. Neuere Studien zeigen jedoch, dass eine geringere Dosierung die Bevacizumab-korrelierte Toxizität verringert, ohne dabei die positiven klinischen Auswirkungen zu beeinträchtigen (Ajlan et al. 2017). Im Durchschnitt verlängert sich das progressionsfreie Intervall unter Behandlung von Radiochemotherapie und BVC um 4,4 Monate bei Patient:innen mit neu diagnostiziertem GBM (Chinot et al. 2014). Die Behandlung der Betroffenen mit BVC könnte vor allem durch ihre vorteilhafte Wirkung auf durch Radio nekrose bedingte Ödeme und neurologische Dysfunktionen von Bedeutung sein (Levin et al. 2011). Allerdings hat sich mit zunehmender klinischer Erfahrung mit Bevacizumab und kontrollierten Studien ergeben, dass es sich hauptsächlich um einen Effekt auf die Schrankenstörung und das damit verbundene vasogene Ödem handelte und kein positiver prognostischer Einfluss auf das Gesamtüberleben erreicht werden konnte (Kim et al. 2018; Cloughesy et al. 2019; Gilbert et al. 2014).

Immuntherapie

In der Behandlung einer Vielzahl von Krebsarten hat sich die Immuntherapie als Therapiekonzept etabliert. Hirntumore stellen diesbezüglich eine Besonderheit aufgrund der für viele Stoffe undurchlässigen Blut-Hirn-Schranke dar. Klinische Studien untersuchten dabei die Anwendung einer Immuntherapie beim GBM unter anderem durch Einleitung einer Apoptose durch Stimulierung zytotoxischer T-Zell-Reaktionen durch Anreicherung immunsuppressiver Zellen (regulatorische T-Zellen) sowie durch Manipulation und Veränderung der immunsuppressiven Umgebung im GBM (Wainwright et al. 2012). Neue Studien beschreiben weiterhin eine mögliche therapeutische Immunisierung gegen tumorassoziierte Antigene von Krebszellen, welche durch Anregung des körpereigenen Immunsystems erkannt werden und folglich eine Immunantwort mit resultierendem Untergang der entarteten Zelle herbeiführen, ohne dabei normale Zellen zu schädigen (Schijns et al. 2018). Bei tumorassoziierten Antigenen handelt es sich um Peptide, welche sich an den Oberflächen von Krebszellen befinden und typischerweise im umgebenden normalen Gewebe nicht vorhanden sind (Brown et al. 2018). Dadurch kann eine spezifische Behandlung ermöglicht werden. So stellt die Immuntherapie in der Behandlung hirneigener Tumore zwar ein vielversprechenden, jedoch auch komplexer Ansatz aufgrund der immunsuppressiven Wirkung der gegenwärtigen Standardtherapie, dar. Eine Kombination aus verschiedenen Checkpoint-Inhibitoren u.a. zur Umkehrung der lokalen Immunsuppression des Tumorgewebes werden derzeit weiter untersucht und könnten eine aussichtsreiche Therapieoption in Zukunft darstellen (Lim et al. 2018).

1.3.6 Prognose

Unter den Tumoren der primären HGG gibt es hinsichtlich deren Prognosen deutliche Unterschiede. Allen gemeinsam dient der auf Karnofsky et al. zurückgehende Karnofsky-Index (KPS) als etablierter prognostischer Faktor, nicht zuletzt hinsichtlich der Therapieentscheidung. Anhand einer Skala von 0-100% beurteilt der KPS die Einschränkungen durch krankheitsbezogene Faktoren und Symptome hinsichtlich der Teilhabe am aktiven Leben sowie der Unabhängigkeit von

unterstützender Hilfe und Pflege des betroffenen Individuums (Karnofsky et al. 1948). Einen Prozentwert von 100 erhalten dabei diejenigen Patient:innen, welche bei Diagnosestellung keinerlei Beschwerden oder Krankheitszeichen aufweisen, während der Prozentrang von 0 mit dem Tod des Erkrankten gleichgestellt wird. Dazwischen wird der funktionelle Status von 100% abnehmend in 10%-Schritten bewertet (Tabelle 3). In Anlehnung daran erhalten Patient:innen mit niedrigem KPS zumeist eine individuelle Therapie. Dabei liegt der Cut-Off Wert bei 70% und wird folglich auch für diverse Studien verwendet (Stupp et al. 2005; Sacko et al. 2015). Weiterhin ist ein Zusammenhang zwischen einem niedrigen KPS und einer kürzeren Gesamtüberlebenszeit (OS, englisch: overall survival) sowie einem eingeschränkten funktionellen Zustand nach Erhalt einer chirurgischen Resektion und Radiotherapie bekannt (Marina et al. 2011), was den Stellenwert des KPS bei Therapieentscheidungen verdeutlicht.

Tabelle 3: **KPS-Skala**. In 10%-Schritten wird von 100% abnehmend der funktionelle Status der Erkrankten angegeben (Karnofsky et al. 1948).

%	Kriterien
100	normal; keine Beschwerden; Krankheitsanzeichen
90	fähig, die normale Aktivität fortzuführen, kleinere Krankheitsanzeichen- oder Symptome.
80	normale Aktivität unter Anstrengung; einige Krankheitsanzeichen- oder Symptome.
70	kümmert sich um sich selbst; unfähig die normale Aktivität fortzuführen oder aktive Arbeit zu leisten.
60	benötigt gelegentliche Unterstützung, aber kümmert sich um die meisten seiner Bedürfnisse.
50	benötigt erhebliche Hilfe und eine häufige medizinische Versorgung.
40	behindert; benötigt besondere Betreuung und Unterstützung.
30	Schwerbehindert; ein Krankenhausaufenthalt ist indiziert, obwohl der Tod nicht unmittelbar bevorsteht.
20	sehr krank; Krankenhausaufenthalt notwendig; aktive unterstützende Behandlung notwendig.
10	moribund; tödliche Prozesse schreiten schnell voran.
0	Tod

Im Folgenden werden die prognostischen Charakteristika der Entitäten differenziert voneinander beschrieben.

1.3.6.1 *Glioblastoma multiforme*

Trotz der Standardbehandlung aus Operation, Bestrahlung und Chemotherapie erkranken praktisch alle Patient:innen mit GBM an einem Rezidivtumor (Schijns et al. 2018). Das OS von lediglich 14 bis 16 Monaten nach Erhalt der Diagnose und nach kombinierter Standardbehandlung nach Stupp (Stupp et al. 2005; Stupp et al. 2017) unterstreicht die Aggressivität dieser Tumorentität. Unbehandelt verläuft die Erkrankung zumeist aufgrund zerebraler Ödeme und einem erhöhten Hirndruck durchschnittlich bereits nach drei Monaten tödlich (Schijns et al. 2018). Die 5-Jahres-Überlebenszeit erreichen dabei weniger als 5% der Betroffenen (Ostrom et al. 2014). Dennoch unterscheidet sich das OS zwischen den Patient:innen, was auf variable Risikofaktoren zurückzuführen ist. Zu den wichtigsten prognostischen Faktoren für ein besseres Gesamtüberleben gehören das Alter, der KPS, der Grad der Nekrose sowie das Resektionsausmaß des Tumors (Brandes, 2003; Lacroix et al., 2001; Reardon & Wen, 2006; Sandberg-Wollheim et al., 1991). Einen signifikant höheren Überlebensvorteil kann hierbei mit einer Resektion von über 98% des Tumors erreicht werden (Lacroix et al. 2001; Adamson et al. 2009). Ein aktueller Ansatz berücksichtigt die volumetrische Menge der residualen Schrankenstörung. Hierbei wurden signifikante prognostische Grenzbereiche bei 1 und 5 cm³ Kontrastmittel-aufnehmenden Resttumor etabliert (Karschnia et al. 2022). Überdies wird einem hohen Wert im Mini-Mental-Satus-Test (MMST) (Adamson et al. 2009), als auch dem Vorliegen eines einseitigen Tumors bei Langzeitüberlebenden (Gately et al. 2018) eine prognostische Relevanz nachgesagt. Auch im Bereich der Geschlechterverteilung können Unterschiede beobachtet werden. Studien belegen hierbei eine bessere Prognose für das weibliche Geschlecht, welche unabhängig von anderen weiteren prognostischen Faktoren, eine komplette Standardtherapie erhielten (Ostrom et al. 2018; Ostrom et al. 2021). Nicht zuletzt kann durch die Wahl der adjuvanten Therapie Einfluss auf die Prognose der Patient:innen genommen werden (prädiktive Faktoren). Eine Studie hat gezeigt, dass die durchschnittliche Lebenserwartung bei

Patient:innen, welche nach erfolgter Tumorresektion und Chemotherapie mit TMZ eine Behandlung mit TTF erhielten, auf 20,9 Monaten verbessert werden konnte (Stupp et al. 2017). Die Ergebnisse dieser klinischen Studie werden insgesamt recht skeptisch gesehen, sodass sich die Anwendung von TTF bisher nicht als Standardtherapie durchsetzen konnte (Mehta et al. 2017). Weiterhin gibt es etablierte prognostische klinische und molekulare Faktoren, welche eine Aussage über den zu erwartenden Krankheitsverlauf ermöglichen. So zeigt sich beispielsweise, dass MGMT+ und demzufolge eine beeinträchtigte DNA-Reparatur mit einem besseren Ansprechen des Tumors auf eine Therapie mit alkylierenden Substanzen, wie TMZ korreliert (Hegi et al. 2004), wodurch in den meisten Fällen eine höhere Lebenserwartung der Patient:innen zu beobachten ist. Sekundäre GBM, nach Definition durch eine IDH-Mutation abgegrenzt, werden ebenfalls mit einem längeren OS in Verbindung gebracht (Ohgaki und Kleihues 2013).

1.3.6.2 Anaplastisches Astrozytom

Im Gegensatz zum GBM zeichnet sich das AA mit einer etwas besseren, aber dennoch ebenfalls recht schlechten Prognose aus. Das OS der Patient:innen mit AA beträgt nach Diagnosestellung und konventioneller Therapie etwa drei Jahre (Wen und Kesari 2008; Ostrom et al. 2014), wobei sich die 5-Jahre-Überlebenszeit auf lediglich 28% beläuft (Ostrom et al. 2014; Prados et al. 1992) und weiterhin abhängig von der molekularen Tumorphathologie variiert. Wichtige prognostische Faktoren beziehen sich auch bei dieser Tumorentität auf das Patientenalter, den klinischen Status, die Symptombdauer sowie das Ausmaß der Tumorresektion und Bestrahlungsdosis (Curran et al. 1993; Kizilbash et al. 2014). Eine bessere Prognose für Betroffene jüngeren Alters belegt u.a. Tortosa et al. mit einem zweifach längerem OS für Patient:innen <49 Jahren im Vergleich zu denjenigen >49 Jahren (Tortosa et al. 2003). Die Einflussnahme der Behandlungsstrategie auf die Prognose der AA konnte zudem durch eine gleichzeitige, zur adjuvanten Strahlentherapie, erfolgenden Chemotherapie durch ein verbessertes Überleben aufgezeigt werden (Kizilbash et al. 2014). Kizilbash et al. beschreiben diesen Zusammenhang in einem Überlebensvorteil der Betroffenen von 53,1 zu 31,4 Monaten mit einem retrospektiven 5-Jahres-Überleben von 46,2% zu 29,3%

(Kizilbash et al. 2014). Auf molekularer Ebene konnte eine Assoziation zwischen vorliegender IDH-Mutation in AA und einer günstigen Prognose festgestellt werden (Kizilbash et al. 2014). Hingegen zeigen AA ohne eine IDH-Mutation eine deutlich schlechtere Prognose, die dem GBM ähnelt. Entsprechend wurde die Empfehlung abgegeben, trotz fehlender histopathologischer Merkmale eines GBM, bei fehlender IDH-Mutation die Diagnose eines GBM zu präferieren (Gonzalez Castro und Wesseling 2021). Dies wurde schließlich in der neuen WHO-Klassifikation umgesetzt (Louis et al. 2021).

1.3.6.3 Anaplastisches Oligodendrogliom

Das AO zeichnet sich, unter allen HGG, durch die beste Prognose mit einem OS von 56 Monaten und einer 5-Jahres-Überlebenszeit von über 50,2% aus (Liu et al. 2019). Auch bei dieser Tumorentität ist das Alter der Patient:innen bei Diagnosestellung entscheidend für deren Prognose (Schiffer et al. 1997; Liu et al. 2019). Neben der chirurgischen Tumoresektion als wichtigste Behandlungsstrategie (Liu et al. 2019; Khan et al. 2014), kommt der anschließenden Chemotherapie eine besondere Bedeutung zu. Aufgrund der hohen Sensibilität der AO gegenüber einer Chemotherapie, lässt sich die im Vergleich zu anderen Entitäten bessere Prognose der Erkrankten erklären (Buckner 2003; Taal et al. 2015; Cairncross und Jenkins 2008). Shin und Diaz beschreiben die adjuvante Chemotherapie in der Behandlung von AO als unabhängigen prognostischen Faktor mit einem signifikant besseren 5-Jahres-Überleben der Patient:innen von 65% im Vergleich zu einer adjuvanten Radiotherapie ohne Chemotherapie mit 44,9% (Shin und Diaz 2016). Die Kombination bestehend aus einer sequentiellen Chemotherapie mit PCV und Bestrahlung hat sich in einer randomisierten Studie als besonders wirksam erwiesen und stellt aktuell den Behandlungsstandard dar (van den Bent, Martin J. et al. 2013). Liu et al. identifizieren zudem in einer weiteren Studie eine schlechtere Prognose zum einen für Betroffene mit unverheiratetem Beziehungsstatus und zum anderen bei Vorliegen anderen maligner Komorbiditäten in Verbindung mit einem AO (Liu et al. 2019).

1.4 Prognostische Marker

1.4.1 H3K27me3

Als möglicher Einflussfaktor der Tumorgenese wird derzeit zunehmend der Verlust der H3K27-Trimethylierung (H3K27me3), einem wichtigen Faktor in der Genexpression und Zelldifferenzierung (Nichol et al. 2016), diskutiert. Hierbei kommt es mutationsbedingt zum Verlust der Aminosäure Lysin an der Stelle 27 des Histons 3 und folglich zu einem Austausch gegen die Aminosäure Methionin (H3K27M). H3K27M geht weiterhin eine Wechselwirkung mit einer Untereinheit des Polycomb-repressiven Komplex 2 (PRC2), einem Proteinkomplex im Zellkern, ein. Im nicht-mutierten Zustand katalysiert dieser mithilfe einer seiner Untereinheiten und deren Methyltransferase-Aktivität eine Histonmodifikation, wie z.B. H3K27me3 (Jiao und Liu 2015, 2016). Im trimethylierten Zustand des Histons kommt es zu einer Transkriptions- und Genexpressionsunterdrückung. Die beschriebene Mutation resultiert in einer gestörten Interaktion mit PRC2, welche weitergehend eine ausbleibende Trimethylierung von H3K27 aufgrund einer Transkriptionshemmung seiner Methyltransferase-Aktivität zur Folge hat (Filipski et al. 2019; Czermin et al. 2002; Margueron und Reinberg 2011; Müller et al. 2002). Eine Studie von Court et al. unterstreicht die Tatsache, dass eine fehlerhafte H3K27me3-Dynamik die Hauptursache für eine fehlerhafte Transkription in Gliomzellen ist (Court et al. 2019).

In Abbildung 4 ist der PRC2 und seine Rolle auf den Gensignalweg dargestellt. Vollständigkeitshalber werden zudem die Untereinheiten des PRC2 aufgeführt, auf welche allerdings aufgrund der Übersichtlichkeit und deren untergeordneten Rolle hinsichtlich der Untersuchungen dieser Arbeit nicht weiter eingegangen wird.

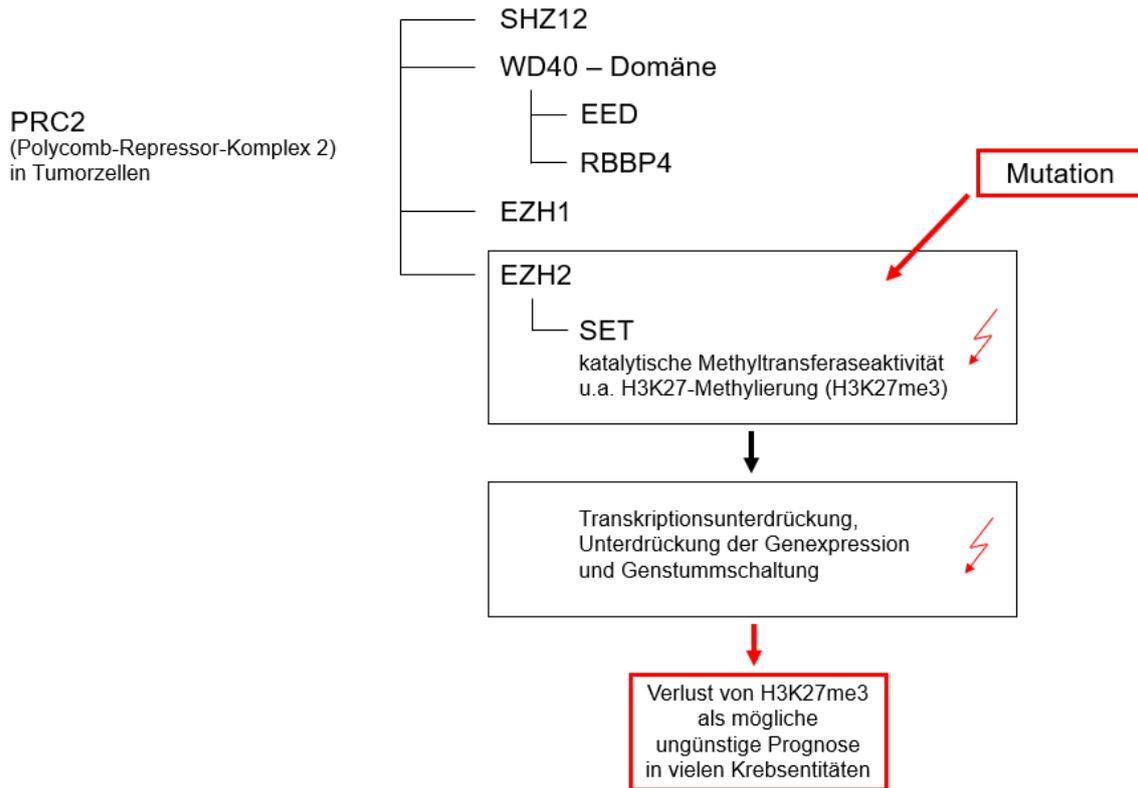


Abbildung 4: **Auswirkungen von Mutationen auf H3K27me3 und die Tumorgenese.** Dargestellt ist der PRC2 und seine Auswirkungen auf den Gensignalweg. Rot dargestellt ist die fehlerhafte Signalweiterleitung und deren mögliche Auswirkung in mutierten Tumorzellen wie z.B. H3K27M (modifiziert nach Filipski et al. 2019; Czermin et al. 2002; Margueron und Reinberg 2011; Müller et al. 2002).

Die veränderte epigenetische Regulation und Histonmodifikation H3K27M wurde zu einem relevanten Faktor für Malignitäten (Berdasco und Esteller 2013). Ein gestörtes Gleichgewicht hierin wird auf die Pathogenese verschiedener Krebsarten zurückgeführt (Nichol et al. 2016). So wurden bereits einige Tumorentitäten des ZNS dahingehend untersucht, wobei differierende prognostische Zusammenhänge hinsichtlich vorliegender H3K27M auffielen.

In diffusen intrinsischen pontinen Gliomen (DIPG), einer Gliomvariante mit besonders schlechter Prognose, wurden bei Patient:innen mit H3K27M ein schlechteres Ansprechen und mehr metastatische Rezidive beobachtet (Castel et al. 2015) und somit der Verlust von H3K27me3 als ein prognostisch ungünstiger Faktor identifiziert (Chan et al. 2013, Castel et al. 2015). Selbes wurde auch bei Ependymomen (Panwalkar et al. 2017) und Meningeomen WHO-Grad 1 und 2

(Nassiri et al. 2021; Katz et al. 2018) sowie anaplastischen Meningeomen WHO-Grad 3 untersucht, wobei bei letzteren ein kürzeres OS, nicht aber ein kürzeres progressionsfreies Intervall (PFS, englisch: progression free survival) festgestellt werden konnte (Gauchotte et al. 2020). Im Gegensatz dazu wurde innerhalb eines Patientenkollektivs mit diffusen Gliomen eine fehlende Expression im Vergleich zur H3K27me₃-Retention mit einer signifikant besseren Prognose in Verbindung gebracht (Filipski et al. 2019).

Weiterhin scheint das Vorliegen von H3K27M in ihrer Häufigkeit abhängig einer astrozytären oder oligodendroglialen Tumorentität zu sein. Aktuelle Studien beschreiben diesbezüglich einen Zusammenhang zwischen einem weitestgehenden Verlust von H3K27me₃ und Oligodendrogliomen mit IDH-Mutation und 1p/19q-Deletion, wohingegen Astrozytome mit IDH-Mutation und GBM mit IDH-Wildtyp mit einer H3K27me₃-Retention auffielen (Filipski et al. 2019; Pekmezci et al. 2020; Feller et al. 2020). Zudem wurden Mutationen mit H3K27me₃-Verlust insbesondere bei Kindern und jungen Erwachsenen beobachtet (Meyronet et al. 2017).

Aufgrund der Bedeutung dieser epigenetischen Mutation in zahlreichen Tumorentitäten erlangt die spezifische H3K27me₃ gerichtete Therapie von zunehmender Relevanz. Zahlreiche Therapieansätze wurden dabei bisher auf die katalytische Untereinheit EZH2 des PRC2 gerichtet, welche durch ihren Einfluss auf das Histon 3 an Stelle 27 die Expression zahlreicher Zielgene beeinflusst und somit eine wichtige Rolle in der Zellproliferation, Apoptose und Seneszenz spielt (Yu et al. 2019; Hashizume et al. 2014; Mohammad et al. 2017; Duan et al. 2020). Einen ersten Therapieansatz hierfür beschrieb Glazer 1986 mit dem Medikament Deazaneplanocin A (Glazer et al. 1986), anhand dessen eine antitumorale Aktivität durch indirekte unspezifische Hemmung der katalytischen Untereinheit EZH2 des PRC2 beobachtet werden konnte (Tan et al. 2007; Deb et al. 2014). Weitere Therapieansätze zielten auf eine spezifische kompetitive Hemmung von EZH2 ab. Repräsentativ hierfür ist das Medikament Tazemetostat, welches ein vielversprechendes Therapeutikum für Patient:innen mit metastasiertem oder lokal fortgeschrittenem epitheloiden Sarkom oder rezidivierendem follikulärem

Lymphom darstellt (Duan et al. 2020). Weitere Therapieansätze zielen dagegen auf das Aufbrechen der Struktur von PRC2 ab, um dadurch die Protein-Protein-Wechselwirkungen der Untereinheiten zu verhindern. Unter anderem konnte dabei SAH-EZH2 als Peptid identifiziert werden, welches durch Hemmung der Interaktion der beiden Untereinheiten EZH2 und EED eine erhöhte H3K27me3-Konzentration sowie ein Wachstumsstopp und Differenzierung von Leukämiezellen zur Folge hatte (Kim et al. 2013). Dagegen konnte die AMP-aktivierte Proteinkinase (AMPK) durch Unterbrechung der Wechselwirkung der EZH2 und SHZ12-Untereinheiten mit einer erhöhten H3K27me3-Konzentration in Eierstock- und Brustkrebszellen in Verbindung gebracht werden (Wan et al. 2018). Darüber hinaus wurden weitere medikamentöse Angriffspunkte in der EZH2-Unterdrückung durch Auslösen des EZH2-Abbaus untersucht.

Zusammenfassend hat sich die Trimethylierung des Histons 3 an Stelle 27 zu einem vielversprechenden Marker hinsichtlich der Diagnose und Prognose zahlreicher Tumore entwickelt, wohingegen eine zielgerichtete Therapie weiterhin Thema aktueller Forschungen ist. Zwar gibt es zwischenzeitlich Annahmen über die Häufigkeit des Vorliegens einer H3K27M in Abhängigkeit primärer hochgradiger zerebraler Tumorentitäten (Filipski et al. 2019), für eine eindeutige Aussage über deren prognostische Relevanz gibt es derzeit allerdings noch zu wenige Studien eines großen Patientenkollektivs. Des Weiteren wurden mögliche Therapieoptionen bezüglich H3K27me3 in diesen Tumorentitäten noch nicht untersucht, sodass es bislang noch keine hierfür zielgerichtete zugelassene Therapie in Deutschland gibt. Die nach wie vor sehr schlechte Prognose von Patient:innen mit primären HGG bei gleichzeitigem Wissen der malignitätsbezogenen Rolle von H3K27me3 machen also weitere wissenschaftliche Untersuchungen notwendig.

1.4.2 H3K36me3

Der Histonmodifikation H3K36me3 wird häufig ein Zusammenhang mit wichtigen zellulären Prozessen, wie z.B. der Aktivierung der Transkription (Sun et al. 2020), die Regulierung der Genexpression und die Reparatur von DNA-Schäden,

nachgesagt (Xiao et al. 2021; Duns et al. 2010; Sun et al. 2020). Das SET-Domäne 2 (SETD2)-Gen codiert dabei mit SETD2 das einzige bekannte Enzym, welches durch seine katalytische Untereinheit als Methyltransferase (Sun et al. 2020) für die Trimethylierung von H3K36 verantwortlich ist (Dalgliesh et al. 2010; Li et al. 2016; Simon et al. 2014; Viaene et al. 2018). Die daraus resultierende Histonmodifikation H3K36me3 hingegen bindet an das Chromatin, welches dadurch seine Funktion zu dem Erhalt des Genoms nachgehen kann. Eine Mutation in SETD2 oder im Histon führt folglich zu einer gestörten „DNA-mismatch repair“ (MMR) und kann damit zur Tumorentstehung beitragen (Fang et al. 2018).

Die biologische Funktion von H3K36me3 begründet dessen zentrale Rolle bei der Krebsentstehung und -progression (La Rosa et al. 2015; Xiao et al. 2021; Dalgliesh et al. 2010; Li et al. 2016). Verschiedene Studien beschreiben diesen Zusammenhang in aggressiven Krebsarten, wie beispielsweise im klarzelligen Nierenzellkarzinom (Carvalho et al. 2014), der akuten myeloischen Leukämie (Mar et al. 2017) sowie in diffusen intrinsischen pontinen Gliomen (Fang et al. 2018). Dem H3K36me3-Verlust kann hierbei eine verminderte Expression oder Inaktivität des bereits erwähnten SETD2-Gens zugrunde liegen (Xiao et al. 2021). Dies belegt eine aktuelle Studie, in welcher die epigenetische Modifikation H3K36me3 in diffusen Kleinhirngliomen (DCG) untersucht wurde (Nomura et al. 2017). Nomura et al. beschreiben diesbezüglich anhand einer immunhistochemischen Auswertung eine Reduktion der H3K36me3-Expression durch eine SETD2-Mutation gegenüber SETD2-Wildtyp DCG, in welchen keine Verringerung beobachtet werden konnte (Nomura et al. 2017). Mittels Gensequenzierung konnten Fontebasso et al. weiterhin Veränderungen in SETD2 als spezifische Mutation für hochgradige Gliome identifizieren. Niedriggradige diffuse Gliome wiesen hingegen in dieser Untersuchung keine SETD2-Mutation auf (Viaene et al. 2018; Fontebasso et al. 2013)

Neben der Inaktivität von SETD2 wurde außerdem ein Zusammenhang zwischen einer direkten Mutation im H3-Protein mit nachfolgendem Austausch der Aminosäure Lysin an Stelle 36 gegen Methionin (H3K36M) und einer H3K36me3-

Reduktion beobachtet. Diese konnte z.B. in einer Studie bei Patient:innen mit Chondroblastom festgestellt werden (Behjati et al. 2013).

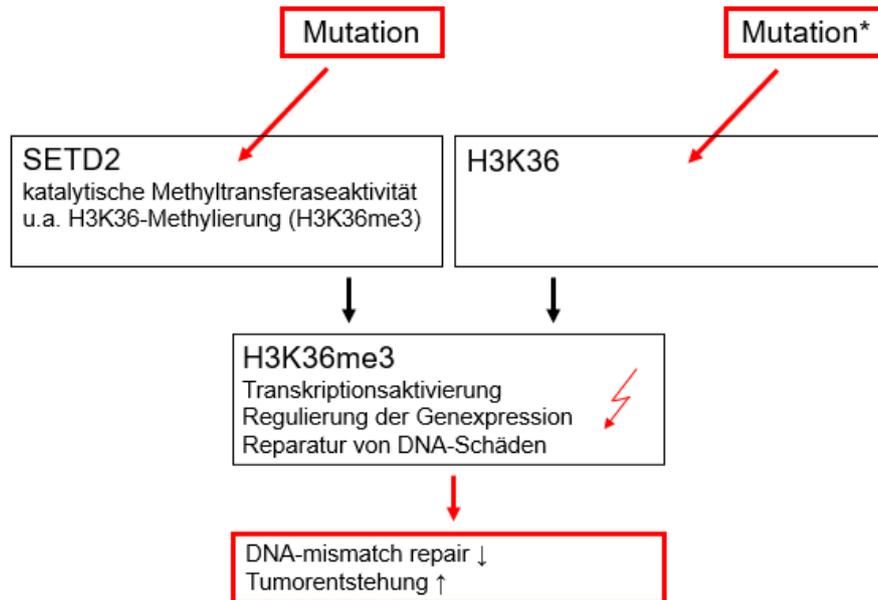


Abbildung 5: **Auswirkungen von Mutationen auf H3K36me3 und die Tumorgenese.** In Rot dargestellt sind die Angriffspunkte möglicher Mutationen und die damit verbundene fehlerhafte Signalweiterleitung mit deren möglichen Auswirkungen auf die Tumorgenese (modifiziert nach Dalgliesh et al., 2010; Li et al., 2016; Simon et al., 2014; Viaene et al., 2018, Fang et al. 2018).

Bisher konnte für ZNS-Tumore mit reduzierter H3K36me3 noch keine zielführende medikamentöse Therapie etabliert werden. Untersuchungen anderer Neoplasien zeigten in der Vergangenheit jedoch bereits interessante Ansätze. So konnte bei an Leukämie erkrankten Patient:innen mit SETD2-Mutation und demzufolge reduzierter H3K36me3 eine Resistenz gegenüber DNA-schädigende Chemotherapeutika (Cytarabin, 6-Thioguanin, Doxorubicin, Etoposid) festgestellt werden. Als mögliche Therapie lieferte die Behandlung mit dem H3K36me3-Demethylase-KDM4A-Inhibitor JIB-04 bisher einen erfolgsversprechenden Ansatz. Durch Hemmung der Demethylase kann die Reduktion von H3K36me3 verhindert und damit wie in dieser Studie die Empfindlichkeit gegenüber DNA-schädigender Chemotherapie (Cytarabin) wieder hergestellt werden (Mar et al. 2017).

Mit dem WEE1-Inhibitor AZD1775 ist außerdem ein weiterer Therapieansatz bereits in klinischer Erprobung. Bei WEE1 handelt es sich um eine für die

Regulation der Zellteilung wichtige Serin/Threonin-Kinase, durch dessen Hemmung ein Verlust der Genomintegrität hervorgerufen werden kann. So konnten SETD2-defiziente und H3K36M-Tumore durch den WEE1-Inhibitor AZD1775 gezielt bekämpft (Sharda und Humphrey 2022) und weiterhin in H3K36m3-reduzierten kleinzelligen Nierenkarzinomen eine Reduktion des Tumorwachstums erzielt werden (Sun et al. 2020).

Interessant ist im Übrigen die Korrelation zwischen H3K36me3 und H3K27me3. Klein et al. beschreiben diesbezüglich einen Zusammenhang zwischen einem H3K36me3-Verlust und der gleichzeitigen Zunahme von H3K27me3. Zurückzuführen ist dies wahrscheinlich auf Nukleosomensubstrate für den PRC2-Komplex, welcher die Methylierung von H3K27 katalysiert. Es ist anzunehmen, dass der PRC2 weiterhin den Methylierungsstatus von H3K36 erfasst, ohne jedoch hierauf eine katalytische Wirkung zu zeigen (Klein et al. 2018).

Zusammenfassend erfährt die epigenetische Mutation H3K36me3 aktuell an wachsender Aufmerksamkeit. Auch gibt es bereits Hinweise auf dessen Relevanz in Gliomen. In einer Studie von Lowe et al. konnte gezeigt werden, dass 15% der kortikalen HGG eine Mutation in SETD2 und weitere 18% eine Histonmodifikation aufweisen (Lowe et al. 2019). Beide beeinträchtigen die Expression von H3K36me3 und somit wichtige zelluläre Regulationsprozesse hinsichtlich der Tumorgenese. Dennoch wurde bisher noch keine größere Kohorte hinsichtlich H3K36me3 in HGG prognostisch untersucht, sodass weitere wissenschaftliche Untersuchungen notwendig sind.

1.5 Ziel der Arbeit

Trotz zahlreicher Bemühungen und spezifisch auf einzelne molekulare Marker und Tumorentitäten ausgelegte Behandlungsstrategien, ist die Prognose hochgradiger Gliome weiterhin schlecht.

Bisher wurden einige molekulare Marker in der Tumorgenese von primären hochgradigen Gliomen identifiziert und zum Teil bereits mit einem prognostischen

Wert für Patient:innen belegt. Auch für H3K27me3 und H3K36me3 bestehen bereits Annahmen über deren Rolle in der Tumorgenese.

Nach einer erst kürzlich durchgeführten Studie von Pekmezci et al. weisen 75% der Oligodendrogliome, aber lediglich 27% der IDH-mutierten Astrozytome (WHO II-IV) und 2,5% der IDH-Wildtyp Astrozytome einen kompletten Verlust von H3K27me3 auf (Pekmezci et al. 2020). Bei den IDH-mutierten hochgradigen astrozytären Glioblastomen weist der Großteil (81,8%) der Betroffenen eine H3K27me3-Retention auf (Filipski et al. 2019). Dennoch bleibt das Verhalten und der prognostische Wert auch derjenigen Patient:innen mit HGG und H3K27me3-Verlust von großem Interesse.

Weiterhin gewinnt die klinische Rolle einer anderen Histonveränderung, der Verlust von H3K36me3, in Tumoren des ZNS zunehmend an wissenschaftlichem Interesse. Fontebasso et al. beschreiben die SETD2-Mutation als spezifische Mutation mit resultierendem H3K36me3-Verlust in HGG mit einer Prävalenz von 8% bei Erwachsenen (Fontebasso et al. 2013). Allerdings ist auch hier der klinische Aspekt und insbesondere die Rolle hinsichtlich der Prognose von H3K36me3 in HGG noch wenig beschrieben.

Die vorliegende Arbeit zielt folglich darauf ab, die klinische und speziell prognostische Rolle der Veränderungen von H3K27 und H3K36 in hochgradigen Gliomen immunhistochemisch zu untersuchen. Dies erfolgte retrospektiv anhand einer vergleichenden Auswertung der Expressionsverteilung unter Berücksichtigung klinischer Daten der Patient:innen, um gegebenenfalls klinische oder gar prognostische Zusammenhänge abzuleiten.

1.6 Zusatz: Neue WHO-Klassifikation

Aufgrund des ständigen Fortschritts im Laufe der Fertigung meiner Arbeit und Anpassung der WHO-Klassifikation der ZNS-Tumore wird in diesem Teil speziell auf die Veränderungen eingegangen.

Die Erkenntnis molekularer Veränderungen als wichtige Faktoren zur Klassifikation von Gliomen findet sich nun in der aktuellen WHO-Klassifikation aus dem Jahr 2021 wieder (Louis et al. 2021). Eine entscheidende Rolle kommt dabei der IDH-Mutation zu, wonach Gliome im Falle eines gleichzeitigen Verlusts der nukleären ATRX als Astrozytome und andernfalls bei vorliegender 1p19q-Kodeletion als Oligodendrogliome gewertet werden. Demnach tauchen die Bezeichnungen „anaplastisches Astrozytom“ und „anaplastisches Oligodendrogliom“ in der aktuellen WHO-Klassifikation nicht mehr auf. Das GBM hingegen wird seither in Astrozytom IDH-mutiert WHO IV oder GBM IDH-Wildtyp unterteilt (Louis et al. 2021). Für diese Arbeit vor allem interessant ist die epigenetische Modifikation H3K27me3, deren Verlust der Kernexpression in der neuen Klassifikation zur Einstufung von Meningeomen mit potenziell schlechterer Prognose herangezogen wird (Louis et al. 2021).

Im Folgenden wurden alle untersuchten Fälle hinsichtlich der angepassten Kriterien erneut geprüft und gemäß der aktuellen WHO-Klassifikation den jeweiligen Entitäten entsprechend zugeordnet. Somit beziehen sich alle Ergebnisse sowie Schlussfolgerungen dieser Arbeit auf die derzeit aktuelle WHO-Klassifikation aus dem Jahr 2021. Der Einfachheit halber werden die Tumorentitäten fortan als GBM WHO IV (GBM IDH-Wildtyp WHO IV), Astrozytom WHO III (Astrozytom IDH-mutiert WHO III) und Oligodendrogliom WHO III (Oligodendrogliom IDH-mutiert und 1p19q-kodeletiert WHO III) bezeichnet.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patientenkollektiv

Die vorliegende Arbeit schließt Patient:innen ein, welche nach den Kriterien der WHO-Klassifikation (Louis et al. 2007) die Diagnose HGG erhielten. Berücksichtigt wurden dabei die Tumorentitäten Glioblastom WHO IV, Astrozytom WHO III und Oligodendrogliom WHO III. Insgesamt konnten anhand einer elektronischen Datenbankrecherche der Eberhard Karls Universität Tübingen 620 Patient:innen, welche zwischen dem 15.08.1992 und 17.11.2015 in der Universitätsklinik Tübingen diagnostiziert und behandelt wurden, identifiziert und in diese Studie inkludiert werden. Alle personenbezogenen Daten wurden pseudonymisiert in einer Excel-Tabelle zusammengetragen. Diese wurde mithilfe der Tumordatenbank sowie anhand Arzt- und Verlaufsberichten in Kooperation mit dem Department für Neurochirurgie und Neurotechnologie (PD Dr. med. Felix Behling) und der Abteilung für Neuropathologie (Prof. Dr. med. Jens Schittenhelm) der Eberhard Karls Universität Tübingen erstellt. Der Einschluss von Patient:innen in die retrospektive Analyse erfolgte nach den Vorgaben der zuständige Ethikkommission (Projektnummer: 705/2017BO2, 17.10.2017) und gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975.

2.2 Gewebeproben

Verwendet wurden in Formalin fixierte und in Paraffin eingebettete Gewebeproben der Abteilung für Neuropathologie der Eberhard Karls Universität Tübingen, welche intraoperativ im Rahmen einer Biopsie oder Tumorsektion im Department für Neurochirurgie und Neurotechnologie entnommen wurden. Berücksichtigt wurden hierbei folgende Ausschlusskriterien:

- Fehlende Einwilligung der Patient:innen zur Verwendung der Gewebeproben für wissenschaftliche Zwecke

- Keine histologischen diagnostischen Merkmale eines hochgradigen Glioms (s. Kapitel 1.3.4 Histologische und molekulare Merkmale)
- Tumorgewebeblock nicht auffindbar oder durch andere Projekte in Verwendung
- Tumorgewebeblock nicht geeignet (nach Beurteilung von Prof. Dr. med. Jens Schittenhelm, Abteilung für Neuropathologie der Eberhard Karls Universität Tübingen), z.B. aufgrund von Nekrosen, Einblutungen oder zu wenig Tumorrestgewebe zur Gewinnung der 1mm großen Stanzen für die Anfertigung der Tissue Microarrays (TMA)

Diese Kriterien wurden zum einen anhand einer elektronischen Datenbankrecherche, zum anderen durch eine mikroskopische Begutachtung bewertet. Repräsentative Areale wurden anschließend auf angefertigtem Hämatoxylin-Eosin (HE)-Schnitten der Gewebeblöcke für die Stanzenextraktion zur TMA-Herstellung markiert.

Unter Berücksichtigung der Ausschlusskriterien reduzierte sich die Anzahl auf 423 Fälle, welche schlussendlich in der Auswertung der Daten berücksichtigt wurden und somit immunhistochemisch gefärbt werden konnten (Abbildung 6).

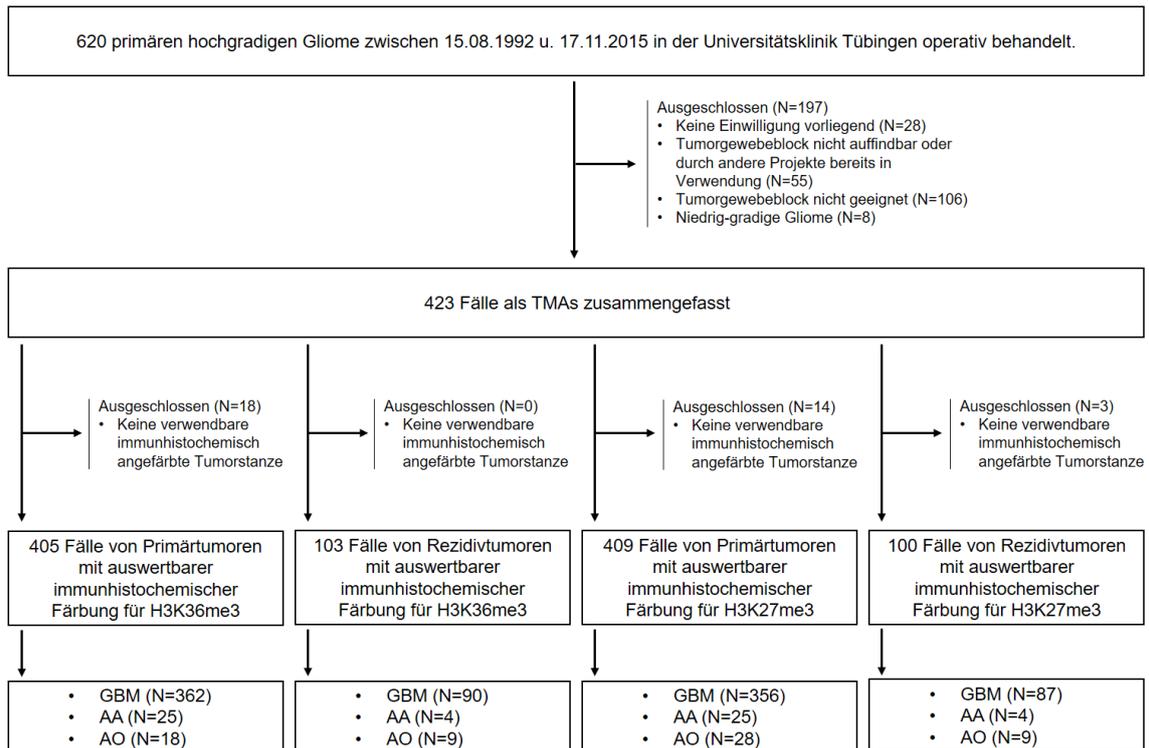


Abbildung 6: **Flowchart der Fallauswahl.** Aufgeführt sind die unter Berücksichtigung der Ausschlusskriterien für die immunhistochemische Auswertung für H3K36me3 und H3K27me3 ausgewählten Tumorproben.

2.3 Tissue Microarray

Die Methode des TMA wurde erstmals im Jahr 1998 durch J. Kononen beschrieben (Kononen et al. 1998). Hierbei handelt es sich um eine schachbrettartige Anordnung einer großen Anzahl unterschiedlicher Gewebeproben in einem einzigen Paraffinblock und anschließender Anfertigung von ca. 5µm dünnen Schnitten mithilfe eines Mikrotoms. Dadurch können bis zu 1000 Gewebeproben in einem einzelnen Paraffinblock zusammengefasst werden. Die Methode ermöglicht somit eine simultane und einheitliche Analyse bei geringem Verbrauch von Gewebe und Reagenzien. Durch immunhistochemische Färbungen können unterschiedliche Proteine angefärbt werden. Je nach Zielstruktur können somit Rückschlüsse auf molekulare Veränderungen gezogen werden (Behling und Schittenhelm 2018). Folglich stellt diese Methode eine praktische sowie effektive Technik in der Krebsforschung dar, um beispielsweise neue diagnostische und

prognostische Marker zu identifizieren (Behling und Schittenhelm 2018). Die entsprechende Anordnung und das dargestellte Vorgehen ermöglichen die zeitgleiche und vergleichende Analyse sowie beschleunigte Auswertung molekularer Veränderungen einer großen Anzahl unterschiedlicher Tumorproben unter Betrachtung klinisch-pathologischer Merkmale (Moch et al.,2001). Darüber hinaus können die angefertigten TMA-Schnitte für alle histologischen Färbungen, in situ Analysen, mRNA in situ Hybridization, Fluoreszenz in situ Hybridization, in situ Polymerase-Kettenreaktion (PCR), in situ Reverse Transkriptase (RT)-PCR sowie Immunhistochemie verwendet werden (Instruction Manual, Manual Tissue Arrayer MTA-1, Beecher Instruments, Inc.). In der vorliegenden Arbeit wurde die Methode der Immunhistochemie angewandt.

2.3.1 Herstellung der Empfängerblöcke

Zur Herstellung der Empfängerblöcke wurde Paraffin der Firma SAV Liquid Production Company¹ mit einer Schmelztemperatur von 56-58 Grad Celcius (C°) verwendet. Hierzu wurde das zuvor geschmolzene Paraffin in eine entsprechende Plastikform gegossen und mit einer Kassette abgedeckt. Nach Abkühlung des Komplexes konnte die Gussform anschließend abgenommen und die Überstände auf der Plastikkassette entfernt werden. Weiterhin wurde der entstandene Paraffinblock auf Einrisse, eingeschlossene Luftblasen sowie Löcher überprüft und außerdem auf eine glatte, zur Unterfläche parallele, Oberfläche geachtet.

2.3.2 TMA-Anordnung

Die erstellten TMAs wurden in chronologischer Zeitabfolge angeordnet und durchnummeriert (TMA 2018/06LS-TMA 2018/30LS). Die Ausnahme bildet hierbei der letzte TMA 2018/30LS, welcher zusätzlich diejenigen Gewebeproben enthält, welche nachträglich ausgewählt oder zum Zeitpunkt des Stanzprozesses dieser Arbeit noch von einem anderen Projekt benötigt wurden. Der TMA 06/07 dagegen enthält Gewebeproben eines älteren Projekts (Prof. Dr. med. Jens

¹ SAV Liquid Production Company, Flintsbach a. Inn, Deutschland

Schittenhelm), welcher aufgrund von unzureichendem Restgewebe entsprechend der damaligen Anordnung dieses TMA erneut angefertigt wurde. Es wurden Tumorstanzen von 1mm Durchmesser aus den in Paraffin eingebetteten und in Formalin fixierten Tumorblöcken entnommen. Pro Tumor wurden in den meisten Fällen zwei Stanzzyylinder aus unterschiedlichen repräsentativen Arealen verwendet. Bei 95 Tumoren konnte aufgrund der Gewebemenge und/oder Qualität nur eine Probe entnommen werden. Circa 40-50 Proben wurden in einer Art Schachbrettmuster auf einen Empfängerblock angeordnet. Zusätzlich wurden zwei Kontrollstanzen mit normalem ZNS-Gewebe in den obersten zwei Zeilen der letzten Spalte eingefügt. Hierzu wurden jeweils eine Stanze aus gesunder Großhirnrinde und eine Stanze aus gesundem Großhirnmarklager verwendet (Autopsiegewebe). Zur besseren Orientierung innerhalb eines TMA blieb die Stelle in der letzten Zeile der vorletzten Spalte jeweils frei (Abbildung 7C).

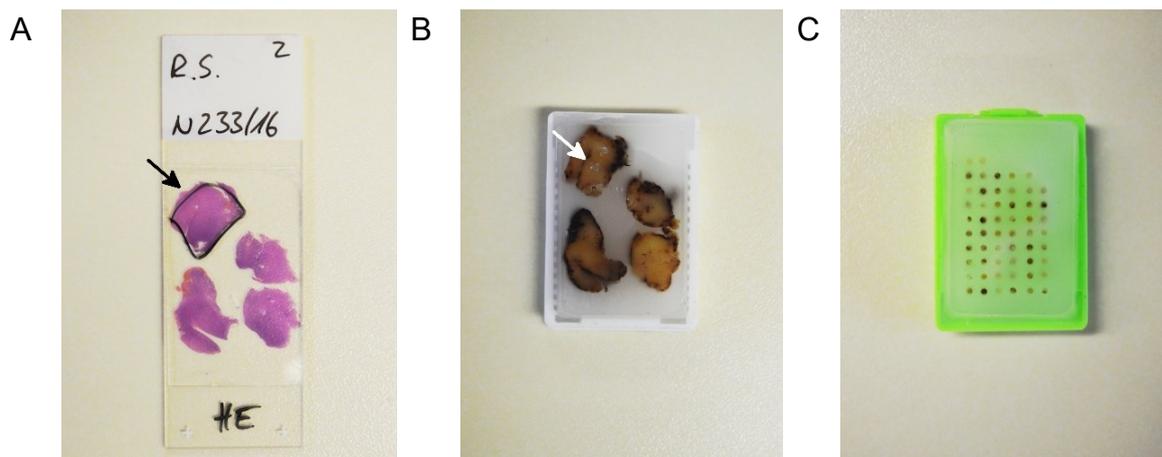


Abbildung 7: **TMA-Herstellung.** **A** Markierung des histologisch gesicherten Tumorgewebes auf dem repräsentativen Hämatoxylin-Eosin (HE)-Schnitt (schwarzer Pfeil). **B** Dazugehöriger, in Paraffin eingebetteter, Gewebekblock mit bereits entnommenem Stanzzyylinder der repräsentativen Region (weißer Pfeil). **C** Vollständiger Empfängerblock vor der Mikrotomie mit Stanzzyindern unterschiedlicher Tumore.

2.3.3 TMA-Erstellung

Aus den in Paraffin eingebetteten Spenderblöcken wurden zunächst gemäß der vorherigen Sichtung der entsprechenden HE-Schnitte repräsentative Tumorareale markiert (Abbildung 7A und B). Aus einem leeren aus Paraffin hergestellten

Empfängerblock wurde ein im Durchmesser 1mm großer Stanzzyylinder mithilfe des Manual Tissue Arrayer 1 (MTA-1) von Beecher Instruments herausgestanzt (Abbildung 8).

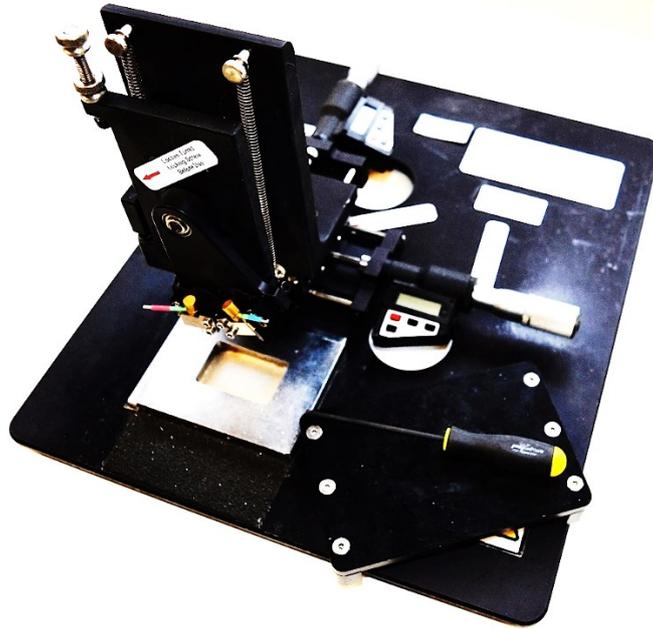


Abbildung 8: **Tissue Micorarrayer**. Mithilfe des Stanzgeräts wurden im Durchmesser 1mm große Stanzzyylinder der Gewebeproben gewonnen.

Je nach Größe des Spenderblocks können mehrere zylindrische Gewebestanden von diesem entnommen werden, sodass ausreichend Restgewebe für zukünftige Untersuchungen verbleibt. Beim Auftragen der Stanzzyylinder auf den Empfängerblock war zu beachten, dass die in ihrer Beschaffenheit minimal unterschiedlichen Stanzbohrer jeweils für den Spenderblock und Empfängerblock eingehalten wurden, sodass ein optimales Einfügen der Tumorstanze in den Empfängerblock ohne Verlust des Tumormaterials möglich war. Durch das Wiederholen dieses Vorgangs entstanden somit die untersuchten TMA-Blöcke mit einem Abstand von 1,7mm zwischen den einzelnen Stanzen. Einrisse im Paraffin konnten durch diesen Sicherheitsabstand vermieden werden. Das exakte Herausstanzen des Tumorgewebes wurde zudem durch verstellbare Schrauben des verwendeten Gerätes zur Regulierung der Eindringtiefe des Stanzbohrers sowie durch die Möglichkeit der Fixierung des Empfängerblockes ermöglicht. Weiterhin wurde auf

eine glatte, im selben Niveau liegende, Oberfläche geachtet. Grob überstehendes Material wurde mithilfe eines Skalpells korrigiert.

Nach Fertigstellung der TMA-Blöcke wurden diese durch leichte Erwärmung des Paraffins auf 37°C für 10-15 Minuten in einem Inkubator sowie leichtem Druck durch ein Mikroskopierdeckglas versiegelt. Dadurch konnte zum einen eine optimale Anpassung der zylindrischen Tumorstanzen im neuen Paraffinblock gewährleistet und zum anderen einer möglichen Brüchigkeit des Blockes entgegen gewirkt werden. Zudem ist dieses Vorgehen essenziell, um im weiteren Verlauf die Anzahl der angefertigten TMA-Schnitte mit vollständig enthaltenden Proben zu maximieren (Instruction manual, Manual tissue microarrayer MTA-1, Beecher Instruments). Zur weiteren Verarbeitung der TMAs und die Erstellung der immunhistochemischen Färbung wurden die TMA-Blöcke durch eine erfahrene Medizinische Technologin für Laboratoriumsanalytik (MTLA) der Abteilung für Neuropathologie der Universität Tübingen mithilfe des Automatik-Mikrotoms HM355S von Thermo Scientific in 5µm dünne Schichten geschnitten und auf einem Objektträger aufgebracht.

Das in der vorgelegten Arbeit für die Herstellung der TMA-Blöcke verwendete Material ist in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4: **Material zur TMA-Herstellung**

Material	Hersteller
Manuel Tissue Arrayer Model MTA-1	Beecher Instruments ²
Manuel Tissue Arrayer Punctes red 1mm	Beecher Instruments ²
Manuel Tissue Arrayer Punctes green 1mm	Beecher Instruments ²
Skalpell	Aesculap ³
Paraffin	SAV liquid production GmbH ⁴
Automatik-Mikrotom HM355S	Thermo Scientific ⁵

² Beecher Instruments Inc., Wisconsin, Vereinigte Staaten

³ Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland

⁴ SAV liquid production GmbH, Flintsbach a. Inn, Deutschland

⁵ Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, Vereinigte Staaten

Material	Hersteller
Mikrotomklingen A35	Feather ⁶
TOMO IHC Adhesive Glass Slides	Matsunami ⁷
Objektträger SuperFrost weiß	Langenbrinck GmbH ⁸
Inkubator	

2.4 Erstellung der HE-Färbung

Zunächst erfolgte eine manuelle Entparaffinierung der zu färbenden Schnitte. Hierzu wurden diese zunächst dreimal mit Xylol für jeweils zehn Minuten, anschließend zweimal mit 100% Ethanol für jeweils fünf Minuten und abschließend mit einmal 96% und 70% Ethanol für wiederum jeweils fünf Minuten inkubiert. Der Entparaffinierungsprozess wurde durch einen Waschvorgang mit destilliertem Aqua abgeschlossen, wonach die Schnitte anschließend für den weiteren HE-Färbeprozess verwendet werden konnten.

Hierzu wurden die Gewebeschnitte zunächst für 90 Sekunden in Mayers Häma-laun inkubiert. Nach einem zweimaligem Spülvorgang und einer Aussetzung der Schnitte unter fließendem Leitungswasser setzte nun das Bläuen als Zeichen der Änderung des pondus Hydrogenii (pH) ein. Nach einem weiteren einmaligem Spülvorgang wurde der Färbeprozess durch die Inkubation der Schnitte über 90 Sekunden in Erythrosin 0,1% fortgesetzt. Zur Differenzierung des Erythrosins erfolgte eine Inkubation in 70% vergälltem Ethanol, woran der Entwässerungsprozess, bestehend aus einer nacheinander jeweils kurzen Aussetzung mit 96% vergällten Ethanol und zweimalig 100% Ethanol, erfolgte. Als Intermedium, ein Reagenz, welches sich gleichermaßen mit Paraffin und Alkohol mischt, wurde in dieser Arbeit Xylol 1,2,3 verwendet, mit welchen die Gewebeschnitte jeweils kurz durchtränkt wurden. Abschließend erfolgte das Eindecken mit wasserfreiem DPX new für die Mikroskopie.

⁶ Feather, Osaka, Japan

⁷ Matsunami Glass USA Inc., Bellingham, USA

⁸ Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Deutschland

Alle für die HE-Färbung verwendeten Färbemittel sind in Tabelle 5 aufgelistet.

Tabelle 5: **Färbemittel für die HE-Färbung.**

Artikel	Firma
Objektträger SuperFrost weiß	Langenbrinck GmbH ⁹
Xylol	AppliChem GmbH ¹⁰
Ethanol	AppliChem GmbH
vergälltes Ethanol	Alkoholvertrieb Süd ¹¹
Mayers Hämalaun	Merck ¹²
Erythrosin	Merck
DPXnew	Merck
Eisessig	Merck

2.5 Immunhistochemische Färbung

2.5.1 Allgemeines zur Immunhistochemie

Bei der Immunhistochemie handelt es sich um ein etabliertes Verfahren in der Histologie zur Detektion von Antigenen in Gewebeschnitten. Die zugesetzten Antikörper erkennen spezifische Bindungsstellen im Gewebe, sogenannte Epitope, und bilden dadurch Antigen-Antikörper-Komplexe aus. Zuvor werden die Antikörper markiert, wodurch die nun entstandenen Komplexe unter lichtmikroskopischer Betrachtung durch eine bräunliche Anfärbung in Erscheinung treten.

Man unterscheidet zwei gängige immunhistochemische Färbemethoden.

⁹ Langenbrinck GmbH, Emmendingen, Deutschland

¹⁰ AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland

¹¹ Alkoholvertrieb Süd GmbH, Horb am Neckar, Deutschland

¹² Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

Direkte Immunhistochemie

Bei der direkten Immunhistochemie wird ein markierter Antikörper den Gewebeschnitten zugegeben. Dieser bindet an das Epitop des Antigens im untersuchten Gewebe und geht mit diesem ein Antigen-Antikörper-Komplex ein (Abbildung 9A).

Indirekte Immunhistochemie

Bei der indirekten Immunhistochemie sind im Gegensatz zur direkten Immunhistochemie zwei Antikörper notwendig. Hierbei bindet der primäre nicht markierte Antikörper an das Epitop des Antigens im Zielgewebe. Dieser wiederum wird von einem sekundären markierten Antikörper gebunden (Abbildung 9B).

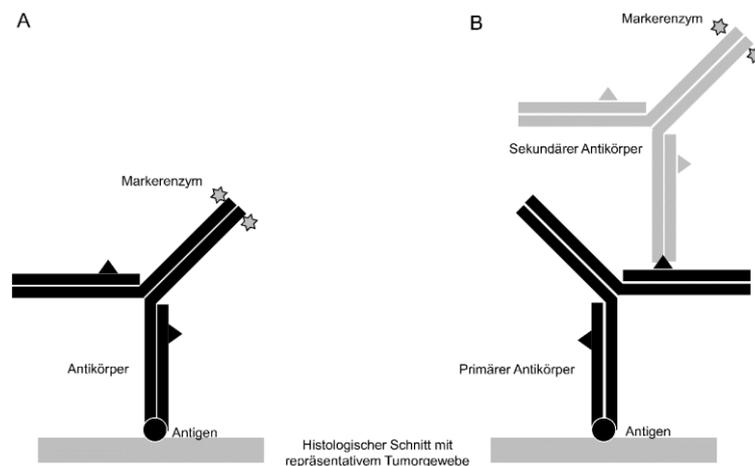


Abbildung 9: **Schematische Darstellung der Immunhistochemie** (eigene Darstellung). **A** Direkte Immunhistochemie: Der Antikörper des Antikörper-Enzym-Komplexes erkennt direkt das Antigen. **B** Indirekte Immunhistochemie: Der Primärantikörper bindet das Antigen und wird mit Hilfe eines sekundären markierten Antikörpers detektiert.

2.5.2 OptiView System

Die immunhistochemische Färbung der entparaffinierten Gewebeschnitte erfolgte in der vorgelegten Arbeit maschinell mit dem Ventana Benchmark Immunhistochemistry OptiView System. Hierbei handelt es sich um ein indirektes biotinfreies System zum Nachweis spezifischer Primärantikörper durch Bindung eines gegen eine bestimmte Spezies gerichteten Sekundärantikörpers. Durch einen markierten Tertiärantikörper wird der gesamte Komplex durch ein

Entfällungsprodukt sichtbar. Dieses entsteht durch Bindung von Wasserstoffperoxidsubstrat sowie einer 3,3'-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid-Substratlösung (DAB), welches unter lichtmikroskopischer Betrachtung durch eine bräunliche Ablagerung visualisiert werden kann.

2.5.3 Färbeverfahren mittels OptiviewKit

Für den Deparaffinierungsprozess wurde zu Beginn der Objektträger auf 72°C erwärmt und anschließend für vier Minuten erhitzt. Nach einem weiteren Aufheizen bis 75°C und einer erneuten Inkubationszeit von vier Minuten wurde der Objektträger abwechselnd in zwei Durchläufen mit EZ Prep-Volumen ausgeglichen und erneut vier Minuten inkubiert und gewaschen. Zum Flüssigkeitserhalt wurde nachfolgend ein Coverslip aufgetragen, bevor der Objektträger nun bis 76°C aufgeheizt und erneut vier Minuten inkubiert wurde. Es folgte der Ausgleich des Volumens nach der Deparaffinierung mit anschließendem Auftragen des Coverslips und erneuter Inkubation von vier Minuten, bevor der Zellkonditionierer Nr.1 (CC1) und ein Coverslip aufgetragen und der Objektträger anschließend bis 95°C und für erneute vier Minuten inkubiert wurde. Nach Aufheizen des Objektträgers auf nun 100°C und einer Inkubationszeit von acht Minuten, wurde CC1 hinzugegeben, gefolgt von einer acht Minuten andauernden Inkubationszeit. Dieser Vorgang wurde fünf Mal wiederholt, jedoch fortan mit einer Inkubationszeit von jeweils vier Minuten. Nach zweimaligem abwechselndem Waschen, Anpassen des Volumens und erneutem Auftragen des Coverslips auf den Objektträger, wurde dieser bis 37°C aufgeheizt und erneut für vier Minuten inkubiert. Nach erfolgtem Wasch- und Volumenangepassungsvorgang wurden anschließend ein Tropfen OV PEROX IHBTR zusammen mit dem Coverslip aufgetragen und erneut für vier Minuten inkubiert. Nun erfolgte mit einer Pipette per Handauftrag das Hinzugeben des primären Antikörpers mit anschließender Inkubationszeit von 32 Minuten. Nach Aufwärmen des Objektträgers auf 37°C erfolgte ein zweimaliger Vorgang bestehend aus abwechselnder Waschung, Zugabe von 460 Mikroliter (μ l) Waschpuffer, Auftragen des Coverslips und vierminütiger Inkubationszeit, welcher sich sowohl nach Hinzufügen von einem Tropfen OV HQ UNIV LINKR mit

anschließend achtminütiger Inkubationszeit, als auch nach Auftragen von einem Topfen OV HRP MULTIMER und ebenfalls achtminütiger Inkubationszeit, erneut weitere zwei Mal wiederholte. Bei Letzterem erfolgte jedoch zuvor die Hinzugabe von 900µl Waschpuffer und einem Deckglas mit anschließender Inkubationszeit von vier Minuten, eher zuvor beschriebener Vorgang zweimalig durchgeführt wurde. Im Folgenden wurde nun ein Tropfen OV H₂O₂, ein Tropfen OV DAB sowie ein flüssiges Deckglas (LCS) aufgetragen und für weitere acht Minuten inkubiert. Nach erneutem Waschvorgang und Anpassen des Objektträger-Volumens erfolgte das Auftragen von einem Tropfen OV COPPER mit nachfolgender vierminütiger Inkubationszeit. Nach zwei weiteren Wasch- und Anpassungsvorgängen des Objektträger-Volumens sowie weiteren vier Minuten Inkubationszeit erfolgte im Anschluss die Hinzugabe von COUNTERSTAIN 1, gefolgt von einem LCS und einer Inkubationszeit von vier Minuten. COUNTERSTAIN 1 dient hierbei der Gegenfärbung. Es folgt das abschließende Waschen und Anpassen des Objektträger-Volumens, gefolgt von einem Auftragen des Coverslips und weiterer vierminütiger Inkubationszeit. Dieser Vorgang wurde ein weiteres Mal wiederholt und stellte den Abschluss der beschriebenen immunhistochemischen Färbung dar.

Die Gegenfärbung erfolgte mit einem selbst verdünnten Hämatoxylin. Hierzu wurden 21 Milliliter (ml) Thermo Fisher Scientific Hämatoxylin Gill 3 mit 40ml Eisessig sowie 50ml destilliertem Wasser vermischt und anschließend filtriert.

Der oben beschriebene immunhistochemische Färbeprozess wurde auf selbe Art und Weise für beide untersuchten Antikörper durchgeführt. Zur immunhistochemischen Färbung wurde ein monoklonaler Antikörper für H3K27me₃ mit einer Verdünnung von 1:200 (Neuropathologisches Institut Tübingen Protokollnummer #268) verwendet. Diejenigen Objektträger, welche Gewebeproben älter als 2010 beinhalteten, wurde zusätzlich in einem weiteren Färbeprozess nach oben beschriebenem Standard und selbem Antikörper, jedoch mit konzentrierterer Verdünnung von 1:100 erneut gefärbt. Des Weiteren erfolgte eine weitere immunhistochemische Färbung unter Verwendung eines polyklonalen Antikörpers für

H3K36me3 und einer Verdünnung von 1:4000 nach selbigem Schema. Die Verdünnung der Antikörper erfolgte mit Antibody Diluent des Herstellers Zytomed.

Als Positivkontrollen wurde gesundes Großhirngewebe verwendet (zerebraler Kortex und Marklager), welches im Rahmen von Autopsien asserviert wurde (Abbildung 10). Zudem wurde als interne Positivkontrolle der einzelnen Proben die nukleäre Anfärbung von Endothel- und Immunzellen verwendet.

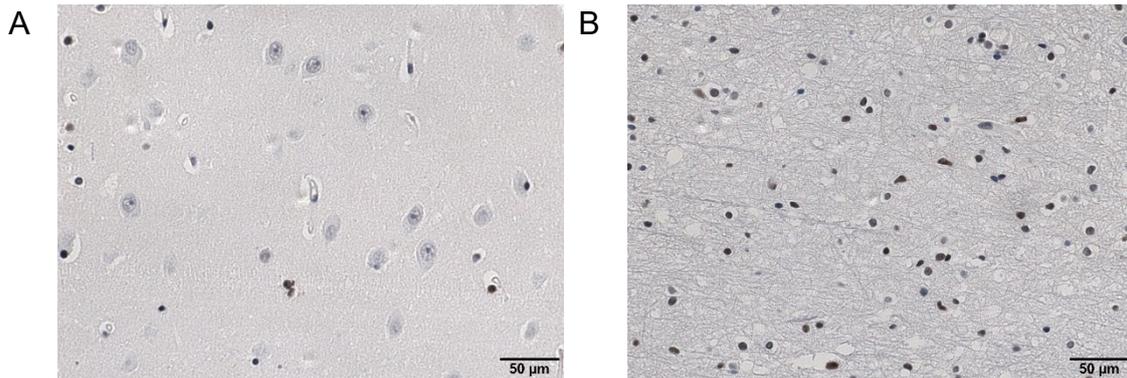


Abbildung 10: **Positivkontrollen nach erfolgreicher immunhistochemischer Färbung.** Positive Anfärbung vereinzelter Zellkerne **A** des zerebralen Kortex und **B** des zerebralen Marklagers.

Das in dieser Arbeit verwendete Material (Tabelle 6) sowie die Färbesubstanzen (Tabelle 7) und Antikörper (Tabelle 8) werden nachfolgend tabellarisch zusammengefasst.

Tabelle 6: **Verwendetes Material für die Immunhistochemie**

Material	Artikelbezeichnung	Hersteller
Objektträger	TOMO ICH Adhesive Glass Slides (Artikelnummer	Matsunami ¹³
Färbesystem	BenchMark Serie XT	Ventana ¹⁴

¹³ Matsunami Glass USA Inc., Bellingham, USA

¹⁴ Ventana Medical Systems Inc., Tucson, USA

Tabelle 7: **Färbesubstanzen für die Immunhistochemie**

Färbesubstanz	Artikelnummer	Hersteller
Reaction Buffer	05353955001	Roche ¹⁵
LCS (Liquid Cover Slip)	05264839001	Roche ³
EZ Prep Concentration	05279771001	Roche ³
CC1 Cell Conditioning 1	05279801001	Roche ³
CC2 Cell Conditioning 2	05279798001	Roche ³
Antibody Diluent	ZUC025-500	Zytomed ¹⁶
Thermo Scientific Shandon Gill 3 Hämatoxylin	6765009	Fisher Scientific ¹⁷
Essigsäure 100 %	1.000.63.1011	Merck ¹⁸
OptiView DAB ICH Detection Kit	06396500001	Roche ³

Tabelle 8: **Verwendete Antikörper für die Immunhistochemie**

	H3K27me3	H3K36me3
Spezifität	Monoklonal	Polyklonal
Verdünnung	1:200; 1:100	1:4000
Inkubationszeit	32 min	32 min
Wirt	Hase	Hase
Sekundärantikörper	Anti-Hase IgG	Anti-Hase IgG
Positivkontrolle	Endothel- und Immunzellen	Endothel- und Immunzellen
Vorbehandlung	CC1 (32 min Vorbehandlung)	CC2 (32 min Vorbehandlung)
Hersteller	Abcam ¹⁹	Cell Signaling ²⁰

¹⁵ F.Hoffmann- La Roche AG, Basel, Schweiz

¹⁶ Zytomed Systems GmbH, Berlin, Deutschland

¹⁷ Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland

¹⁸ Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

¹⁹ Abcam, Cambridge MA, USA

²⁰ Cell Signaling Technology Inc., Danvers, USA

2.6 Auswertung

2.6.1 Mikroskopische Auswertung

Die Auswertung der immunhistochemischen Färbungen des Tumorgewebes erfolgte mithilfe des Lichtmikroskops Olympus Vanox AHB T3. Hierbei wurden die angefertigten gefärbten Schnitte unter zwanzigfacher, hundertfacher und zweihundertfacher Vergrößerung betrachtet. Mikroskopische Bilder wurden mithilfe einer an das Lichtmikroskop und Computer gekoppelten Kamera von JenOptik Laser Optik Systeme aufgenommen und anschließend mit dem Programm Image magic client dokumentiert. Bei angefärbter Positivkontrolle der TMA-Schnitte wurden diese der weiteren Auswertung unterzogen.

2.6.2 Einteilung in Ausprägungsgrade

Zur Quantifizierung der Immunpositivität wurde ein semiquantitativer Score von 0-4 angewandt. Positiv angefärbte Zellen und somit Tumorzellen ohne Verlust der Histontrimethylierung zeigten sich dunkelbraun gefärbt. Die vergebenen Scores richteten sich dabei nach dem prozentualen Anteil der immunhistochemisch gefärbten Zellkerne im Verhältnis zum gesamten Stanzzyylinder der jeweiligen Probe. Der genaue Score ist in Tabelle 9 und Abbildung 11 dargestellt. Den Grad 0 erhielten diejenigen Gewebeproben, bei welchen sich keine oder lediglich vereinzelt positiv gefärbte Tumorzellen erkennen ließen. Bei denjenigen Proben, bei welchen ein Verlust der Trimethylierung verzeichnet wurde, erfolgte weiterhin eine Überprüfung nach positiven internen Kontrollen nicht-tumoröser Zellen (Endothel- und Immunzellen). Eine solche positive Kontrolle stellte beispielsweise ein angeschnittenes Gefäß mit positiv gefärbten Endothelzellen dar (Abbildung 11B).

Tabelle 9: **Einteilung der Ausprägungsgrade in Scores.** Die Scores dienen der Beurteilung der immunhistochemischen nukleären Anfärbung von Tumorgewebe.

Score	Prozent (%)
0	0 - 5
1	5 - 25
2	25 - 50
3	50 - 75
4	75 - 100

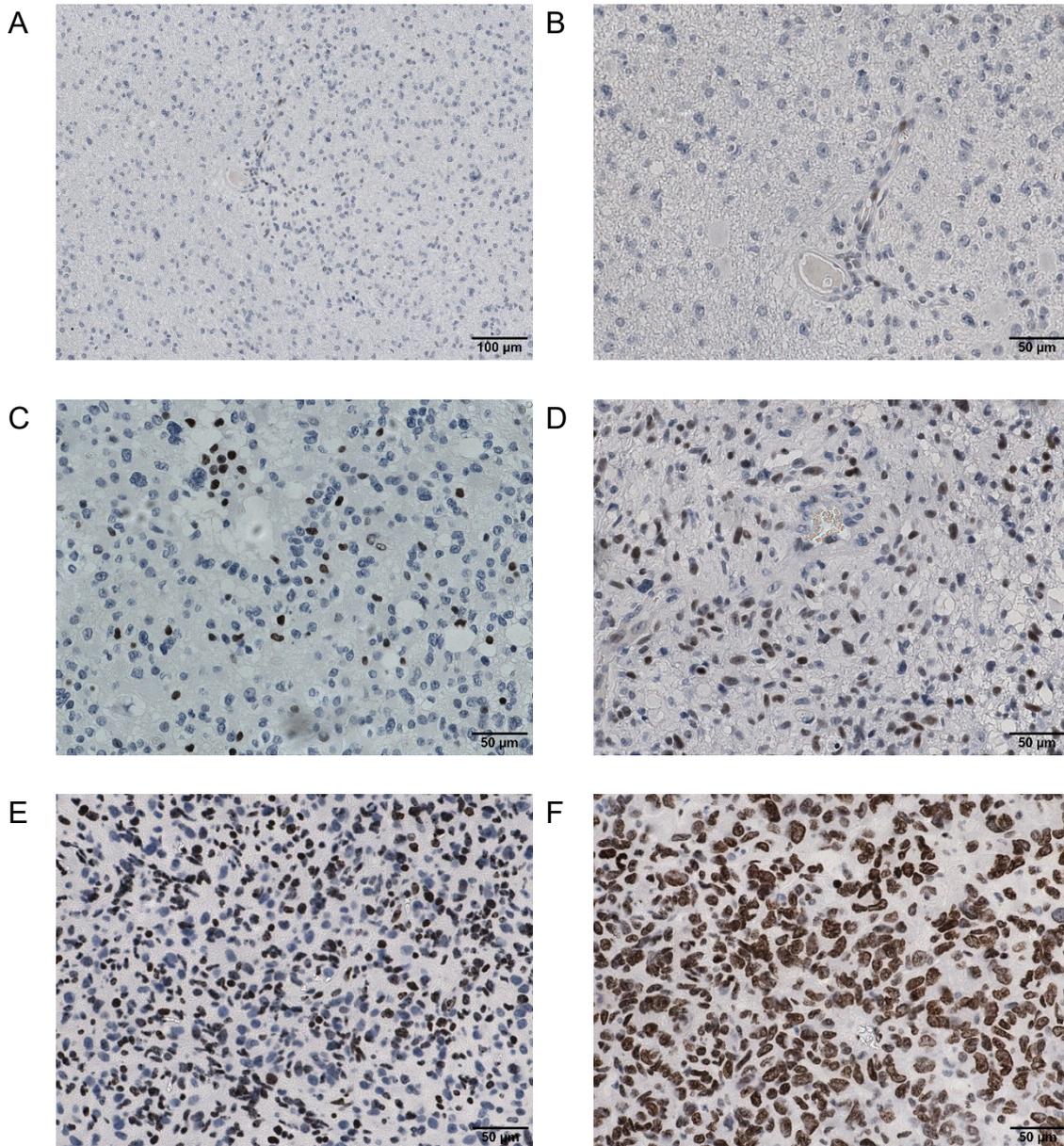


Abbildung 11: **Score-Klassifikation 0-4.** **A** Score 0: Anfärbung von <5% der Zellkerne **B** Score 0 mit positiven angefärbten Endothelzellen als Zeichen der funktionierten Färbung **C** Score 1: Anfärbung von 5-25% der Zellkerne **D** Score 2: Anfärbung von 25-50% der Zellkerne **E** Score 3: Anfärbung von 50-75% der Zellkerne **F** Score 4: Anfärbung von 75-100% der Zellkerne.

2.6.3 Ausschlusskriterien

Um eine zielführende Auswertung der immunhistochemischen Färbungen zu erhalten, mussten zuvor einige Ausschlusskriterien beachtet werden (Abbildung 12).

Folgende Ausschlusskriterien wurden definiert:

- Starke Einblutung in das Tumorgewebe
- Nekrotisches Tumorgewebe
- Erfolglose immunhistochemische Färbung
- Tumorfremde Stanzzyylinder (z.B. ZNS-Gewebe)

Wenn weniger als 20% des Stanzzyinders vitales Tumorgewebe enthielt, wurden diese Proben nicht in der weiteren Auswertung berücksichtigt.

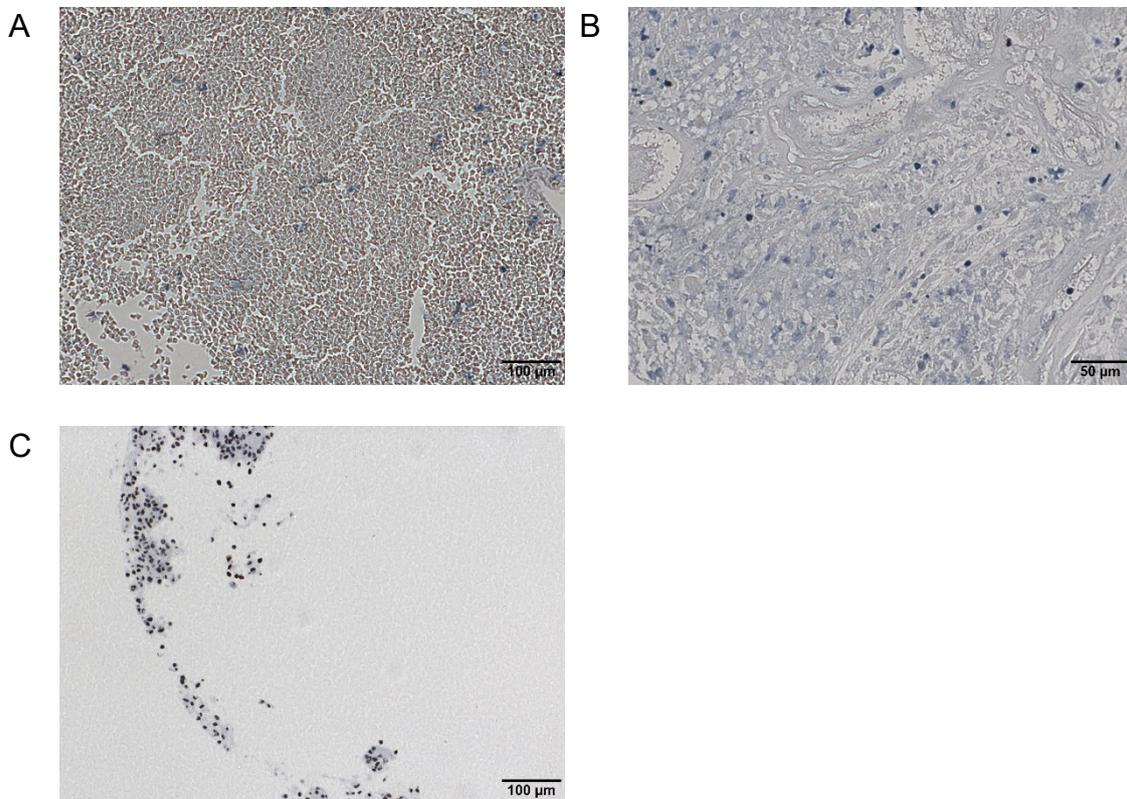


Abbildung 12: **Mikroskopische Ausschlusskriterien.** **A** Einblutung mit zu wenig auswertbarem Tumorgewebe. **B** nekrotisches Tumorgewebe mit wenig beurteilbarem vitalem Tumorgewebe. **C** zu wenig Gewebe angeschnitten mit einem Anteil von <20% des gesamten Stanzzyinders.

2.6.4 Verwendete Färbungsverdünnungen

Zur Optimierung der immunhistochemischen Qualität wurde die verwendete Antikörperverdünnung angepasst. Insbesondere bei älteren Tumorproben zeigte

sich gehäuft eine geringere Färbeintensität der Positivkontrollen. Demnach wurde für Tumorproben, welche älter als 10 Jahre waren, die Verdünnung des H3K27me3-Antikörpers von 1:200 auf 1:100 gewählt. Alle neueren Fälle hingegen gingen mit der ursprünglichen Färbungsverdünnung in die Auswertung der vorliegenden Arbeit mit ein. Bei der immunhistochemischen Färbung mit dem Antikörper für H3K36me3 und einer Verdünnung von 1:4000 hingegen entschied ich mich gegen eine Wiederholung der Färbung mit veränderter Verdünnung. Hierbei konnte bei verwendeter Verdünnung eine eindeutige Auswertung für H3K36me3 erfolgen.

2.6.5 Statistische Auswertung

Nach vollständigem Erfassen der Ausprägungsgrade der einzelnen Tumorstanzen erfolgte im Weiteren die Aufarbeitung der gewonnenen Daten für die statistische Auswertung. Hierzu wurde bei Vorliegen zweier erfolgreich gestanzten und gefärbten Zylinder einer einzelnen Tumorprobe der Mittelwert erhoben und entsprechend auf den passenden Score auf- oder abgerundet (z.B. Probe 1: Score 2, Probe 2: Score 3 → Mittelwert 2,5 → Score 3). Ein „mismatch“ beider Stanzen des H3K27me3- bzw. H3K36me3-Scores wurde in 101 Fällen (37,5%, davon „mismatch“ 1 Score-Punkt: 32,5% „mismatch“ 2 Score-Punkte: 4,0%) bzw. 97 Fällen (32,1%, davon „mismatch“ 1 Score-Punkt: 28,1%, „mismatch“ 2 Score-Punkte: 3,3%, „mismatch“ 3 Score-Punkte: 0,7%) festgestellt. Von 95 Tumorproben konnte lediglich ein einziger Stanzzylinder gewonnen werden, sodass in diesen Fällen dessen ermittelter Score für die statistische Auswertung herangezogen wurde. Konnte dagegen keine Stanze eines Tumors aufgrund der oben genannten Ausschlusskriterien beurteilt werden, wurde dieser Fall nicht in der späteren Auswertung der Daten berücksichtigt.

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mithilfe der Statistik-Software SPSS.

Zum Vergleich von Mittelwerten kamen in dieser Arbeit der t-Test für unabhängige Stichproben, der nicht parametrische Mann-Whitney-U-Test sowie die

einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) zu Anwendung. Der Post-Hoc-Vergleich nach Tuckey-HSD diene bei signifikanter ANOVA zur Analyse der Unterschiede der einzelnen Gruppen. Bei Varianzheterogenität wurde dagegen nach den Empfehlungen von Andy Field der Post-Hoc-Vergleich nach Games-Howell zur Klärung der signifikanten Unterschiede der Gruppen angewandt (Field, 2018).

Zur Durchführung der multifaktoriellen Varianzanalysen diene die Cox-Regression.

Die Normalverteilung wurde mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests überprüft. Bei Verletzung der Normalverteilung, also signifikantem Shapiro-Wilk-Test ($p < 0,05$) wurde hingegen dennoch der t-Test für unabhängige Stichproben und die ANOVA angewandt, wenn beide untersuchten Gruppen eine ausreichende Stichprobengröße ($N \geq 30$) aufwiesen. Das Überprüfen der Varianzhomogenität erfolgte indes bei allen statistischen Auswertungen dieser Arbeit anhand des Levene-Tests.

Weiterhin wurden in dieser Arbeit Überlebensanalysen nach Kaplan-Meier durchgeführt.

Die Auswertung der Fälle mit Astrozytom WHO III und Oligodendrogliom WHO III beschränkt sich in dieser Arbeit auf die deskriptive Statistik, da ein Vergleich der Mittelwerte ohne Verletzung der statistischen Testvoraussetzungen durch zu geringe Fallzahlen nicht gegeben war.

Das Signifikanzniveau wurde bei allen angewandten statistischen Tests auf $p < 0,05$ festgelegt.

2.6.6 Computersoftware und technische Geräte

Die zum Erstellen dieser Arbeit verwendete Computersoftware und Geräte sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: **Verwendete Computersoftware und Geräte.**

Software/Gerät	Hersteller
Microsoft Office 2015	Microsoft ²¹
IBM SPSS Statistics 27	IBM ²²
GIMP 2.10.14	GIMP Development Team
Imagic ims Client	Imagic ²³
Mikroskop Olympus Vanox AHBT3	Olympus ²⁴
Kamera	Jenoptik ²⁵
Nikon D3200	Nikon ²⁶

²¹ Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA

²² IMB Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland

²³ Imagic Bildverarbeitung AG, Glattbrugg, Schweiz

²⁴ Olympus Europa SE & Co. KG, Hamburg, Deutschland

²⁵ Jenoptik Optical Systems GmbH, Mühlhausen im Täle, Deutschland

²⁶ Nikon Corporation, Tokio, Japan

3 ERGEBNISSE

3.1 Klinische prognostische Faktoren

3.1.1 Tumorentität

Insgesamt repräsentierten die Patient:innen mit GBM WHO IV mit 89,4 % (N=378) die am stärksten vertretene Gruppe innerhalb der untersuchten Patientenkohorte, gefolgt von Astrozytomen WHO Grad III mit 6,1% (N=26) und Oligodendrogliomen WHO Grad III mit 4,5% (N=19).

Zu beobachten war im Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit ein jüngeres mittleres Erkrankungsalter von 50,63 Jahren im Falle von WHO III-Gliomen im Gegensatz zu 63,10 Jahren bei WHO IV-Gliomen. Das mittlere OS jedoch belief sich bei WHO IV-Gliomen auf lediglich 15,44 Monaten im Vergleich zu 32,52 Monaten bei einer WHO III-Tumorentität ($p=0,005$). Im Weiteren wurden das OS unter Berücksichtigung der Tumorentitäten untersucht. Dazu wurde das Patientenkollektiv in drei Gruppen unterteilt (GBM WHO IV, Astrozytom WHO III, Oligodendrogliom WHO III). Die Patient:innen mit GBM wiesen dabei ein mittleres Gesamtüberleben von 15,44 Monaten auf, wohingegen diejenigen mit Astrozytom oder Oligodendrogliom mit 29,64 Monaten bzw. 55,38 Monaten signifikant länger lebten ($p<0,001$). Nach 24 Monaten waren bereits 84,8% und nach 36 Monaten 93,7% der Patient:innen mit GBM verstorben.

Weiterhin wurde selbe Untersuchung für Tumore astrozytären Ursprungs im Vergleich zu jenen mit oligodendroglialem Ursprung durchgeführt. Astrozytäre Tumore wiesen dabei ein OS von 16,07 Monate im Gegensatz zu oligodendroglialen Tumoren mit 47,12 Monaten auf. Damit wird das Signifikanzniveau nur knapp verfehlt, weshalb hierbei von keiner signifikanten Differenz zwischen beiden Gruppen hinsichtlich des mittleren Gesamtüberlebens ausgegangen werden kann ($p=0,060$).

Der prognostische Einfluss der aufgeführten hochgradigen Tumorentitäten auf das kumulative Gesamtüberleben der Betroffenen ist in Abbildung 13 als Kaplan-Meier-Überlebenskurve dargestellt. Mit $p < 0,001$ konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tumorentitäten hinsichtlich der berechneten Überlebenswahrscheinlichkeit statistisch nachgewiesen werden.

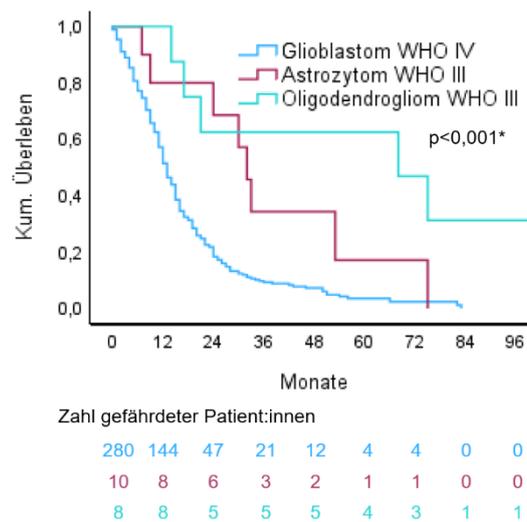


Abbildung 13: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven der Tumorentitäten.** Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied (*) zwischen den Überlebenswahrscheinlichkeiten der betrachteten Tumorentitäten.

3.1.2 Erkrankungsalter

Berücksichtigt wurden Patient:innen aller Altersgruppen. Die Altersspanne erstreckte sich dabei zwischen 18 und 87 Jahren in der Subgruppe der GBM, zwischen 26 und 79 Jahren in der der Astrozytome und zwischen 26 und 75 Jahren in der der Oligodendrogliome.

Die Verteilung des Erkrankungsalters innerhalb des untersuchten Patientenkollektivs wurde in Abhängigkeit der vorliegenden Tumorentität in Abbildung 14 betrachtet. Hier zeigt sich ein jüngeres Erkrankungsalter mit einer maximalen Erkrankungshäufigkeit der Patient:innen mit GBM im Alter zwischen 61-70 Jahren (28,9%), im Vergleich zu 41-50 Jahren beim Astrozytom (32%) und Oligodendrogliom (36,8%). Mit 46,61 Jahren waren dabei die Patient:innen mit diagnostiziertem Astrozytom im Durchschnitt am jüngsten, gefolgt von 53,21 Jahren

derjenigen mit Oligodendrogliom und 62,44 Jahren mit GBM. Das mittlere Erkrankungsalter unterscheidet sich hier statistisch signifikant zwischen den verschiedenen Tumorentitäten ($p < 0.001$).

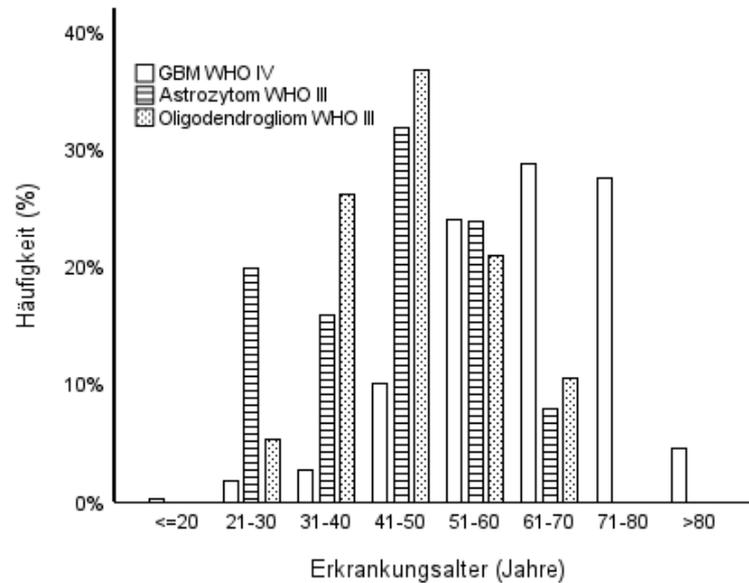


Abbildung 14: **Verteilung des Erkrankungsalters nach Tumorentität.** Prozentualer Anteil des Patientenalters in 10-Jahres-Intervallen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eines Glioblastoms WHO IV, Astrozytoms WHO III und Oligodendroglioms WHO III.

3.1.2.1 Glioblastoma multiforme WHO IV

Im Folgenden wurden alle Fälle mit GBM hinsichtlich des Erkrankungsalters in zwei verschiedene Gruppen anhand des Cut-Offs von 70 Jahren unterteilt. Hierbei konnte ein signifikant längeres OS bei den jüngeren Patient:innen ≤ 70 Jahren mit 18,43 Monaten im Vergleich zu denjenigen über > 70 Jahren mit 9,66 Monaten bei Diagnosestellung festgestellt werden ($p < 0,001$).

3.1.2.2 Astrozytom WHO III

Für die Tumorentität des Astrozytoms wurde das Patientenkollektiv in Abhängigkeit des Cut-Offs von 40 Jahren in zwei Gruppen unterteilt. Hierbei wurde ein mittleres Gesamtüberleben der Patient:innen mit einem Erkrankungsalter > 40 Jahren von 32,83 Monaten berechnet, wohingegen dasselbe für diejenigen ≤ 40 Jahren bei Diagnosestellung sich auf 25,80 Monate belief ($p = 0,321$, aber Fallzahl < 30).

3.1.2.3 Oligodendrogliom WHO III

Bei den Fällen mit diagnostiziertem Oligodendrogliom wurde der Cut-Off ebenfalls auf 40 Jahre festgelegt. Dabei ergab sich für diejenigen >40 Jahre bei Diagnosestellung ein OS von 38,20 Monaten im Vergleich zu 84,00 Monaten der jüngeren Betroffenen ($p=0,026$, aber Fallzahl <30).

Abschließend wurde für alle Tumorentitäten ein Kaplan-Meier-Diagramm zur Darstellung der Überlebenskurven unter Berücksichtigung des Alters-Cut-Off-Werts von 70 Jahren beim GBM und 40 Jahren beim Astrozytom und Oligodendrogliom erstellt. Hierbei zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven im Falle der Patient:innen mit GBM ($p<0,001$), wohingegen im Patientenkollektiv der Astrozytome und Oligodendrogliome kein signifikanter Unterschied dahingehend festgestellt werden konnte ($p=0,836$ bzw. $p=0,500$) (Abbildung 15).

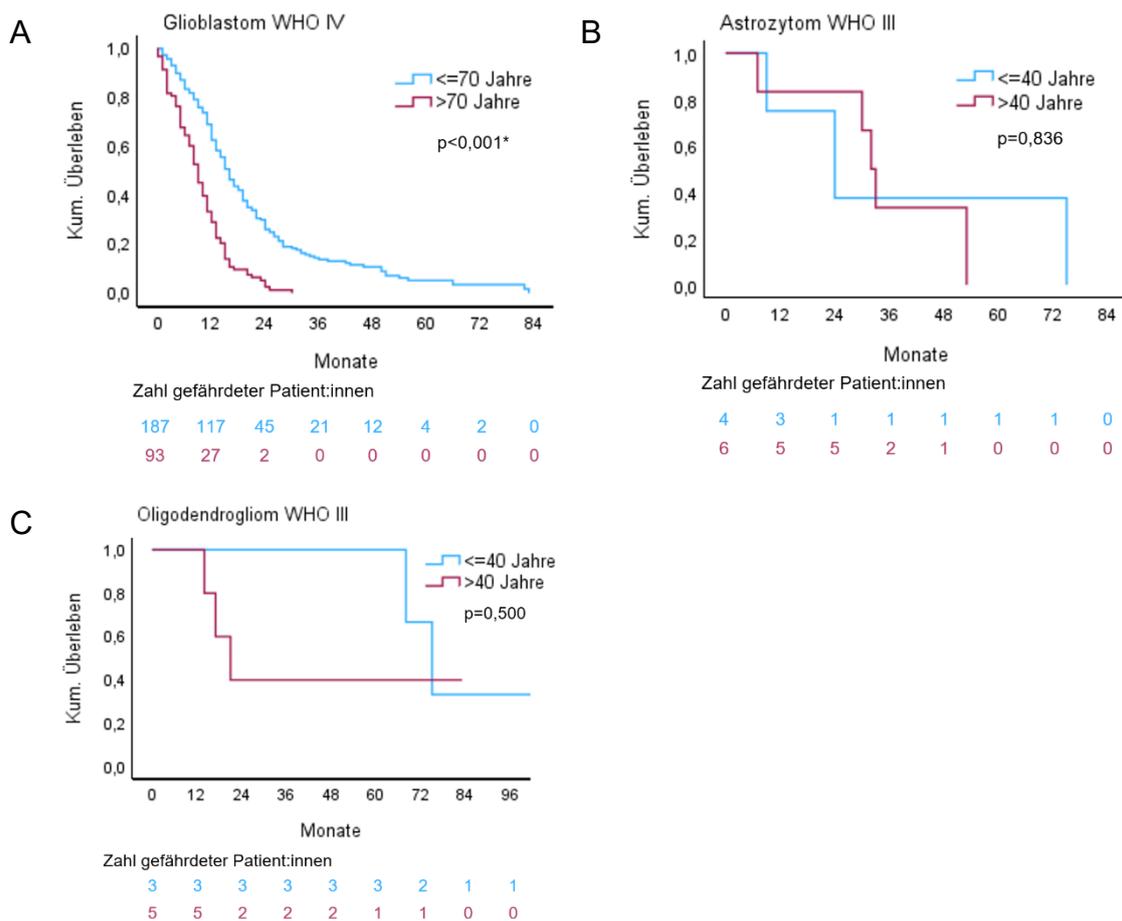


Abbildung 15: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des Erkrankungsalters.** Es zeigt sich für die Patient:innen mit **A** Glioblastom WHO IV ein signifikanter Unterschied (*) für

einen Cut-Off von 70 Jahren und für das **B** Astrozytom WHO III und **C** Oligodendrogliom WHO III kein signifikanter Unterschied für einen Cut-Off von 40 Jahren bezüglich des OS.

3.1.3 Geschlecht

3.1.3.1 *Glioblastoma multiforme WHO IV*

Es wurden 142 (37,6%) weibliche und 236 (62,4%) männliche Patient:innen unter Berücksichtigung klinischer Aspekte auf die prognostische Relevanz der Geschlechtszugehörigkeit hin untersucht (F-M-Verhältnis 1:1,7).

Während das männliche Geschlecht in dieser Arbeit ein OS von 16,50 Monaten aufwies, konnte bei den weiblichen Patientinnen ein OS von 13,46 Monaten ausgewertet werden. Das OS unterscheidet sich hierbei statistisch signifikant für diese Gruppen ($p=0,027$) (Abbildung 16A).

Das mittlere Erkrankungsalter wurde mit 65,29 Jahren der Frauen und 61,79 Jahren der Männer berechnet. Auch hier zeigte sich eine signifikante Differenz bei der Gegenüberstellung des mittleren Erkrankungsalters beider Kohorten ($p=0,007$) (Abbildung 16B).

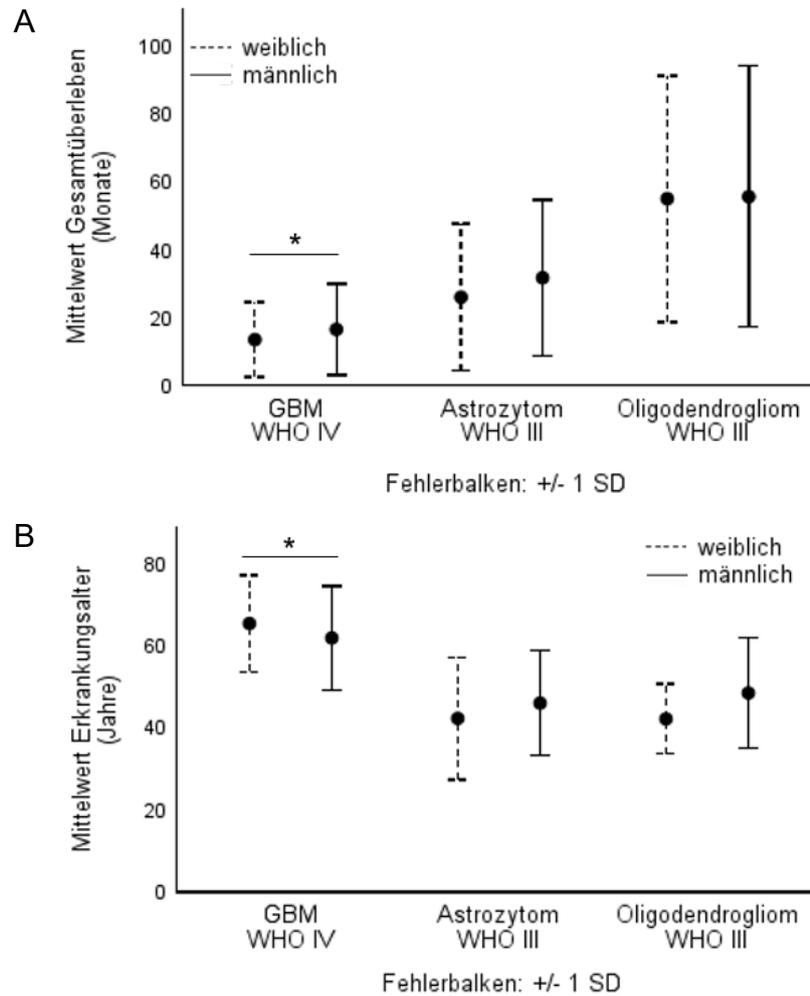


Abbildung 16: **Geschlechtszugehörigkeit unter Betrachtung klinischer Aspekte.** Dargestellt ist die Gegenüberstellung der Geschlechter abhängig der Tumorentitäten für **A** das mittlere Gesamtüberleben und **B** das mittlere Erkrankungsalters zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Sternchen (*) markiert signifikante Werte.

3.1.3.2 Astrozytom WHO III

In der Kohorte der Astrozytome verhielt sich das Geschlechterverhältnis (F:M) auf 1:1,9. Demnach wurden mit 65,4% (N=17) fast doppelt so viele männliche wie weibliche (N=9, 34,6%) Erkrankte hinsichtlich der prognostischen Relevanz des Geschlechts untersucht.

Hierbei konnte ein längeres OS mit im Mittel 31,71 Monaten in der Gruppe der männlichen Patienten:innen im Vergleich zu 26,00 Monaten der weiblichen Patientinnen berechnet werden ($p=0,347$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 16A).

Darüber hinaus erkrankten Frauen mit 42,22 Jahren früher als deren männlicher Gegenpart mit 45,94 Jahren ($p=0,268$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 16B).

3.1.3.3 Oligodendrogliom WHO III

Unter den Fällen mit diagnostiziertem Oligodendrogliom war das männliche (N=10, 52,6%) und weibliche Geschlecht (N=9, 47,4%) mit einem Verhältnis (F:M) von 1:1,25 nahezu ausgeglichen repräsentiert.

Bei Auswertung des mittleren OS verhielt sich dieses in beiden Gruppen mit 55,60 Monaten der männlichen Patienten und 55,00 Monaten der weiblichen Patientinnen nahezu identisch ($p=0,492$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 16A).

Das mittlere Erkrankungsalter hingegen zeigte beim Vergleich der Kohorten Unterschiede auf. Dabei erkrankten Frauen mit 42,11 Jahren früher als Männer mit 48,40 Jahren ($p=0,118$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 16 B).

In der Kaplan-Meier Analyse ergab sich für alle untersuchten Entitäten kein signifikanter Geschlechts-spezifischer Unterschied im Gesamtüberleben (Abbildung 17).

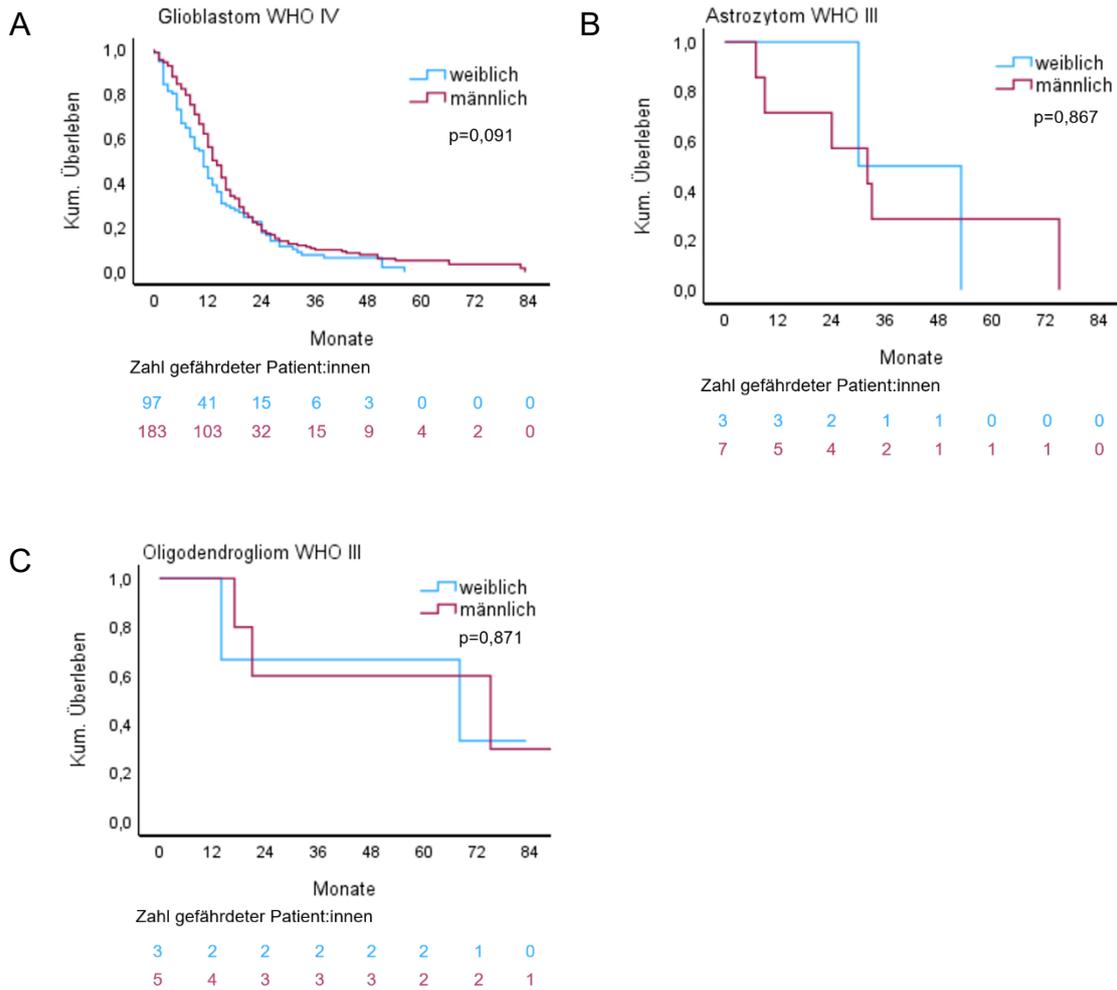


Abbildung 17: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Geschlechtszugehörigkeit.** Es zeigt sich bei allen Tumorentitäten kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Gesamtüberlebens in Abhängigkeit des Geschlechts.

3.1.4 Karnofsky-Index

3.1.4.1 Glioblastoma multiforme

In der untersuchten Gesamtkohorte konnte der KPS in 377 Fällen zum Diagnosezeitpunkt festgestellt werden. Davon klagten 50 Betroffene (12,3%) über keinerlei Beschwerden oder Krankheitssymptome und konnten weiterhin ohne Einschränkungen ihren Alltag bewältigen. Somit wurde diesen ein KPS von 100% zugeordnet. 324 (86%) und somit der großen Mehrzahl der Patient:innen konnte ein KPS $\geq 70\%$ zugeteilt werden (Abbildung 18).

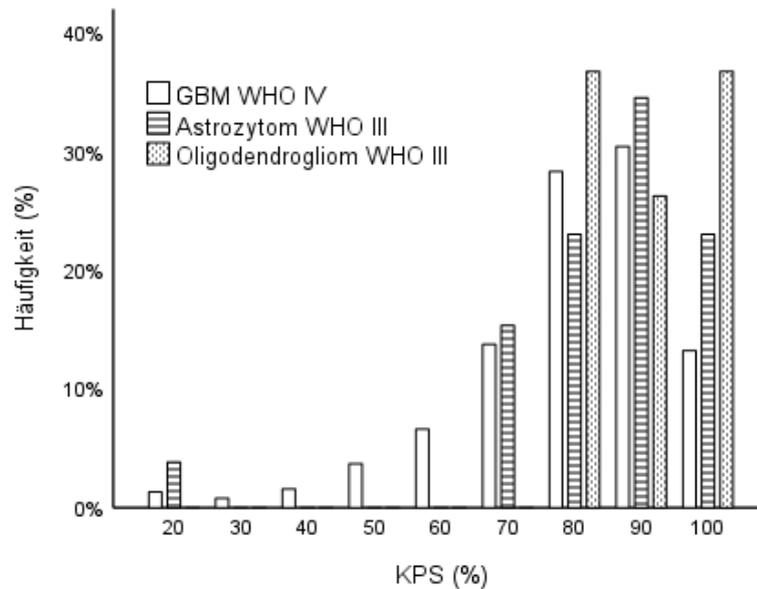


Abbildung 18: **Häufigkeitsverteilung des KPS innerhalb der Gesamtkohorte.** Nach Betrachtung der klinischen Symptomausprägung und des physischen Satus wurden die Patient:innen nach dem KPS unterteilt. Der Großteil der Patient:innen war bei Diagnosestellung nicht bzw. kaum eingeschränkt in deren Alltagsbewältigung.

Der Median des KPS bei Diagnosestellung belief sich dabei auf 80%.

Um den KPS als prognostischen Faktor zu untersuchen, wurden die Erkrankten in jeweils zwei Gruppen hinsichtlich des in zahlreichen Studien verwendeten und für die weiterführende Therapie entscheidenden Cut-Off-Werts von 70% unterteilt. Während die Patient:innen mit $KPS < 70\%$ ein OS von 12,08 Monaten aufwiesen, konnte bei den klinisch weniger beeinträchtigten Personen mit einem $KPS \geq 70\%$ ein längeres OS von 16,04 Monaten berechnet werden. Dementsprechend konnte der KPS bei einem Cut-Off von 70% als prognostisch signifikanter Faktor identifiziert werden ($p=0,021$).

Weiterhin wurde das Erkrankungsalter bei selbem Cut-Off-Wert untersucht. Hierbei zeigte sich ein annähernd selbes mittleres Erkrankungsalter mit 62,60 Jahren ($KPS < 70\%$) bzw. 63,22 Jahren ($KPS \geq 70$) für beide Gruppen, sodass hier keine signifikante Abhängigkeit des KPS vom Erkrankungsalter festgestellt werden konnte ($p=0,077$).

Unter Zuhilfenahme eines Kaplan-Meier-Diagramms wurden fortführend die Überlebenskurven der beiden Gruppen miteinander verglichen, wodurch der KPS abermals als signifikanter prognostischer Faktor, im Sinne eines längeren OS bei einem $KPS \geq 70$, gewertet werden konnte ($p=0,038$) (Abbildung 19).

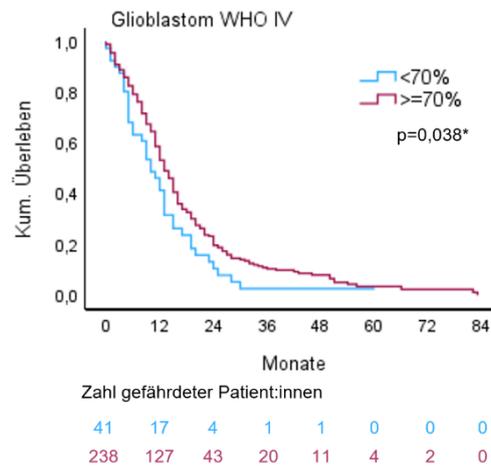


Abbildung 19: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des KPS.** Das Kaplan-Meier-Diagramm zeigt für Patient:innen mit Glioblastom WHO IV einen signifikanten Unterschied (*) der Überlebenskurven unter Berücksichtigung des Cut-Off-Werts 70% bei Diagnosestellung.

3.1.4.2 Astrozytom WHO III

Bei allen 26 Patient:innen mit diagnostiziertem Astrozytom konnte der KPS bei Diagnosestellung eindeutig festgelegt werden. Zu diesem Zeitpunkt war lediglich eine Person (3,8%) schwer eingeschränkt mit notwendigem Krankenhausaufenthalt, entsprechend einem KPS von 20%. 96,2% der Betroffenen erhielten bei Diagnosestellung einen KPS von $\geq 70\%$, wovon 23,1% der Patient:innen an keinerlei Beschwerden oder Krankheitszeichen litten ($KPS=100\%$) (Abbildung 18).

Der Median des KPS bei Diagnosestellung belief sich dabei auf 90%.

Mittels CART-Analyse konnte im Folgenden kein prognostisch relevanter Cut-Off-Wert identifiziert werden. Ein Cut-Off-Wert von 70% erschien im Falle des Astrozytoms in dieser Arbeit nicht zielführend, da in allen Fällen ein $KPS \geq 70\%$ festgestellt werden konnte. Folglich wurden diesbezüglich keine weiteren statistischen Auswertungen durchgeführt.

3.1.4.3 Oligodendrogliom WHO III

In allen 19 Fällen mit diagnostiziertem Oligodendrogliom wurde der KPS bei Diagnosestellung dokumentiert. Allen Erkrankten konnten zu diesem Zeitpunkt ein KPS $\geq 80\%$ zugeordnet werden. 36,8% der Betroffenen hatten weiterhin keine Krankheitszeichen oder Symptome und waren bei Diagnosestellung völlig beschwerdefrei, entsprechend einem KPS von 100% (Abbildung 18).

Der Median des KPS bei Diagnosestellung belief sich dabei auf 90%.

Auch im Falle der Oligodendrogliome konnte anhand einer CART-Analyse kein prognostisch relevanter Cut-Off-Wert identifiziert werden, sodass auch hier keine weiteren statistischen Auswertungen erfolgten.

3.1.5 Resektionsausmaß

3.1.5.1 Glioblastoma multiforme WHO IV

In der vorgelegten Arbeit konnten bei 211 (56,0%) Patient:innen mit GBM eine Totalresektion des Tumors erreicht werden, wohingegen bei 123 (32,6%) eine subtotalre Resektion erfolgte und bei weiteren 43 (11,4%) lediglich eine Biopsie durchgeführt wurde.

Mit 16,70 Monaten wiesen die Erkrankten bei erfolgter Totalresektion ein längeres OS nach Diagnosestellung auf als diejenigen, bei denen lediglich eine subtotalre Resektion (14,86 Monate) durchgeführt werden konnte oder alleinig eine Biopsie (11,51 Monate) des Tumors erfolgte. Dennoch wurde das Signifikanzniveau diesbezüglich knapp verfehlt ($p=0,057$). Im Weiteren wurde eine Totalresektion einer ausbleibenden Totalresektion gegenübergestellt. Auch hier erweist sich das Resektionsausmaß als nicht signifikanter prognostischer Faktor ($p=0,154$) (Abbildung 20A).

Hinsichtlich des mittleren Erkrankungsalters der Patient:innen zeigte sich ein deutlich höheres Erkrankungsalter mit einem Mittelwert von 68,63 Jahren bei den biopsierten Patient:innen, während diejenigen, welche eine Totalresektion bzw. Subtotalresektion des Tumors erhielten im Vergleich dazu wesentlich jünger

(61,97 bzw. 63,11 Jahren) waren. Es konnte somit ein signifikant jüngeres Erkrankungsalter bei radikaler Resektion nachgewiesen werden ($p=0,006$). Nachfolgende Gegenüberstellung legte eine signifikante Differenz bezüglich des Erkrankungsalters sowohl im Vergleich der Gruppen Totalresektion * Biopsie ($p=0,004$), als auch bei subtotaler Resektion * Biopsie ($p=0,031$), dar. Dagegen konnte bei dem Vergleich Totalresektion * subtotale Resektion keine Signifikanz hinsichtlich des Erkrankungsalters der Betroffenen belegt werden ($p=0,689$) (Abbildung 20B).

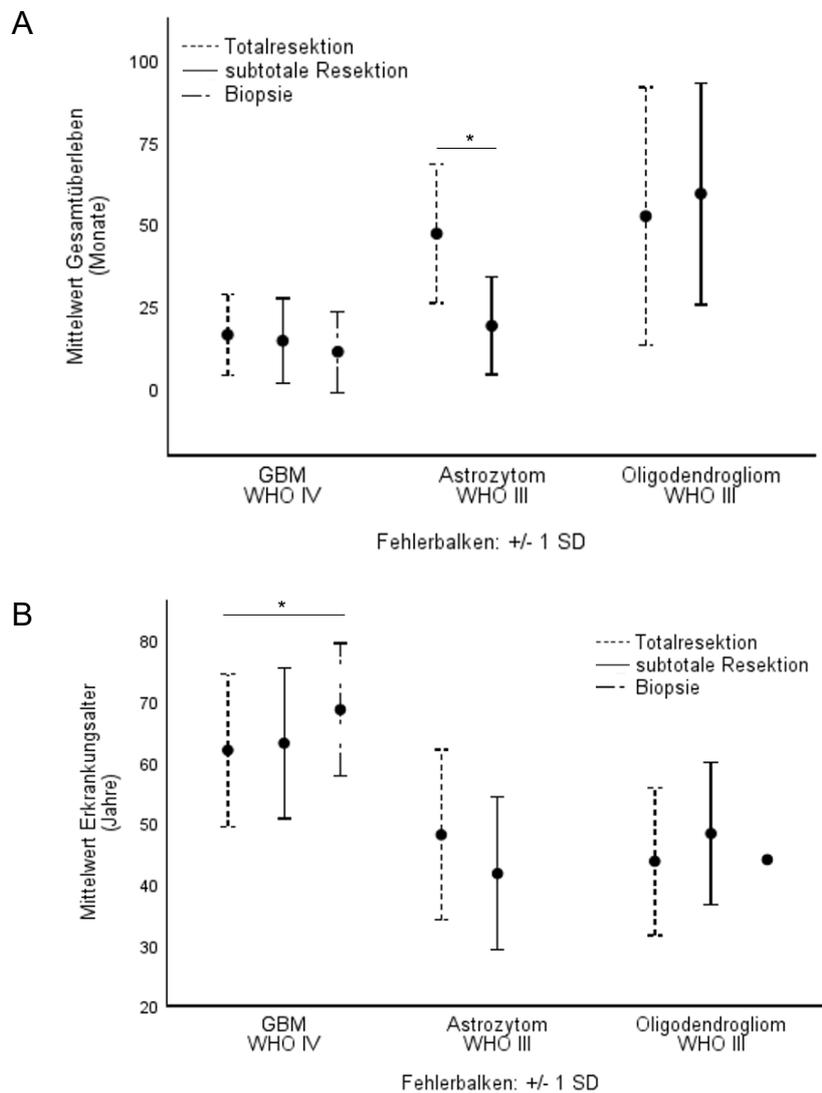


Abbildung 20: **Resektionsausmaß unter Betrachtung klinischer Aspekte.** Dargestellt ist der Vergleich der Mittelwerte zwischen den Gruppen hinsichtlich des **A** Gesamtüberlebens und **B** Erkrankungsalters zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Sternchen (*) markiert signifikante Werte.

3.1.5.2 Astrozytom WHO III

In der untersuchten Patientenkohorte mit Diagnose Astrozytom konnte bei 12 Patient:innen (46,2%) eine Totalresektion erfolgen. Eine subtotale Resektion wurde dagegen bei 14 (53,8%) etwas häufiger durchgeführt, eine Biopsie hingegen in keinem der Fälle.

Dabei konnte bei Patient:innen mit erfolgter Totalresektion ein höheres OS mit 47,50 Monaten berechnet werden, während diejenigen mit subtotaler Resektion im Durchschnitt 19,43 Monate kürzer lebten ($p=0,028$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 20A).

Außerdem war die Patientenkohorte mit Totalresektion und einem Erkrankungsalter von 48,08 Jahren bei Diagnosestellung im Vergleich zu denjenigen mit subtotaler Resektion und 41,71 Jahren jünger ($p=0,233$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 20B).

3.1.5.3 Oligodendrogliom WHO III

In der Patientenkohorte mit Oligodendrogliom erhielten 11 Personen (57,9%) eine Totalresektion und 7 Personen (36,8%) eine subtotale Resektion. Eine Biopsie wurde lediglich in einem Fall (5,3%) durchgeführt, sodass für letzteren weder ein mittleres Gesamtüberleben noch ein mittleres Erkrankungsalter erhoben werden konnte. Das Erkrankungsalter dieses Einzelfalls konnte auf 44 Jahre berechnet werden, wohingegen das Überleben des Erkrankten aufgrund der fehlenden Weiterverfolgung des Falls nicht ermittelt werden konnte.

Im Vergleich der beiden anderen Gruppen konnte ein kürzeres OS unter den Patient:innen mit erhaltener Totalresektion mit im Durchschnitt 52,80 Monaten, im Vergleich zu denjenigen mit erhaltener subtotaler Resektion von 59,67 Monaten, festgestellt werden ($p=0,811$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 20A).

Eine Totalresektion wurde darüber hinaus bei den jüngeren Betroffenen mit einem mittlerem Erkrankungsalter von 43,73 Jahren durchgeführt, während eine subtotale Resektion bei Erkrankten mit einem mittleren Erkrankungsalter von durchschnittlich 48,29 Jahren erfolgte ($p=0,731$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 20B).

Abschließend wurde für alle Tumorentitäten ein Kaplan-Meier-Diagramm zur Darstellung der Überlebenskurven unter Berücksichtigung der untersuchten Resektionsausmaße erstellt. Hierbei zeigte sich ein relevanter Trend, jedoch kein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven Totalresektion, subtotaler Resektion und Biopsie der Patient:innen mit GBM ($p=0,056$). In den Gruppen der Astrozytome und Oligodendrogliome konnte mittels Darstellung der Überlebenskurven ebenfalls kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,325$ bzw. $p=0,781$) (Abbildung 21).

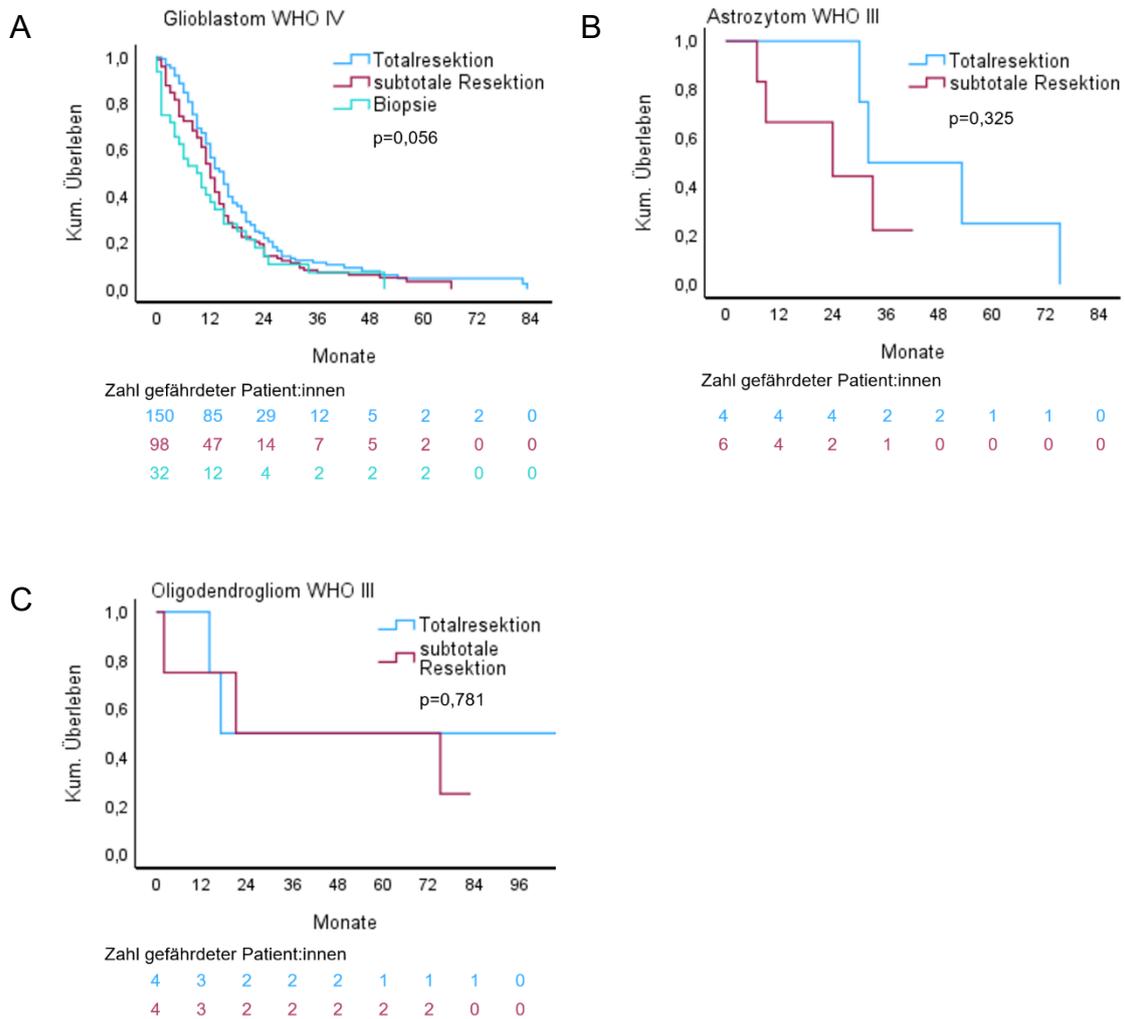


Abbildung 21: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des Tumorresektionsausmaß.** Die Kaplan-Meier-Diagramme zeigen die Überlebenskurven für Patient:innen mit **A** Glioblastom WHO IV, **B** Astrozytom WHO III und **C** Oligodendrogliom WHO III. Die Überlebenskurven aller Entitäten verhalten sich dabei nicht signifikant unterschiedlich zueinander.

3.1.6 Präoperatives Tumolvolumen

3.1.6.1 *Glioblastoma multiforme WHO IV*

Im Folgenden soll der Einfluss des präoperativen Tumolvolumens bezüglich dessen prognostischer Relevanz untersucht werden. Hierfür wurde anhand des Ergebnisses der durchgeführten Analyse eines Klassifikations- und Regressionsbaumes (CART-Analyse), ein Cut-Off-Wert von 20 Kubikzentimetern (cm³) festgelegt. Entsprechend wurden die Patient:innen in zwei Gruppen unterteilt, von welchen in 109 Fällen (41,0%) ein präoperatives Tumolvolumen von $\leq 20\text{cm}^3$ und in 157 Fällen (59,0%) eines von $>20\text{cm}^3$ detektiert werden konnte. Während sich das Erkrankungsalter in beiden Kohorten mit 62,99 ($>20\text{cm}^3$) bzw. 62,90 Jahren ($\leq 20\text{cm}^3$) sehr ähnlich verhielt ($p=0,310$), konnte ein signifikant längeres OS bei kleinerem präoperativem Tumolvolumen mit 19,60 im Vergleich zu 13,86 Monaten festgestellt werden ($p=0,003$).

3.1.6.2 *Astrozytom WHO III*

In der Patientenkohorte mit Astrozytom konnte mittels CART-Analyse kein prognostisch relevanter Cut-Off-Wert identifiziert werden, weshalb dieser für die weiteren Untersuchungen, in Anlehnung an die Auswertungen im GBM-Kollektiv, auf 20cm³ präoperatives Tumolvolumen festgelegt wurde. Mit drei Fällen eines präoperativem Tumolvolumens $\leq 20\text{cm}^3$ und 15 Fällen $>20\text{cm}^3$ konnten hierbei zwei kleine Subgruppen gebildet werden. Auch hier konnte bei den jüngeren Patient:innen ein größeres Tumolvolumen bei Diagnosestellung detektiert werden. Das mittlere Erkrankungsalter belief sich dabei auf 43,13 Jahren in der Kohorte mit einem präoperativem Tumolvolumen $>20\text{cm}^3$ im Vergleich zu 47 Jahren bei selbigem von $\leq 20\text{cm}^3$ ($p=0,762$, aber Fallzahl <30). Dagegen konnte für Letztere ein geringfügig kürzeres OS mit 31,00 im Vergleich zu 33,50 Monaten errechnet werden ($p=0,930$, aber Fallzahl <30).

3.1.6.3 *Oligodendrogliom WHO III*

Auch im Falle der Patient:innen mit Oligodendrogliom konnte mittels CART-Analyse hinsichtlich einer prognostischen Relevanz kein Cut-Off-Wert für das präoperative Tumolvolumen erörtert werden, weshalb auch hier, in Anlehnung

an die Auswertungen der GBM-Kohorte, ein Cut-Off-Wert von 20cm^3 für die weiteren Untersuchungen festgelegt wurde. Es konnten somit in beiden Gruppen sieben Fälle (50,0%) inkludiert werden. Hierbei ergab sich für die Subgruppe der Patient:innen mit präoperativem Tumolvolumen von $\leq 20\text{cm}^3$ mit 44,43 Jahren ein im Vergleich zur Gegengruppe (47,57 Jahre) jüngeres Erkrankungsalter ($p=,603$, aber Fallzahl <30). Weiterhin konnte bei kleinerem präoperativem Tumolvolumen ein mit 66,50 im Vergleich zu 53,33 Monaten längeres OS festgestellt werden ($p=0,642$, aber Fallzahl <30).

Die anschließend erstellten Kaplan-Meier-Diagramme bestätigen vorherige Annahme im Sinne der sich signifikant zueinander unterscheidenden Überlebenskurven in Abhängigkeit des präoperativen Tumolvolumens mit festgelegtem Cut-Off-Wert von 20cm^3 beim GBM ($p=0,009$). Folglich kann eine bessere Prognose der Patient:innen mit einem präoperativen Tumolvolumen $<20\text{cm}^3$ in diesem Patientenkollektiv abgeleitet werden. Im Falle der Astrozytome und Oligodendrogliome zeigte sich weiterhin kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Überlebenskurven ($p=0,605$ bzw. $p=0,590$) (Abbildung 22).

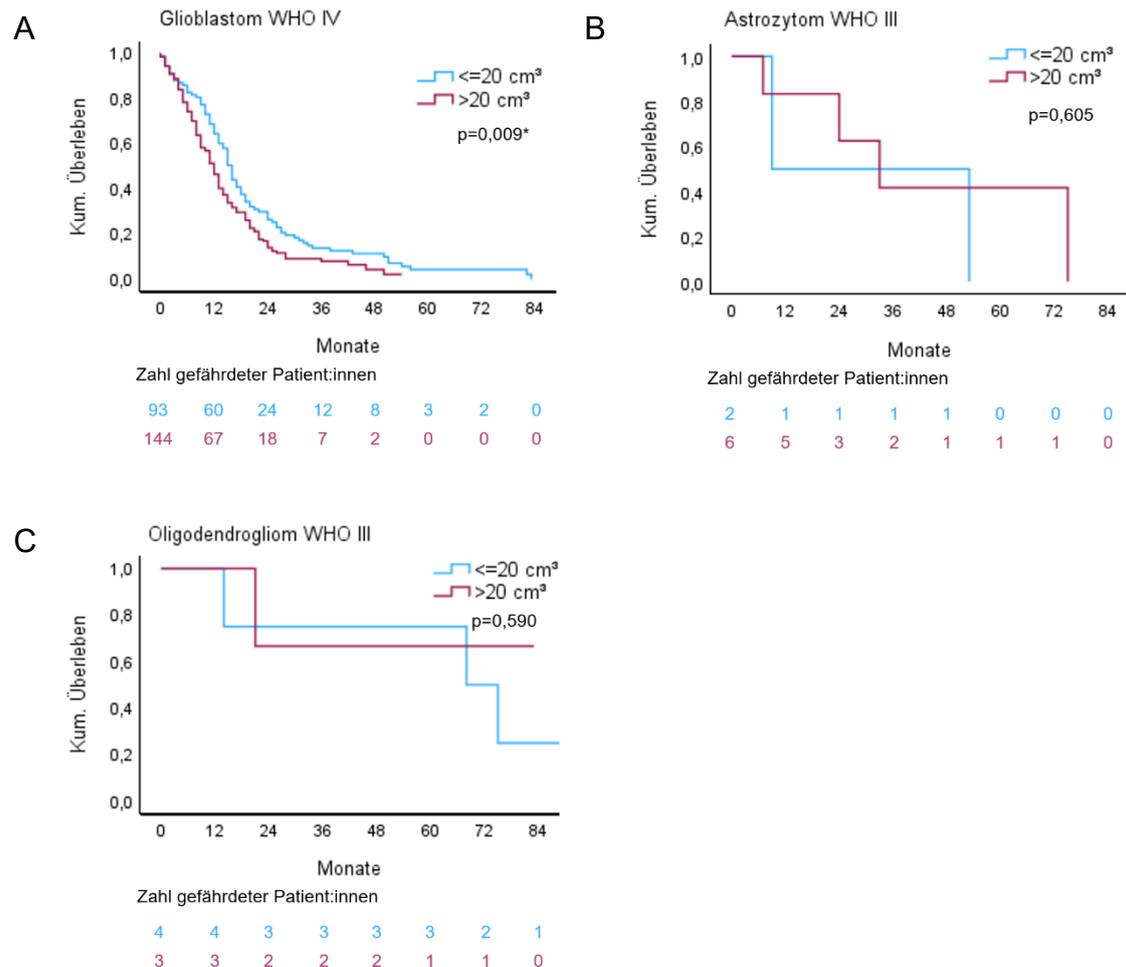


Abbildung 22: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des präoperativen Tumorumens.** Bei einem Cut-Off-Wert des präoperativen Tumorumens von 20cm³ kann ein signifikanter Unterschied (*) der Überlebenskurven für Patient:innen mit **A** Glioblastom WHO IV und ein nicht signifikanter Unterschied für Patient:innen mit **B** Astrozytom WHO III und **C** Oligodendrogliom WHO III, ableitet werden.

3.1.7 Therapie

3.1.7.1 Glioblastoma multiforme WHO IV

Unter den Erkrankten mit diagnostiziertem GBM wurden bei 124 (33,1%) eine reine Radiotherapie und bei 32 (8,5%) lediglich eine Chemotherapie durchgeführt. Die Standardtherapie einer konkomitanten Radiochemotherapie nach Stupp wurde bei 168 Patient:innen (44,8%) angewandt. Andere wenige Patient:innen (N=16, 4,3%) dieser Kohorte erhielten dagegen eine Behandlung im Rahmen einzelner durchgeführter Studien, wie z.B. des Studientherapiearms OSAG 101 (Nimotuzumab), einem monoklonalen EGFR-Antikörper. In sechs

Fällen (1,6%) wurde eine vom Standard differierende Therapie eingeleitet. Unter anderem durch Anwendung des Zytostatikums PC(V) im Anschluss an die Radiochemotherapie. Keine Weiterbehandlung nach erfolgter operativer Tumorsektion erhielten dagegen zwölf (3,2%) der in dieser Arbeit eingeschlossenen Patient:innen, während bei 17 (4,5%) der weitere Krankheitsverlauf nicht weiter nachverfolgt werden konnte (lost to follow up).

Für die folgenden Untersuchungen wurden die gängigen und am häufigsten eingesetzten Therapiemethoden Radiotherapie, Chemotherapie und Radiochemotherapie nach Stupp berücksichtigt.

Im Kollektiv der vorliegenden Arbeit zeigten sich die Patient:innen nach Erhalt einer Radiochemotherapie nach Stupp mit einem OS von 19,99 Monaten mit der besten Prognose im Vergleich zu 10,85 Monaten bei reiner Radiotherapie und 12,38 Monaten bei reiner Chemotherapie. Es konnte hierbei ein signifikanter Einfluss des Therapiekonzepts auf das Gesamtüberleben der Erkrankten beobachtet werden ($p < 0,001$). Unter genauerer Betrachtung der Einzelvergleiche der jeweiligen Therapien konnte im direkten Vergleich Radiotherapie zu Chemotherapie kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des OS der Betroffenen belegt werden ($p = 0,798$). Anders verhielt sich die Gegenüberstellung von Radiotherapie zu Stupp-Schema sowie Chemotherapie zu Stupp-Schema, wobei mit $p < 0,001$ bzw. $p = 0,004$ jeweils ein signifikant längeres OS bei Patient:innen mit Therapieregime nach Stupp beobachtet werden konnte (Abbildung 23A).

Im Folgenden wurden die einzelnen oben aufgeführten Therapiekonzepte bezüglich des Erkrankungsalters der Patient:innen untersucht. Mit einem mittleren Erkrankungsalter von 54,97 Jahren erhielten im Patientenkollektiv dieser Arbeit durchschnittlich die jüngeren Erkrankten die Standardtherapie nach Stupp. Hingegen wurde für die Gruppe der Radiotherapie ein mittleres Erkrankungsalter von 72,47 Jahren und für diejenige der Chemotherapie mit 71,16 Jahren ein höheres Alter bei Diagnosestellung berechnet. Daraus ergab sich ein signifikant jüngeres Erkrankungsalter für die Patient:innen, welche die Standardtherapie nach Stupp erhielten ($p < 0,001$). Der Einzelvergleich ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen Radiotherapie * Stupp-Schema ($p < 0,001$) und

Chemotherapie * Stupp-Schema ($p < 0,001$). Bei der Gegenüberstellung Radiotherapie * Chemotherapie konnte hingegen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des zugrunde liegenden Erkrankungsalters festgestellt werden ($p = 0,731$) (Abbildung 23B).

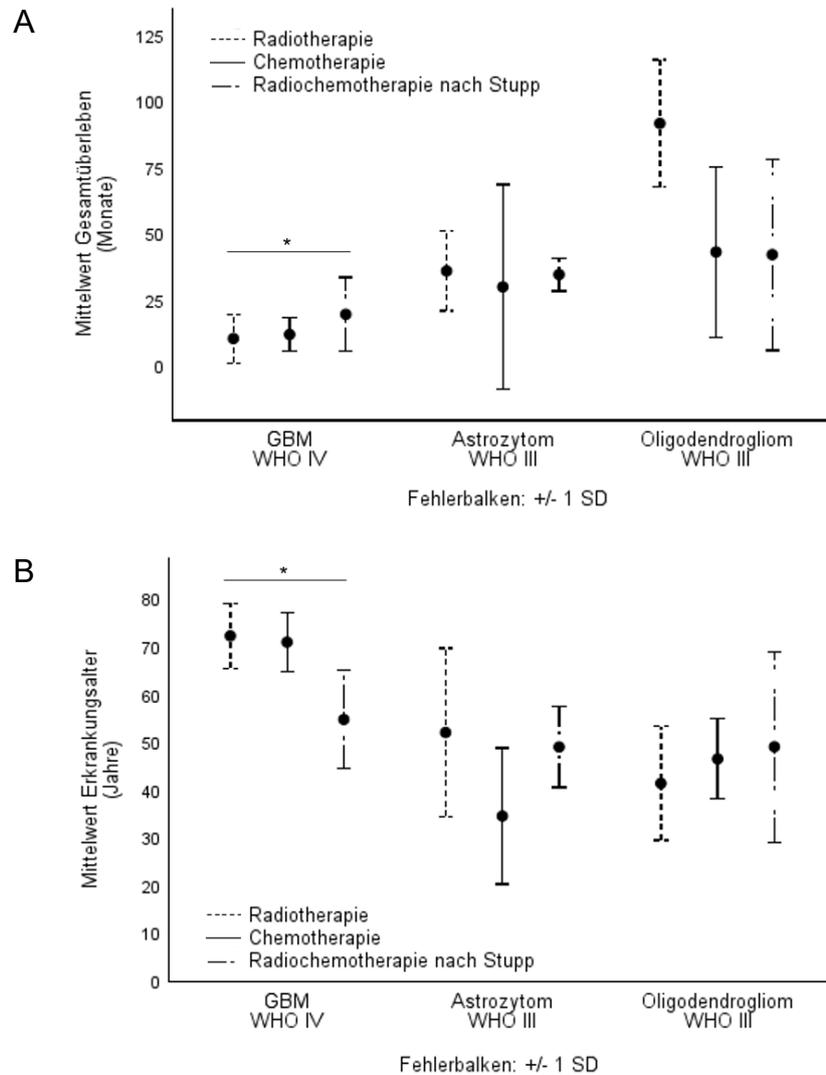


Abbildung 23: **Gewähltes Therapiekonzept unter Betrachtung klinischer Aspekte.** Dargestellt ist der Vergleich der Mittelwerte zwischen den Gruppen hinsichtlich des **A** Gesamtüberlebens und des **B** Erkrankungsalters. Sternchen (*) markiert signifikante Werte.

3.1.7.2 Astrozytom WHO III

Unter den Betroffenen mit Astrozytom erhielten mit 53,8% die Mehrzahl (N=14) eine Radiochemotherapie nach Stupp. In weiteren 15,4% der Fälle (N=4) wurde

jeweils eine reine Radiotherapie oder eine reine Chemotherapie durchgeführt. In jeweils einem Fall (3,8%) erfolgte keine Therapie bzw. lagen keine Informationen über das Therapieregime vor, wohingegen bei zwei Fällen (7,7%) ein lost to follow up dokumentiert war.

Das höchste OS unter den Patient:innen mit Astrozytom konnte bei denjenigen mit Radiotherapie als postoperative Weiterbehandlung mit 36,33 Monaten, gefolgt von 35,00 Monaten bei durchgeführter Radiochemotherapie nach Stupp und 30,33 Monaten bei erfolgter Chemotherapie festgestellt werden ($p=0,951$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 23A).

Während im Mittel die Patient:innen mit reiner Chemotherapie als postoperative Weiterbehandlung das jüngste Erkrankungsalter mit 34,75 Jahren inne hatten, belief sich dieses bei denjenigen mit Radiochemotherapie auf 49,21 Jahren, gefolgt von 52,25 Jahren bei durchgeführter Radiotherapie ($p=0,075$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 23B).

3.1.7.3 Oligodendrogliom WHO III

36,8% (N=7) mit Oligodendrogliom erhielten eine reine Chemotherapie. Eine reine Radiotherapie wurde bei fünf (26,3%), eine Radiochemotherapie nach Stupp dagegen in vier Fällen (21,1%) durchgeführt. Eine davon differierende, nicht genauer definierte, postoperative Weiterbehandlung konnte in drei Fällen (15,8%) verzeichnet werden.

Mit 92 Monaten konnten bei denjenigen mit lediglich erhaltener Radiotherapie das längste OS berechnet werden, gefolgt von 43,50 Monaten für die Gruppen Chemotherapie und 42,50 mit Radiochemotherapie nach Stupp ($p=0,258$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 23A).

Das mittlere Erkrankungsalter der Patient:innen mit Oligodendrogliom belief sich auf ein höheres Erkrankungsalter in aufsteigender Reihenfolge in den Gruppen Radiotherapie, Chemotherapie und Stupp-Schema auf 41,60, 46,71 und 49,25 Jahre ($p=0,664$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 23B).

Die durchgeführte Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier identifiziert die Wahl der postoperativen Weiterbehandlung als einen signifikanten prognostischen Faktor hinsichtlich des kumulativen Gesamtüberlebens der Patient:innen mit GBM ($p < 0,001$). Dahingegen unterschieden sich die Überlebenskurven unter den Erkrankten mit Astrozytom oder Oligodendrogliom unter Berücksichtigung der gewählten postoperativen Weiterbehandlung nicht signifikant voneinander ($p = 0,904$ bzw. $p = 0,394$) (Abbildung 24).

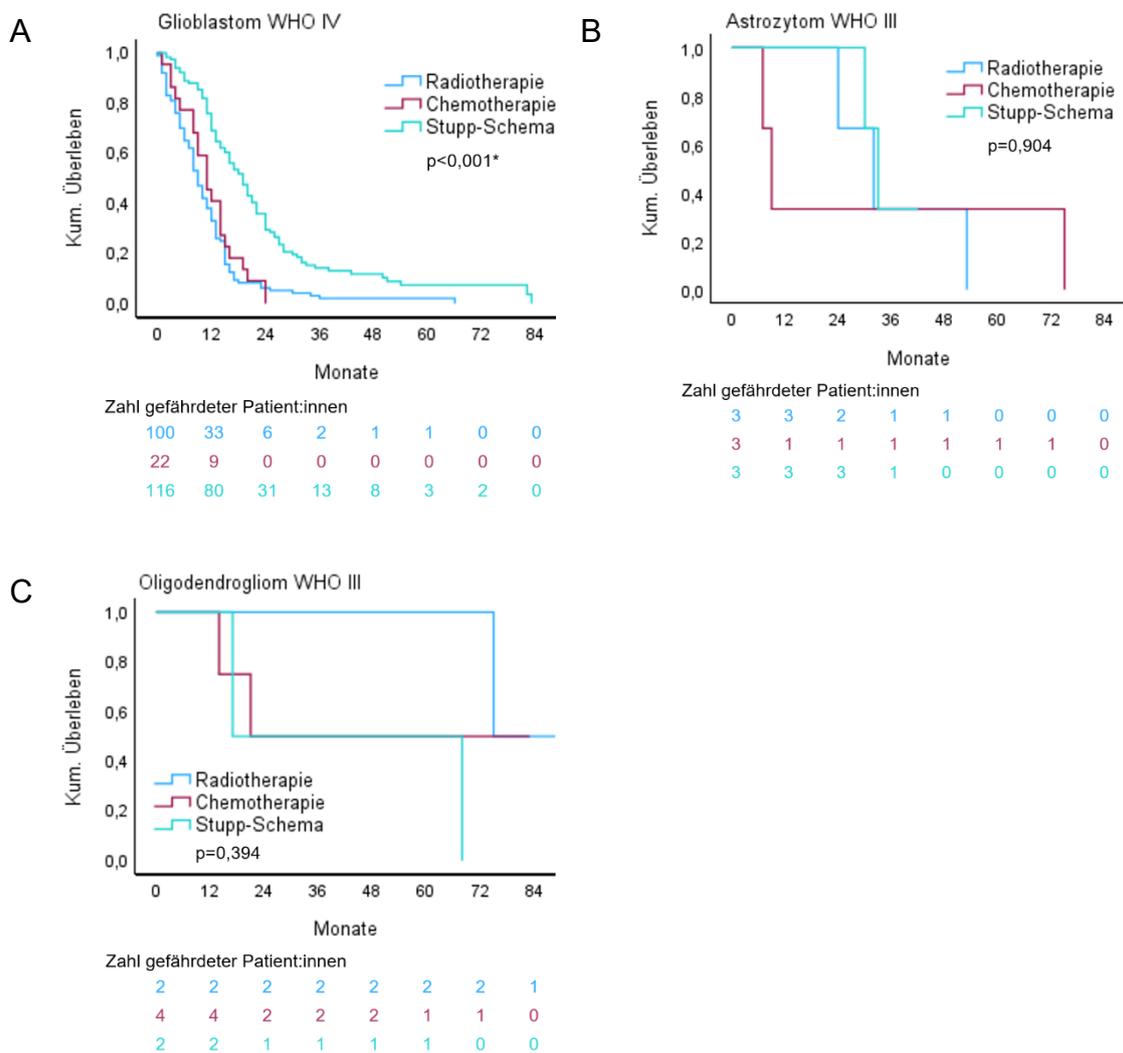


Abbildung 24: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des Therapieregimes.** Es kann ein signifikanter Unterschied (*) der Überlebenskurven für Patient:innen mit **A** Glioblastom WHO IV und ein nicht signifikanter Unterschied für Patient:innen mit **B** Astrozytom WHO III und **C** Oligodendrogliom WHO III in Abhängigkeit des gewählten Therapieregimes abgeleitet werden.

3.1.8 Lokalisation

3.1.8.1 Glioblastoma multiforme WHO IV

In der Kohorte dieser Arbeit konnten bei 378 Patient:innen die präoperative Lokalisation des Tumors klassifiziert werden, wohingegen diese in drei Fällen unbekannt blieb (fehlende präoperative Bildgebungen). Hierbei wurde der Frontal- (21,2%) und Temporallappen (22,5%) mit großem Abstand als häufigster Tumorklassifizierungsort identifiziert. Hingegen waren der Parietal- (6,6%) und der Okzipitalappen (2,1%) sowie das Diencephalon (3,4%) in diesem Patientenkollektiv jeweils in weniger als 10% aller Fälle betroffen. Eine infratentorielle Ausprägung konnte dagegen lediglich in einem Fall (0,3%) festgestellt werden. Weiterhin wiesen 26 Patient:innen (6,9%) bereits eine multizentrische Tumorausprägung und 19 (5,1%) einen mehr als zwei Hirnlappen übergreifenden Tumor auf (Abbildung 25).

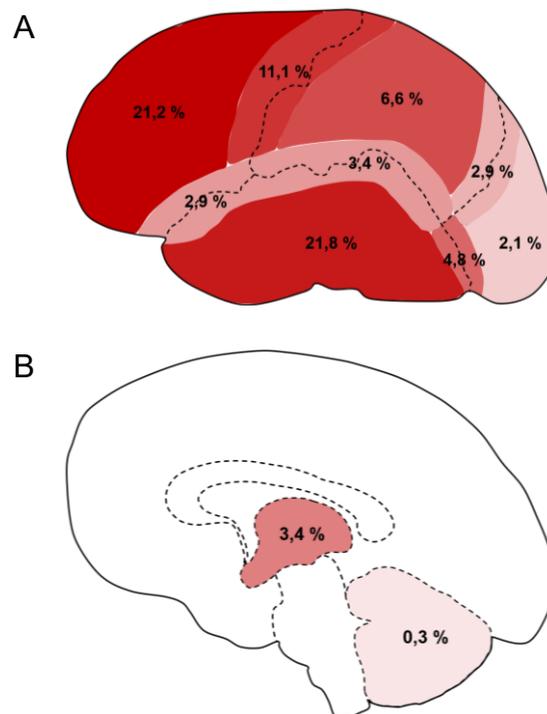


Abbildung 25: **Häufigkeitsverteilung der Tumorlokalisationen bei Patient:innen mit GBM** (eigene Darstellung). **A** Lokalisationen an den anatomischen Lappengrenzen orientierend, **B** Tumorlokalisation im Diencephalon und Cerebellum. Die Lokalisationshäufigkeit der dargestellten Areale nimmt dabei mit zunehmender Rotfärbung zu.

Im Folgenden wurden die häufigsten Lokalisationen auf deren prognostischen Wert bei Vorliegen eines GBM hin untersucht. Dabei zeigten sich die Patient:innen mit parietaler Tumorbeteiligung mit einem signifikant längerem OS mit 23,83 Monaten als jene Tumore an anderen Lokalisationen (14,82 Monaten) ($p=0,047$) (Abbildung 26). Zudem waren die Erkrankten mit parietaler Tumorlokalisierung mit im Durchschnitt 59,92 Jahren jünger als der Rest der Kohorte (63,41 Jahre), ohne jedoch das Signifikanzniveau zu erreichen ($p=0,142$).

Lokalisation	Glioblastom WHO IV		
	Anzahl	Prozentanteil	OS
zentral	42	11,1	14,88
temporal	85	22,5	16,09
frontal	80	21,2	17,22
parietal	25	6,6	23,83
okzipital	8	2,1	15,43
fronto-temporal	11	2,9	15,29
parieto-temporal	13	3,4	21,54
parieto-okzipital	11	2,9	21,29
temporo-okzipital	18	4,8	9,50
diencephal	13	3,4	12,64
Kleinhirn	1	0,3	19,00
multizentrisch	26	6,9	8,36
>2 Hirnlappen	19	5,0	10,11
andere	26	6,1	1,32

Abbildung 26: **Häufigkeitstabelle der Tumorlokalisierung mit Auflistung des dazugehörigen Gesamtüberlebens bei Patient:innen mit GBM.** Zu sehen ist ein im Vergleich höheres mittleres Gesamtüberleben (OS, englisch: overall survival) bei parietaler Tumorlokalisierung (grau hinterlegt).

Die Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier bestätigte obige Erkenntnisse. Auch hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied des kumulativen Überlebens zwischen parietaler und nicht parietaler Tumorbeteiligung ($p=0,019$) (Abbildung 27).

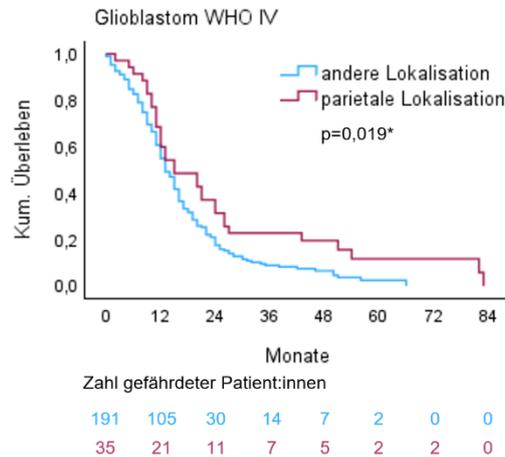


Abbildung 27: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit einer parietalen Tumorlokalisation.** Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied (*) des kumulativen Überlebens der Patient:innen mit Glioblastom WHO IV unter Berücksichtigung einer parietalen und nicht parietalen Tumorausbreitung.

3.1.8.2 Astrozytom WHO III

Unter den 29 Patient:innen mit Astrozytom konnten bei elf und somit mit 42,3% der großen Mehrzahl an Betroffenen eine frontale Tumorlokalisation festgestellt werden. Ein temporaler oder parietaler Tumor zeigte sich in jeweils zwei Fällen (7,7%). Allen anderen Hirnregionen konnte lediglich ein einziger Fall (3,8%) zugeordnet werden.

3.1.8.3 Oligodendrogliom WHO III

Von 18 Betroffenen mit Oligodendrogliom konnten 17 eine eindeutige Tumorlokalisation zugeordnet werden. Dabei war auch hier ein den Frontallappen betreffender Tumor in zehn Fällen und somit mit 55,6% weit über der Hälfte aller erkrankten Personen vertreten. Außerdem war die temporale und diencephale Ausprägung mit jeweils zwei dokumentierten Fällen und 11,1% häufiger betroffen als alle anderen Regionen ohne Nachweis oder lediglich einmaligem Tumornachweis.

3.2 Molekulare prognostische Marker

3.2.1 MGMT

3.2.1.1 Glioblastoma multiforme WHO IV

Im Patientenkollektiv der GBM wurde in 149 Fällen (40,3%) ein methylierter und in 206 Fällen (59,7%) ein unmethylierter MGMT-Status dokumentiert.

Hinsichtlich des mittleren Erkrankungsalters bei Diagnosestellung konnte mit 64,01 Jahren der Kohorte mit methyliertem und 63,29 Jahren bei denjenigen mit unmethyliertem MGMT-Status kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,592$).

Anders verhielt es sich bei Gegenüberstellung des mittleren Gesamtüberlebens beider Gruppen. Hier wurde mit 17,55 Monaten ein signifikant längeres OS bei vorliegender MGMT-Methylierung im Vergleich zu 13,15 Monaten bei fehlender Methylierung berechnet ($p=0,004$). In der durchgeführten Kaplan-Meier-Analyse zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven beider untersuchten Kohorten ($p=0,003$) (Abbildung 28A).

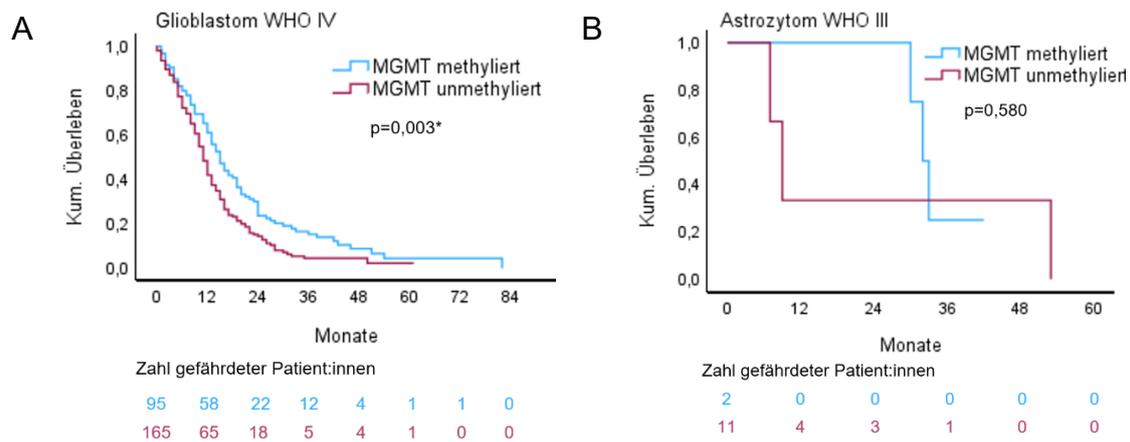


Abbildung 28: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit MGMT-Status.** Es zeigt sich ein signifikant (*) längeres Überleben bei Patient:innen mit methyliertem MGMT-Status beim **A** Glioblastom WHO IV, nicht aber beim **B** Astrozytom WHO III.

3.2.1.2 Astrozytom WHO III

Bei den Astrozytomen konnte eine ausgeglichene Verteilung des Methylierungsstatus von MGMT mit 13 Fällen (54,2%) eines methylierten und weiteren 11 (45,8%) mit unmethyliertem MGMT-Status innerhalb der Gruppe beobachtet werden.

Während die Erkrankten mit MGMT+ ein mittleres Erkrankungsalter von 48,31 Jahren aufwiesen, erkrankten diejenigen ohne MGMT-Methylierung mit 42,45 Jahren bereits in einem jüngeren Alter ($p=0,305$, aber Fallzahl <30).

Bei den Patient:innen mit methyliertem MGMT-Status belief sich das OS auf 31,40 Monate, während diejenigen mit unmethyliertem MGMT-Status mit einem OS von 17,50 Monaten länger lebten ($p=0,335$, aber Fallzahl <20). Die Darstellung der Überlebenskurven nach Kaplan-Meier zeigte diesbezüglich keinen signifikanten Unterschied der beiden Gruppen ($p=0,580$, aber Fallzahl <30) (Abbildung 28B).

3.2.1.3 Oligodendrogliom WHO III

Mit 78,6% (N=11) war im Kollektiv der Oligodendrogliome der methylierte MGMT-Status häufiger repräsentiert als in dessen Gegengruppe mit 21,4% (N=3).

Für die Fälle mit MGMT+ konnte ein mittleres Erkrankungsalter bei Diagnosestellung von 45,82 Jahren berechnet werden, wohingegen diejenigen mit unmethyliertem MGMT-Status im Mittel unwesentlich später im Alter von 47,00 Jahren erkrankten ($p=0,915$, aber Fallzahl <30).

Während bei den Oligodendrogliomen mit methyliertem MGMT-Status ein OS von 51,00 Monaten festgestellt wurde, konnte nur in einem einzigen Fall der Patient:innen mit unmethyliertem MGMT-Status das OS berechnet werden. Dies belief sich auf 68,00 Monate. Auf einen Vergleich der Mittelwerte sowie auf eine Durchführung der Kaplan-Meier-Analyse wurde aufgrund dessen verzichtet.

3.2.2 H3K27me3

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 423 geeignete Patientenproben identifiziert. Unter Berücksichtigung der Ausschlusskriterien (s. Kapitel 2.6.3 Ausschlusskriterien) konnten insgesamt 356 GBM, 25 Astrozytome und 28 Oligodendrogliome für die immunhistochemische Bestimmung von H3K27me3 einbezogen werden. Von 103 zu TMA zusammengefassten Rezidivtumoren konnten 100, davon 87 mit GBM, vier mit Astrozytom und weitere neun mit Oligodendrogliom für die weitere immunhistochemischen Untersuchungen von H3K27me3 gewonnen werden.

3.2.2.1 Häufigkeitsverteilung der Ausprägungsgrade

3.2.2.1.1 *Glioblastoma multiforme WHO IV*

Im Folgenden wurde die Verteilungshäufigkeit der immunhistochemischen Ausprägungsgrade von H3K27me3 im GBM untersucht. Hierbei stellte die „mäßige Ausprägung“ (Score 2) dieser epigenetischen Modifikation den am häufigsten festgestellten molekularen Status mit 31,2%, entsprechend 111 Fällen, dar. Lediglich bei 18 Tumorproben (5,1%) konnte ein vollständiger Verlust (Score 0) der Trimethylierung und somit eine mutmaßliche Mutation festgestellt werden. Ein ganzheitliches Auftreten (Score 4) von H3K27me3 lag hingegen in 65 Fällen (18,3%) vor (Abbildung 29A). Der Median belief sich auf den Score 2.

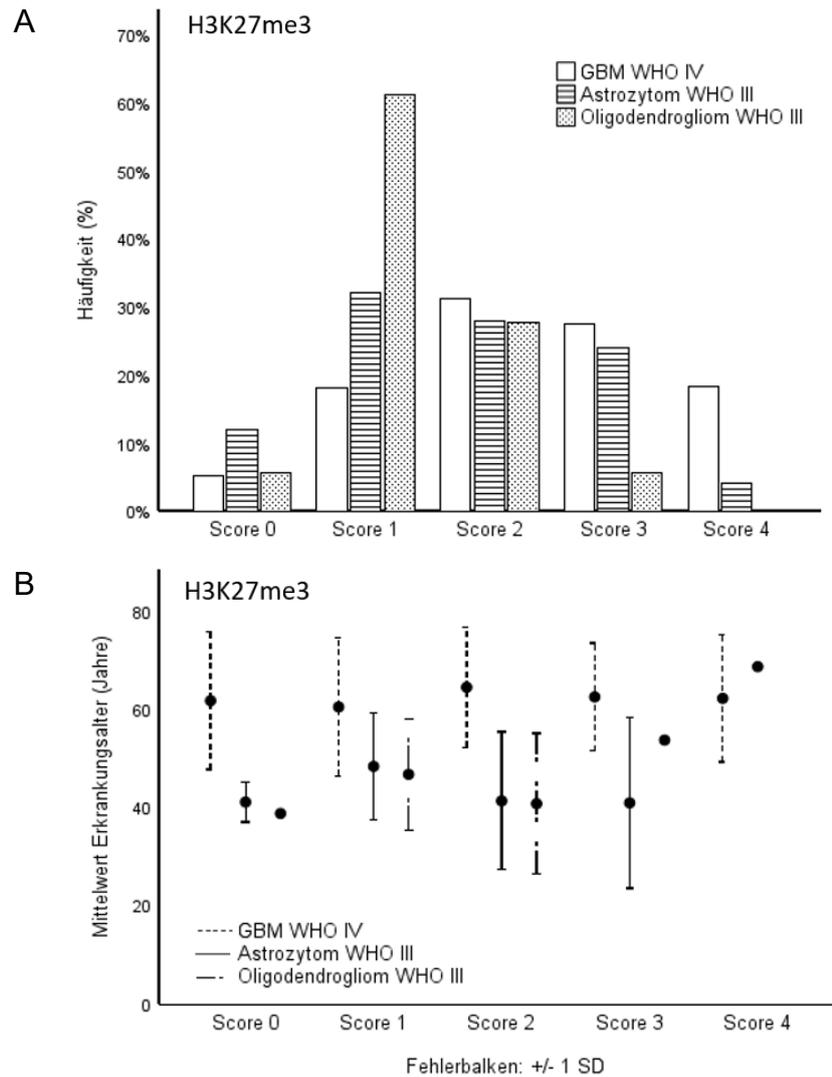


Abbildung 29: **Charakteristika der Patientenkohorte unter Betrachtung von H3K27me3.** **A** Verteilung der Ausprägungsgrade von H3K27me3 im Primärtumor in Abhängigkeit der Tumorentität **B** Mittleres Erkrankungsalter nach Ausprägungsgrad von H3K27me3 in Abhängigkeit der Tumorentität.

Im Folgenden wurde die epigenetische Mutation H3K27me3 unter Berücksichtigung des *Erkrankungsalters* untersucht. Hierbei zeigte sich eine Normalverteilung der Ausprägungsgrade mit Tendenz eines höheren Erkrankungsalters mit zunehmender Stärke der Expression. So waren die Patient:innen mit „geringer Ausprägung“ (Score 1) von H3K27me3 mit im Durchschnitt 60,77 Jahren am jüngsten. Das höchste Erkrankungsalter hatten dagegen diejenigen mit einer „mäßigen Ausprägung“ (Score 2) mit 64,79 Jahren inne. Für die Scores 0, 3 und

4 belief sich das mittlere Erkrankungsalter auf 62,06, 62,82 und 62,52 Jahre ($p=0,338$) (Abbildung 29B). Weiterhin konnte kein signifikanter Unterschied bei Gegenüberstellung der Kohorten mit H3K27me3-Verlust und H3K27me3-Retention mit 62,06 bzw. 63,02 Jahren festgestellt werden ($p=0,536$). Zur weiteren Beurteilung der Rolle von H3K27me3 auf das Erkrankungsalter beim GBM wurden die Fälle zudem anhand des therapielevanten Cut-Off-Werts von 70 Jahren unterteilt und ebenfalls verglichen. In beiden Gruppen belief sich der Median auf einen Score von 2, sodass mit $p=0,932$ auch hier kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte.

Weiterhin wurde die H3K27me3-Expression in Abhängigkeit des *Geschlechts* ausgewertet. Dabei spiegelte die Häufigkeitsverteilung die der Gesamtkohorte wider. So war eine „mäßige Ausprägung“ (Score 2) sowohl beim männlichen als auch beim weiblichen Geschlecht gleichermaßen mit 28,5% bzw. 35,6% am häufigsten vertreten, wohingegen eine Mutation und somit der vollständige Verlust von H3K27me3 (Score 0) in 6,8% bzw. 2,2% der Fälle dokumentiert wurde. Der Median in der männlichen Kohorte kann diesbezüglich mit dem Score 2 angegeben werden, wohingegen im weiblichen Kollektiv ein Median des Scores 3 berechnet wurde. Daraus ergab sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der H3K27me3-Expression in Abhängigkeit des Geschlechts ($p=0,047$).

Bezüglich der *Tumorlokalisation* konnte im Folgenden keine relevanten Expressionsunterschiede von H3K27me3 abgegrenzt werden. Insbesondere bei des in dieser Arbeit zuvor detektierten prognostischen Werts einer parietalen Tumorbeileiligung (s. Kapitel 3.1.8 Lokalisation) konnte keine gegensätzliche Zuteilungshäufigkeit der Scores festgestellt werden. Auch diesbezüglich war in beiden Gruppen die „mäßige Ausprägung“ (Score 2) von H3K27me3 in der Mehrzahl der Fälle mit 29,2% bzw. 31,0% einer parietalen bzw. nicht-parietalen Lokalisation vertreten. Eine Mutation (Score 0) konnte in lediglich 4,2% bzw. 5,2% der Tumorproben detektiert werden. Für beide Gruppen wurde der Median mit Score 2 berechnet und ließ demnach mit $p=0,969$ keine signifikanten Expressionsunterschiede von H3K27me3 hinsichtlich einer parietalen Tumorlokalisation erkennen.

Zuletzt wurde die Verteilung der Ausprägungsgrade von H3K27me3 in Abhängigkeit des *KPS* mit Cut-Off-Wert von 70% ausgewertet. Während bei den Patient:innen mit $KPS \geq 70\%$ bei Diagnosestellung eines GBM der Score 2 (32,5%) zumeist exprimiert wurde, war dies in der Vergleichsgruppe mit $KPS < 70\%$ der Score 3 (36,0%). Ein H3K27me3-Verlust wurde in 6% der Fälle mit $KPS < 70\%$ und 4,9% der Fälle mit $KPS \geq 70\%$ festgestellt. Auch in dieser Gegenüberstellung belief sich der Median beider Gruppen auf einen Score von 2, sodass auch hinsichtlich des *KPS* kein signifikanter Unterschied der Verteilung der H3K27me3-Expression festgestellt werden konnte ($p=0,167$).

3.2.2.1.2 Astrozytom WHO III

In der Kohorte der an einem Astrozytom erkrankten Personen war eine „geringe Ausprägung“ (Score 1) von H3K27me3 in acht Fällen und somit mit 32,0% am häufigsten vertreten. Einen vollständigen Verlust dergleichen konnte dagegen bei drei (12,0%) der untersuchten Tumorproben festgestellt werden (Abbildung 29A). Der Median belief sich dabei auf den Score 2.

Inwiefern das *Erkrankungsalter* bei diagnostiziertem Astrozytom einen Zusammenhang mit dem Ausprägungsgrad von H3K27me3 zeigt, soll im Folgenden untersucht werden. Dazu wurden die Tumorproben, nach Scores geordnet, in Gruppen unterteilt. Bei Diagnosestellung eines Astrozytoms am jüngsten waren dabei mit im Durchschnitt 41,17 Jahren die Patient:innen mit starker Ausprägung (Score 3) der epigenetischen Modifikation. Das älteste Erkrankungsalter wies der durch einen einzigen Fall vertretene Score 4 mit 69 Jahren auf. Für die weiteren Scores 0,1 und 2 belief sich das mittlere Erkrankungsalter auf 41,33, 48,63 bzw. 41,57 Jahre (Abbildung 29B). Mit 41,33 im Vergleich zu 45,27 Jahren konnte außerdem bei den Erkrankten mit vollständigem H3K27me3-Verlust ein signifikant jüngeres Erkrankungsalter festgestellt werden ($p=0,043$). Es erfolgte weiterhin eine Gegenüberstellung zweier Kohorten hinsichtlich eines Cut-Off-Werts von 40 Jahren. Hierbei belief sich der Median für die Gruppe ≤ 40 Jahre auf 2 und bei deren Vergleichsgruppe > 40 Jahre auf 1,5 ($p=0,673$, aber Fallzahl < 30).

Im Folgenden wurde die Häufigkeitsverteilung der epigenetischen Modifikation in Abhängigkeit des *Geschlechts* untersucht. Unter den weiblichen Patient:innen

zeichnete sich die Expression von H3K27me3 als Score 1 mit 66,7% in der großen Mehrzahl der Fälle ab. Dagegen konnte der Score 2 in keinem des weiblichen Patientenkollektivs festgestellt werden, stellte mit 43,8% jedoch die am häufigsten vertretene Expression von H3K27me3 im männlichen Geschlecht dar. Ein kompletter Verlust bei vorliegender Mutation konnte lediglich in einem Fall (11,1%) in der weiblichen und in zwei Fällen (12,5%) in der männlichen Kohorte erfasst werden. Der Median belief sich beim weiblichen auf einen Score von 1 und beim männlichen Geschlecht auf einen Score von 2 ($p=0,629$, aber Fallzahl <30).

Die allermeisten Patient:innen mit Astrozytom erhielten bei Diagnosestellung einen $KPS \geq 70\%$. Aufgrund dessen war die Untersuchung der Häufigkeitsverteilung von H3K27me3 unter Betrachtung des KPS obsolet.

3.2.2.1.3 Oligodendrogliom WHO IV

Im Patientenkollektiv mit diagnostiziertem Oligodendrogliom zeigt sich eine klare Tendenz in Richtung einer schwachen Ausprägung der epigenetischen Modifikation von H3K27me3. So war hier der Score 1 mit anteilmäßig 61,1% mit Abstand am häufigsten vertreten. Ein vollständiger Verlust (Score 0) konnte hingegen nur in einem Fall (5,6%) eine „maximale Ausprägung“ (Score 4) hingegen in keiner der immunhistochemisch untersuchten Tumorproben festgestellt werden (Abbildung 29A). Der Median belief sich hierbei auf den Score 1.

Bei der Analyse der prognostischen Faktoren im Kollektiv der Patient:innen mit diagnostiziertem Oligodendrogliom war mit zunehmender Stärke der H3K27me3-Expression ein höheres *Erkrankungsalter* zu beobachten. Während bei vorliegender Mutation und somit komplettem Verlust der Trimethylierung des Histons 3 an Stelle 27 der einzige vorhandene Fall ein Erkrankungsalter von 39 Jahren aufwies, belief sich das Erkrankungsalter in aufsteigender Reihenfolge für die Scores 1, 2 und 3 auf 47, 41 und 54 Jahre. Eine maximale Ausprägung jener epigenetischen Modifikation lag in keinem der untersuchten Fälle vor, sodass hier kein mittleres Erkrankungsalter abgeleitet werden konnte (Abbildung 29B). Der für die weitere Analyse eingeführte Cut-Off-Wert des Erkrankungsalters von 40 Jahren zeigte für die beiden Gruppen unterschiedliche Mediane der Scores.

Dabei belief sich der Median bei den jüngeren (≤ 40 Jahre) auf den Score 1,5, wohingegen für die älteren Erkrankten (> 40 Jahre) der Median mit dem Score 1 angegeben werden kann ($p=0,344$, aber Fallzahl < 30).

Im Weiteren wurde die Häufigkeitsverteilung der nukleären Anfärbung durch entsprechende Antikörper unter Berücksichtigung des *Geschlechts* untersucht. Bei jeweils vier Patientinnen (50%) lag der Score 1 bzw. 2 vor. Ähnlich zur Gesamtkohorte (64,7%) war beim männlichen Geschlecht (70,0%) ebenfalls der Score 1 unter allen Tumorproben am häufigsten exprimiert. Während bei den Frauen ein Score von 1,5 als Median berechnet wurde, belief sich dieser bei den Männern auf den Score 1 ($p=0,321$, aber Fallzahl < 30).

Allen Patient:innen mit Oligodendrogliom konnte bei Diagnosestellung ein *KPS* $\geq 70\%$ zugeteilt wurde. Aufgrund dessen war die Untersuchung der Häufigkeitsverteilung von H3K27me3 unter Betrachtung des *KPS* obsolet.

3.2.2.2 H3K27me3 als prognostischer Faktor

3.2.2.2.1 *Glioblastoma multiforme WHO IV*

Das längste OS im Patientenkollektiv mit GBM wies mit 16,12 Monaten die Gruppe der „starken Ausprägung“ (Score 3) auf, während mit lediglich 12,33 Monaten diejenigen mit komplettem H3K27me3-Verlust (Score 0) nach der kürzesten Zeit verstarben. Für die Scores 1, 2 und 4 konnte dagegen ein OS von 15,46, 15,03 und 15,28 Monaten berechnet werden. Beim Vergleich der Mittelwerte konnte keine Signifikanz hinsichtlich des Gesamtüberlebens in Abhängigkeit der H3K27me3-Expression festgestellt werden ($p=0,851$). Auch der Vergleich einzelner Scores lieferte diesbezüglich kein signifikantes Ergebnis.

Dennoch wurde im nächsten Abschnitt eine genauere Untersuchung von H3K27me3 als prognostischer Faktor durchgeführt. Dazu erfolgte die Unterteilung des Patientenkollektivs in eine Gruppe mit vollständigem H3K27me3-Verlust und in eine Weitere mit H3K27me3-Retention. Dabei zeigten die Patient:innen mit H3K27me3-Verlust eine ungünstigere Prognose mit einem OS von 12,33 Monaten im Vergleich zu denjenigen mit vorliegender Retention mit 15,49 Monaten, allerdings ohne statistische Signifikanz ($p=0,359$). Zusätzlich wurden die Cut-

Off-Werte 25% (Score 1), 50% (Score 2) und 75% (Score 3) beleuchtet. Dabei zeigten die statistischen Tests zum Vergleich der Mittelwerte zweier Gruppen für keinen der untersuchten Cut-Off-Werte einen statistisch signifikanten Unterschied bezüglich des OS. Die p-Werte können hierbei mit $p=0,755$, $p=0,506$ und $p=0,978$ angegeben werden.

Nachfolgend wurden die oben eingeführten Cut-Off-Werte in Kaplan-Meier-Überlebenskurven dargestellt und ausgewertet. Es zeigte sich in keiner der Untersuchungen ein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven. Lediglich bei der Untersuchung der Fälle auf einen vollständigen Verlust dergleichen zeigt sich zwar kein signifikanter Unterschied ($p=0,107$), allerdings ein Trend hinsichtlich einer prognostisch ungünstigeren Situation bei Vorliegen einer Mutation. Bei allen weiteren untersuchten Cut-Off-Werten (25%, 50%, 75%) lässt sich keine Tendenz mit entsprechend hohen p-Werten hinsichtlich der Unterschiede im kumulativen Gesamtüberleben abbilden ($p=0,459$, $p=0,273$, $p=0,861$) (Abbildung 30).

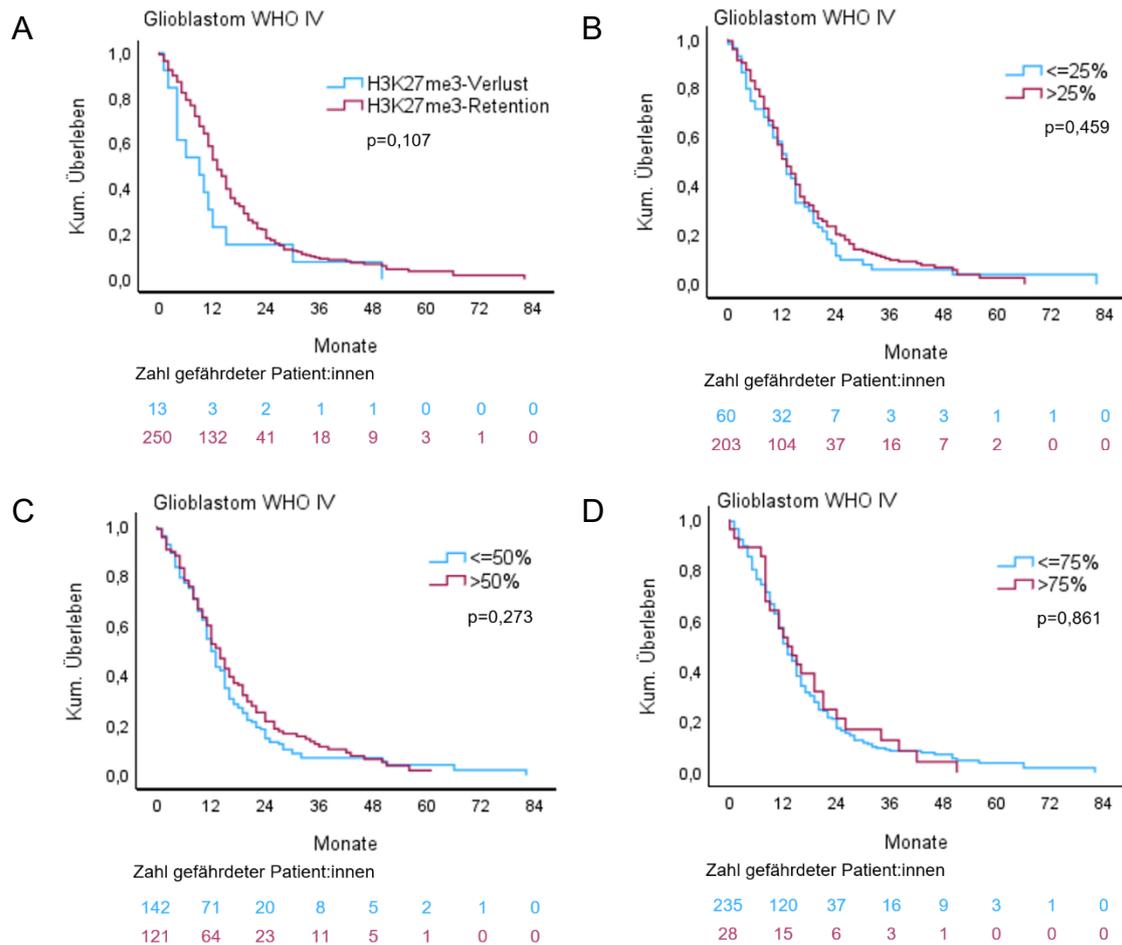


Abbildung 30: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K27me3 im Glioblastom WHO IV.** Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven unter Betrachtung des **A** vollständigen Verlusts von H3K27me3 sowie der Cut-Off-Werte **B** 25%, **C** 50% und **D** 75%.

3.2.2.2.2 Astrozytom WHO III

Das längste OS mit 42,00 Monaten konnte bei denjenigen Fällen mit Score 2 beobachtet werden, gefolgt von 41,50 Monaten in der Gruppe mit Score 1. Dem Score 0 bzw. Score 4 konnten lediglich eine Patientenprobe zugeteilt werden, welche ein OS von 33,00 bzw. 32,00 Monaten aufwiesen. Mit 13 Monaten lebten die Betroffenen mit Score 3 im Durchschnitt am kürzesten ($p=0,574$, aber Fallzahl <30).

Weiterhin wurde die Kohorte mit H3K27me3-Verlust denjenigen mit vorliegender Retention gegenübergestellt. Außerdem wurden die Cut-Off-Werte 25% (Score

1), 50% (Score 2) und 75% (Score 3) betrachtet. Da der Score 0 und der Score 4 im Kollektiv lediglich mit einem Fall vertreten waren, konnte für diese Cut-Off-Werte keine Kaplan-Meier-Analyse erfolgen. Im Übrigen konnte unter Betrachtung der Überlebenskurven bei keinem der oben eingeführten Entscheidungswerte ein signifikanter Unterschied des zu erwartenden kumulativen Gesamtüberlebens festgestellt werden. Den niedrigsten p-Wert und somit am nächstem am Signifikanzniveau war hingegen bei dem Cut-Off-Wert 50% mit $p=0,100$ zu erkennen (Abbildung 31).

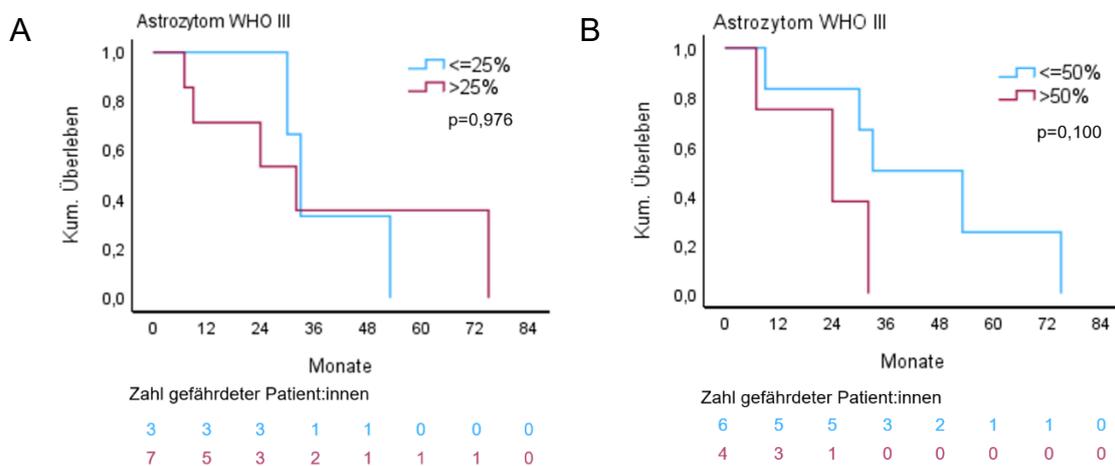


Abbildung 31: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K27me3 im Astrozytom WHO III.** Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven unter Betrachtung der Cut-Off-Werte von **A** 25% und **B** 50%.

3.2.2.2.3 Oligodendrogliom WHO III

Im Weiteren wurde das mittlere Gesamtüberleben der Betroffenen nach Diagnosestellung eines Oligodendroglioms untersucht. Hierbei war der Score 1 mit sechs Fällen vertreten und zeigte ein OS von 59,00 Monaten. Die Scores 2 und 3 wurden hingegen lediglich in einem einzigen Fall beobachtet. Diese verstarben 68,00 bzw. 21,00 Monate nach Diagnosestellung ($p=0,635$, aber Fallzahl <30). Für den Score 0 und 4 konnten keine Tumorproben gefunden werden, sodass hier eine Analyse des mittleren Gesamtüberlebens ausblieb.

Auch im Patientenkollektiv mit Oligodendrogliom erfolgte eine Unterteilung der Kohorte entsprechend des zuvor definierten Cut-Off-Werts 25% (Score 1). Da

der Score 0 und 4 im Kollektiv nicht vertreten war und zudem lediglich in einem Fall eine Expression >50% gezeigt werden konnte, wurde auf die Analysen weiterer Cut-Off-Werte verzichtet.

Die durchgeführte Kaplan-Meier-Analyse zeigte keinen signifikanten Unterschied des kumulativen Gesamtüberlebens in Abhängigkeit des untersuchten Cut-Off-Werts 25% ($p=0,590$) (Abbildung 32).

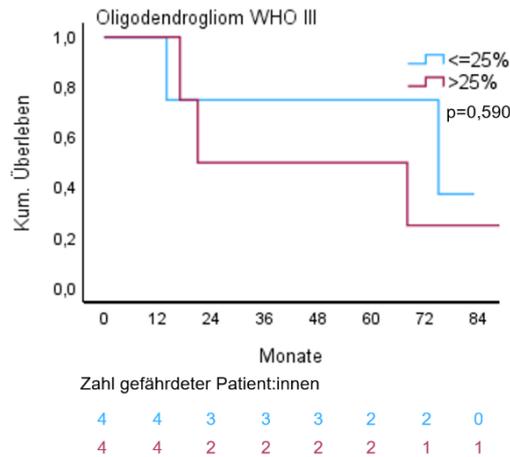


Abbildung 32: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K27me3 im Oligodendrogliom WHO III.** Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven unter Betrachtung des Cut-Off-Werts von 25%.

3.2.2.3 Progressionsfreies Überleben und H3K27me3

3.2.2.3.1 Glioblastoma multiforme WHO IV

Im Kollektiv der Patient:innen mit GBM konnte ein mittleres progressionsfreies Überleben (PFS) von 8,65 Monaten berechnet werden. Hierbei erstreckte sich die PFS-Spanne zwischen 0 und 53,00 Monaten.

Im Weiteren soll der Einfluss des Scores im Primärtumor auf das PFS untersucht werden. Dafür wurde das PFS der Patient:innen mit GBM in Abhängigkeit ihres im Primärtumor festgelegten H3K27me3-Scores untersucht. Es zeigte sich hierbei das kürzeste PFS bis zum Auftreten eines Rezidivtumors von 5,25 Monaten in der Gruppe mit vorliegender Mutation, also dem vollständigen Verlust von H3K27me3 (Score 0). Das längste PFS konnte hingegen in der Gruppe mit Score

1 mit 9,06 Monaten beobachtet werden. Bei Vorliegen einer maximalen Ausprägung (Score 4) trat durchschnittlich nach 8,95 Monaten ein Rezidivtumor auf. Ein Vergleich der Mittelwerte des PFS in Abhängigkeit der Expression von H3K27me3 ergab keinen signifikanten Unterschied ($p=0,596$).

Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde die Patientenkohorte im Folgenden in zwei Gruppen unterteilt, wobei der Ersten diejenigen Fälle mit Score 0 und der Zweiten diejenigen mit einem Score >0 im Primärtumor zugeteilt wurden. Die Zeit bis zum Auftreten des Rezidivtumors belief sich auf 5,25 Monate bei den Fällen mit H3K27me3-Verlust im Vergleich zu 8,92 Monaten in der Vergleichsgruppe. Hieraus ergab sich ein signifikant kürzeres PFS bei H3K27me3-Verlust im Vergleich zur Retention dergleichen ($p<0,001$). Auch im Kaplan-Meier-Diagramm zeigten sich die progressionsfreien Überlebenskurven beider Gruppen signifikant unterschiedlich zueinander mit einem progressionsfreien Überlebensvorteils der Patient:innen mit H3K27me3-Retention ($p=0,043$) (Abbildung 33A).

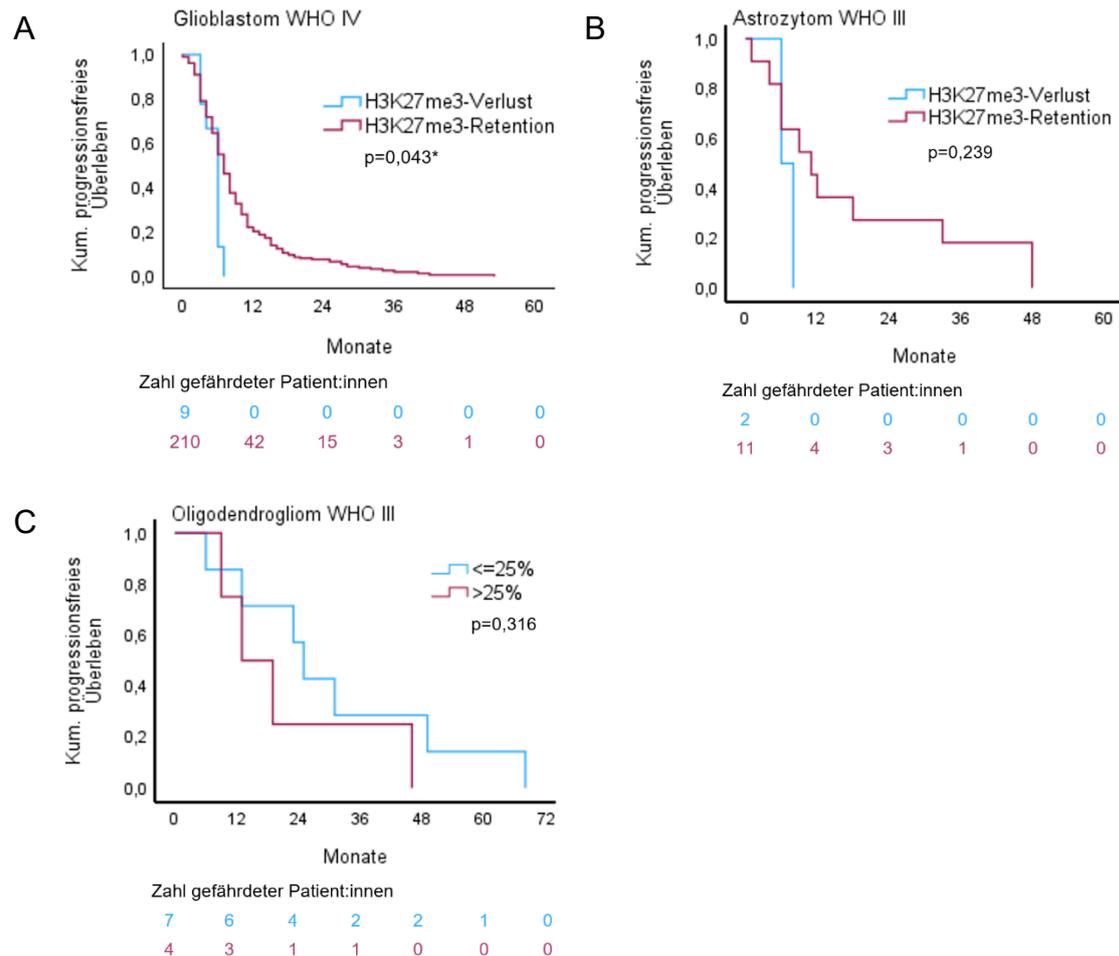


Abbildung 33: **Progressionsfreies Intervall in Abhängigkeit der H3K27me3-Expression im Primärtumor.** **A** Es zeigt sich ein signifikant längeres PFS (*) der Patient:innen mit Glioblastom WHO IV bei H3K27me3-Verlust. Hingegen konnte beim **B** Astrozytom WHO III und **C** Oligodendrogliom WHO III kein signifikanter prognostischer Wert hinsichtlich des PFS in Abhängigkeit der zuvor eingeführten Cut-Off-Werte festgestellt werden.

Ähnlich der Primärtumore zeigte sich bei den Rezidivtumoren eine Normalverteilung mit dem Score 2 (33,8%, N=23) als häufigste Expression von H3K27me3. Dagegen konnten in lediglich 1,5% (N=1) ein vollständiger Verlust und in 13,2% (N=9) der Fälle eine maximale Ausprägung dergleichen verzeichnet werden (Abbildung 34). Der Median in den untersuchten Rezidivtumoren belief sich auf den Score 2.

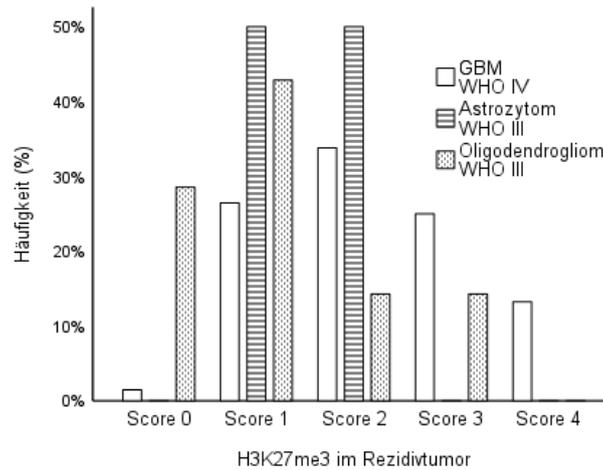


Abbildung 34: **Verteilung der Ausprägungsgrade von H3K27me3 im Rezidivtumor in Abhängigkeit der Tumorentität.**

Abschließend wurde in Abhängigkeit der H3K27me3-Expression der Primärtumore der mediane Score der dazugehörigen Rezidivtumore berechnet. Gezeigt werden konnten hierbei lediglich geringe Expressionsunterschiede innerhalb des Krankheitsverlaufs eines GBM. So wiesen die Fälle mit Score 2 und 3 als häufigste Ausprägung im Primärtumor diesen Score entsprechend als Median auch in den aufgetretenen Rezidivtumoren auf. Bei jenen mit Score 0 oder 1 im Erstbefund konnte jeweils der nächsthöchste Score als mediane Expression der Rezidivtumore festgestellt werden, beim Score 4 der nächstniedrigere Score (Tabelle 11).

Tabelle 11: **Medianer Score von H3K27me3 der Rezidivtumore in Abhängigkeit des Scores im Primärtumor. Grau hinterlegte Felder kennzeichnen einen Expressionsunterschied.**

H3K27me3	GBM WHO IV				
Score Primärtumor	0	1	2	3	4
Medianer Score Rezidivtumor	1	2	2	3	3
Astrozytom WHO III					
Score Primärtumor	0	1	2	3	4
Medianer Score Rezidivtumor	-	1	2	-	-
Oligodendrogliom WHO III					
Score Primärtumor	0	1	2	3	4
Medianer Score Rezidivtumor	-	1	0	1	-

3.2.2.3.2 Astrozytom WHO III

Das mittlere PFS der Patient:innen mit Astrozytom belief sich in diesem Kollektiv auf 14,73 Monaten, wobei das erste Rezidiv nach einem Monat, das späteste Rezidiv nach 48 Monaten dokumentiert wurde.

Dabei erwies sich ein H3K27m3-Verlust (Score 0) als ungünstigste Voraussetzung mit einem PFS von 7,00 Monaten. Die größte Zeitspanne zwischen Primär- und Rezidivtumor konnte hingegen in der Gruppe mit Score 1 im Erstbefund mit 21,00 Monaten vermerkt werden. Für die Scores 2 und 3 belief sich das PFS auf 17,75 bzw. 7,75 Monate ($p=0,415$, aber Fallzahl <30).

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wurde die Kohorte in zwei Gruppen nach Verlust und Retention von H3K27me3 unterteilt. Während, wie bereits weiter oben erwähnt, in der ersten Gruppe nach 7,00 Monaten im Durchschnitt ein Rezidivtumor auftrat, konnten in der Vergleichsgruppe nach 15,92 Monaten ein erneuter Tumor festgestellt werden. Das ebenfalls durchgeführte Kaplan-Meier-Diagramm zeigte mit $p=0,239$ keinen signifikanten Unterschied der progressionsfreien Überlebenskurven bei Patient:innen mit Astrozytom in Abhängigkeit des untersuchten Scores im Primärtumor.

Im Patientenkollektiv mit Astrozytom konnten lediglich zwei intraoperativ entnommene Gewebeproben von Rezidivtumoren immunhistochemisch für H3K27me3 gefärbt und ausgewertet werden (Abbildung 6). Dabei konnte der Score 1 und Score 2 jeweils einem Rezidivtumor zugeordnet werden (Abbildung 34). Der Median der Ausprägungsgrade in den untersuchten Rezidivtumoren belief sich auf den Score 1,5.

Abschließend wurde auch hier die mediane H3K27me3-Expression der Rezidivtumore aller Patient:innen mit demselben Score im Primärtumor berechnet und mit diesem verglichen. Dabei wiesen beide Fälle den im Primärtumor ermittelten Score auch im entsprechenden Rezidivtumor auf (Tabelle 11).

3.2.2.3.3 Oligodendrogliom WHO III

Die Patient:innen mit Oligodendrogliom wiesen mit einem mittleren PFS von 25,33 Monaten das längste PFS unter allen untersuchten Tumorentitäten auf. Dabei erstreckte sich die PFS-Spanne zwischen 2,00 und 68,00 Monaten.

Weiterhin zeigte sich ein kürzeres PFS bei starker H3K27me3-Expression. So konnte die kürzeste Zeitspanne bis zum Auftreten eines Rezidivtumors in dem durch einen einzigen Fall vertretenen Score 3 mit 13,00 Monaten ausgewertet werden. Ein längeres PFS mit 28,00 Monaten konnte hingegen bei den Erkrankten mit Score 1 im Primärtumor berechnet werden. Für den Score 0 und 4 konnten keine Werte ermittelt werden.

In Anlehnung der eben gewonnenen Erkenntnisse wurden die Patientenfälle weiterhin in zwei Kohorten anhand des Cut-Off-Werts 25% (Score 1) unterteilt. Hierbei zeigte sich ein längeres PFS mit 30,71 Monaten bei H3K27me3-Verlust im Vergleich zu 17,80 Monaten bei vorliegender Retention im Primärtumor. Durch das anschließende Kaplan-Meier-Diagramm konnte anhand des Vergleichs der progressionsfreien Überlebenskurven beider Kohorten hinsichtlich dessen kein signifikanter Unterschied belegt werden ($p=0,316$).

Im Patientenkollektiv mit Oligodendrogliom konnten sieben intraoperativ entnommene Gewebeproben von Rezidivtumoren immunhistochemisch für H3K27me3 gefärbt und ausgewertet werden (Abbildung 6). Wie bereits bei der Analyse der

Primärtumore war auch hier eine „geringe Ausprägung“ (Score 1) von H3K27me3 mit drei Fällen (50%) am häufigsten vertreten. Eine vorliegende Mutation und somit kompletter Verlust (Score 0) konnte hingegen in einer einzigen Tumorprobe (16,7%) erfasst werden. Eine maximale Ausprägung war in keiner der Rezidivtumore anzutreffen (Abbildung 34). Der Median der Ausprägungsgrade in den untersuchten Rezidivtumoren belief sich auf den Score 1.

Fortführend wurde anhand der H3K27me3-Expression der Primärtumore auch bei den an einem Oligodendrogliom erkrankten Personen der mediane Score der Rezidivtumore berechnet und verglichen. So zeigten die Patientenfälle mit Score 1 im Erstbefund denselben medianen Score auch im Rezidivtumor. Bei den jeweils durch einen Fall vertretenen Scores 2 und 3 konnte hingegen in deren Rezidivtumor eine geringere Expression (Score 0 bzw. Score 1) festgestellt werden (Tabelle 11).

3.2.3 H3K36me3

Für die immunhistochemische Bestimmung von H3K36me3 konnten, nach Beachtung der Ausschlusskriterien (s. Kapitel 2.6.3 Ausschlusskriterien) 362 GBM, 25 Astrozytome, 18 Oligodendrogliome gewonnen werden. Weiterhin wurden alle 103 Rezidivtumore, davon 90 mit GBM, vier mit Astrozytom und neun mit Oligodendrogliom in die weitere immunhistochemische Auswertung einbezogen.

3.2.3.1 Häufigkeitsverteilung der Ausprägungsgrade

3.2.3.1.1 *Glioblastoma multiforme IV*

Im Folgenden wurde die Häufigkeitsverteilung der H3K36me3-Expression bei Patient:innen mit GBM untersucht. Mit 41,7% war dabei der Score 3, entsprechend einer „starken Ausprägung“ am häufigsten exprimiert, gefolgt von einer „maximalen Ausbreitung“ (Score 4) mit 32,6%. Einen kompletten H3K36me3-Verlust (Score 0) wiesen dabei lediglich 1,9% der Fälle auf. Zusammen mit dem

Score 1 (6,9%) verkörperten diese die Minderheit der untersuchten Fälle (Abbildung 35A). Der Median wurde mit Score 3 berechnet.

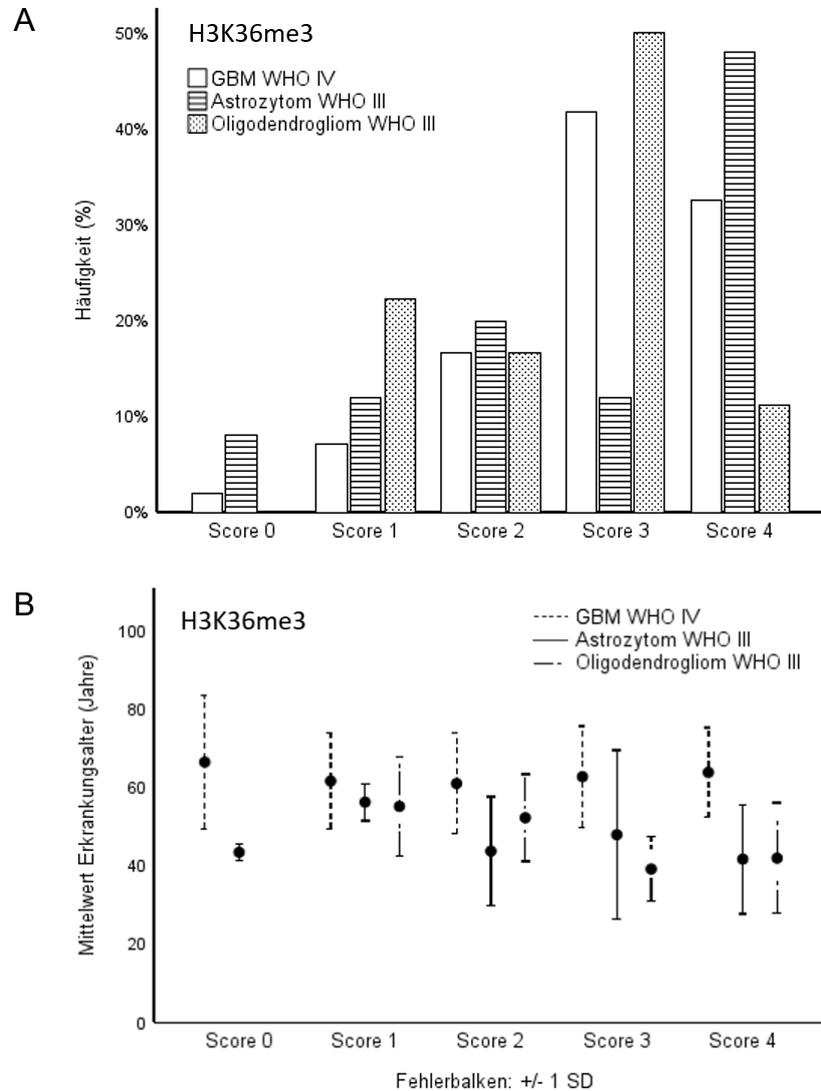


Abbildung 35: **Charakteristika der Patientenkohorte unter Betrachtung von H3K36me3.** **A** Verteilung der Ausprägungsgrade von H3K36me3 im Primärtumor in Abhängigkeit der Tumorentität **B** Mittleres Erkrankungsalter nach Ausprägungsgrad von H3K36me3 in Abhängigkeit der Tumorentität.

Der Zusammenhang zwischen der Histonmodifikation H3K36me3 und dem *Erkrankungsalter* der Patient:innen soll im Folgenden analysiert werden. Mit Ausnahme des Scores 0 wurde mit zunehmender Expression ein höheres mittleres Erkrankungsalter berechnet. Im Folgenden ergab sich also ein Erkrankungsalter

für die Scores 1, 2, 3 und 4 von 61,10; 61,73; 62,84 und 63,94 Jahren. Für die Patient:innen mit mutmaßlicher Mutation belief sich dieses auf 66,57 Jahre ($p=0,574$) (Abbildung 35B). Die Gegenüberstellung der Kohorten mit H3K36me3-Verlust und H3K36me3-Retention ergab weiterhin mit 66,57 bzw. 62,83 Jahren keinen signifikanten Unterschied des Erkrankungsalters ($p=0,340$). Für die weitere Auswertung erfolgte die Gegenüberstellung der medianen H3K36me3-Scores nach Unterteilung des Patientenkollektivs anhand des therapielevanten Cut-Off-Werts von 70 Jahren. Hierbei konnte kein signifikanter Expressionsunterschied mit einem Median von Score 3 in beiden Kohorten festgestellt werden ($p=0,508$).

Im Weiteren soll die Häufigkeitsverteilung von H3K36me3 in Abhängigkeit des *Geschlechts* untersucht werden. Mit 43,8% bzw. 40,4% wiesen sowohl die männlichen als auch die weiblichen Patient:innen in der Mehrzahl der Fälle eine „starke Ausprägung“ (Score 3) der epigenetischen Modifikation auf. Eine „maximale Ausprägung“ (Score 4) konnte ebenfalls in einem großen Anteil mit 36,5% (Männer) bzw. 30,2% (Frauen) verzeichnet werden. Hingegen wurde ein kompletter H3K36me3-Verlust (Score 0) lediglich bei 2,9% des männlichen und 1,3% des weiblichen Geschlechts dokumentiert. Die Mediane für H3K36me3 beliefen sich dabei in beiden Gruppen auf den Score 3. Daraus ergab sich kein signifikanter Expressionsunterschied ($p=0,263$).

In den zuvor erfolgten Analysen der Gesamtkohorte erwies sich eine *parietale Tumorkalisation* als signifikanter prognostischer Faktor (s. Kapitel 3.1.8 Lokalisation), sodass die Verteilungshäufigkeit von H3K36me3 dahingehend untersucht wurde. Sowohl bei einer parietalen als auch nicht-parietalen Tumorbeteiligung zeigte sich der Score 3 mit 44,0% bzw. 41,6% als häufigstes Expressionsmuster der Histonmodifikation. Ein vollständiger Verlust dergleichen konnte in keiner Tumorprobe bei parietaler Tumorbeteiligung festgestellt werden, wohingegen in der Gegengruppe in 2,1% eine mutmaßliche Mutation (Score 0) beobachtet werden konnte. Der Median belief sich auch hier in beiden Kohorten auf den Score 3. Der Vergleich beider Kollektive zeigte keinen signifikanten Unterschied in der Verteilungshäufigkeit von H3K36me3 ($p=0,821$).

Zuletzt wurde die Verteilung der Ausprägungsgrade von H3K36me3 in Abhängigkeit des KPS mit Cut-Off-Wert von 70% ausgewertet. Während bei Patient:innen mit KPS $\geq 70\%$ bei Diagnosestellung eines GBM mit 43,2% der Score 3 am häufigsten exprimiert war, konnte mit 41,2% der Score 4 bei denjenigen mit KPS $< 70\%$ in der Mehrzahl der Fälle festgestellt werden. Ein H3K36me3-Verlust wurde in 5,9% der Fälle mit KPS $< 70\%$ und 2,3% der Fälle mit KPS $\geq 70\%$ dokumentiert. Auch in dieser Gegenüberstellung belief sich der Median beider Gruppen auf einen Score von 3, sodass auch hinsichtlich des KPS kein signifikanter Unterschied für die Verteilung der Expression von H3K36me3 angegeben werden kann ($p=0,304$).

3.2.3.1.2 Astrozytom WHO III

In der Kohorte der Patient:innen mit Astrozytom wurde eine maximale Expression von H3K36me3 (Score 4) in zwölf Fällen festgestellt und war somit mit 48,0% am häufigsten vertreten. Eine mutmaßliche Mutation (Score 0) konnte hingegen in zwei der untersuchten Fälle (8,0%) beobachtet werden (Abbildung 35A). Als Median wurde der Score 3 berechnet.

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen der H3K36me3-Expression und dem *Erkrankungsalter* bei Diagnosestellung eines Astrozytoms zu untersuchen, wurde Letzteres in Abhängigkeit des Scores bestimmt. Das höchste Erkrankungsalter mit 56,33 Jahren wiesen dabei diejenigen mit einer „geringen Ausprägung“ (Score 1) auf, wohingegen bei jenen mit einer „maximalen Ausprägung“ (Score 4) das niedrigste Erkrankungsalter mit 41,75 Jahren berechnet werden konnte. Für die Scores 0, 2 und 3 ergab sich ein mittleres Erkrankungsalter von 43,50, 43,80 und 48 Jahre ($p=0,599$, aber Fallzahl < 30) (Abbildung 35B). Es erfolgte außerdem ein Vergleich des Erkrankungsalters unter Berücksichtigung eines H3K36me3-Verlusts versus einer H3K36me3-Retention, wobei das Signifikanzniveau bei 43,50 zu 44,91 Jahren knapp verfehlt wurde ($p=0,054$). Weiterhin wurde die Kohorte entsprechend dem zuvor festgelegten Cut-Off-Wert von 40 Jahren unterteilt und ebenso hinsichtlich der H3K36me3-Expression untersucht. Diesbezüglich ergab sich ein Median des Scores von 4 für die Patient:innen ≤ 40 Jahre und 2,5 für diejenigen > 40 Jahre ($p=0,226$, aber Fallzahl < 30).

Im Folgenden wurde die H3K36me3-Expression in Abhängigkeit des Geschlechts untersucht. Beim weiblichen Geschlecht ergab sich mit 22,2% eine maximale Häufigkeit für den Score 2, beim männlichen Geschlecht mit 50,0% dagegen für den Score 4. Mit einem errechneten medianen Score von 3 der Frauen und Score 3,5 der Männer konnte kein relevanter Expressionsunterschied von H3K36me3 in Abhängigkeit der Geschlechtszugehörigkeit gefunden werden ($p=0,790$, aber Fallzahl <30).

Bis auf einem Fall wurden allen Patient:innen bei Diagnosestellung eines Astrozytoms ein $KPS >70\%$ zugeordnet, sodass die Untersuchung der Häufigkeitsverteilung von H3K36me3 unter Betrachtung des KPS nicht zielführend erschien.

3.2.3.1.3 Oligodendrogliom WHO III

In der Kohorte der Patient:innen mit Oligodendrogliom wurde eine starke Expression von H3K36me3 (Score 3) in neun Fällen festgestellt und war somit mit 50,0% in der Hälfte aller Tumorproben vertreten. Eine maximale Ausprägung konnte hingegen lediglich in zwei Fällen untersucht werden (11,1%), wohingegen ein vollständiger Verlust dieser Histonmodifikation in keinem der Fälle auftrat (Abbildung 35A). Als Median wurde der Score 3 berechnet.

Bei Betrachtung des *Erkrankungsalters* in Abhängigkeit der vorliegenden H3K36me3-Expression zeigte sich mit zunehmender Expressionsstärke, mit Ausnahme Score 3, ein jüngeres mittleres Erkrankungsalter der Patient:innen. Während bei „geringer Ausprägung“ (Score 1) ein mittleres Erkrankungsalter von 55,25 Jahren berechnet wurde, belief sich dieses in aufsteigender Reihenfolge der Scores auf 52,33, 39,22 und 42,00 Jahre ($p=0,075$, aber Fallzahl <30). Eine mutmaßliche Mutation lag in keinem der untersuchten Fälle vor, sodass hier kein mittleres Erkrankungsalter abgeleitet werden konnte (Abbildung 35B). Der für die weitere Analyse eingeführte Cut-Off-Wert von 40 Jahren zeigte in beiden Gruppen eine maximale Häufigkeit mit 66,7% (≤ 40 Jahre) bzw. 41,7% (>40 Jahre) für den Score 3. Der Median belief sich bei den jüngeren Patient:innen auf den Score 3 und im älteren Kollektiv auf den Score 2,5 ($p=0,596$, aber Fallzahl <30).

Im Folgenden wurde die Häufigkeitsverteilung der Histonmodifikation H3K36me3 in Abhängigkeit des *Geschlechts* untersucht. Im weiblichen als auch im männlichen Geschlecht konnten, ähnlich der Gesamtkohorte, dem Score 3 mit vier bzw. fünf Fällen (jeweils 50%) die meisten Fälle zugeordnet werden. In beiden Geschlechtern wurde hingegen bei keinem der Patient:innen ein kompletter H3K36me3-Verlust detektiert. Der Median belief sich in beiden Gruppen auf den Score 3 ($p=0,867$, aber Fallzahl <30).

Allen Patient:innen mit Oligodendrogliom wurde bei Diagnosestellung ein *KPS* $>70\%$ zugeteilt. Aufgrund dessen erfolgte keine Untersuchung der Häufigkeitsverteilung von H3K36me3 unter Betrachtung des *KPS*.

3.2.3.2 H3K36me3 als prognostischer Faktor

3.2.3.2.1 *Glioblastoma multiforme WHO IV*

Im Patientenkollektiv mit diagnostiziertem GBM zeigte sich das kürzeste OS bei Vorliegen einer mutmaßlichen Mutation (Score 0) mit 13,33 Monaten, wohingegen das längste OS mit 19,04 Monaten bei den Fällen mit Score 1 berechnet wurde. Für die Scores 2, 3 und 4 belief sich das OS auf 17,60, 15,55 und 14,12 Monate. Es konnte kein signifikanter Unterschied des Erkrankungsalters in Abhängigkeit der H3K36me3-Expression festgestellt werden ($p=0,338$). Auch der Vergleich einzelner Scores zeigte keine Signifikanz auf.

Im Weiteren wurden die Fälle anhand unterschiedlicher Cut-Off-Werte der H3K36me3-Expression unterteilt und hinsichtlich des OS der Betroffenen verglichen. Untersucht wurde der vollständige Verlust von H3K36me3 (Score 0) gegenüber einer Retention (Score >0). Mit 13,33 Monaten (Score 0) im Vergleich zu 15,73 Monaten ($>Score 0$) ergab sich diesbezüglich kein signifikanter Unterschied ($p=0,623$). Ebenso konnte für keinen der weiteren untersuchten Cut-Off-Werte 25% (Score 1), 50% (Score 2) und 75% (Score 3) ein statistisch signifikanter Unterschied mit $p=0,434$, $p=0,076$, $p=0,094$ bezüglich des mittleren Gesamtüberlebens beider Gruppen festgestellt werden.

Nachfolgend wurden Kaplan-Meier-Analysen in Abhängigkeit der oben eingeführten Cut-Off-Werte (Mutation, 25%, 50%, 75%) durchgeführt. Zu erkennen ist

hierbei in keinem der Diagramme ein signifikanter Unterschied der verglichenen Überlebenskurven ($p=0,533$, $p=0,891$, $p=0,644$, $p=0,846$) (Abbildung 36).

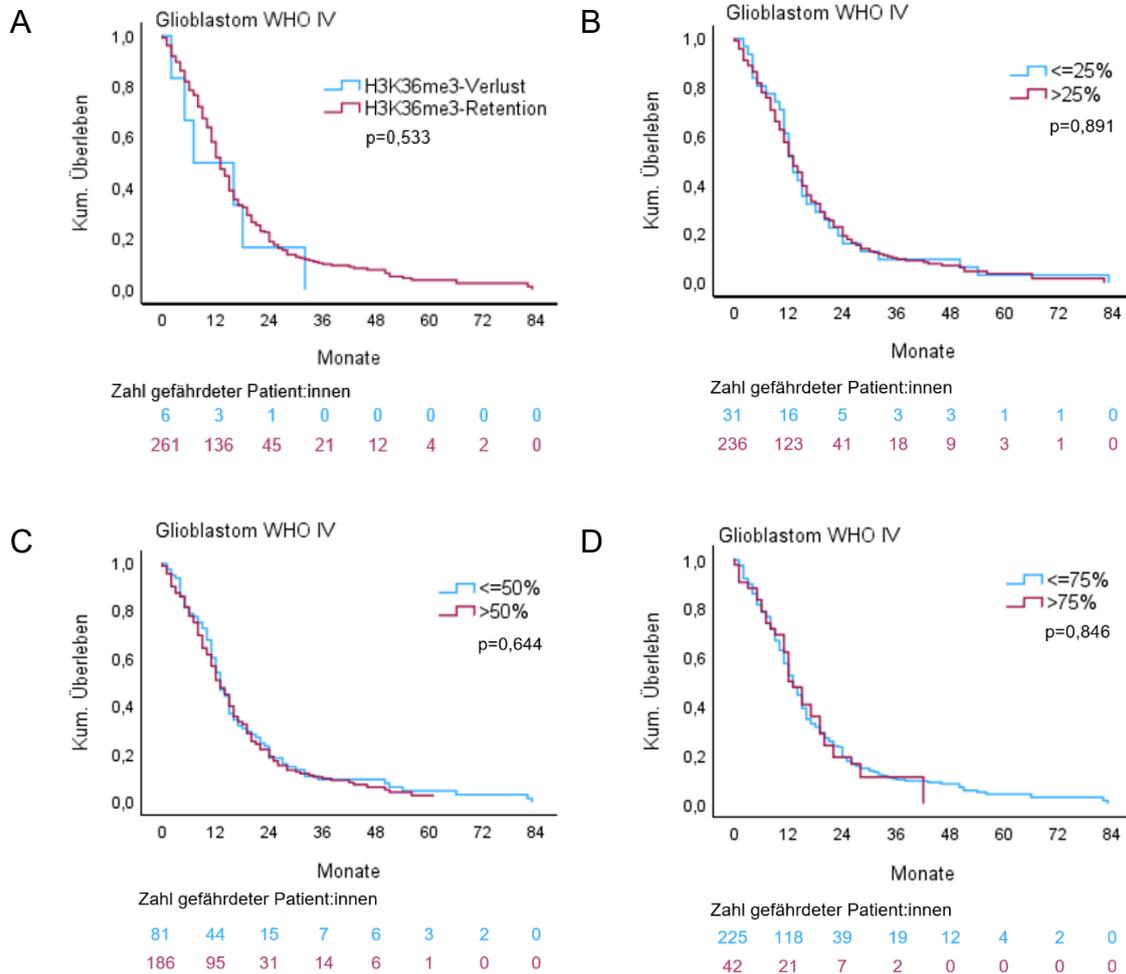


Abbildung 36: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K36me3 im Glioblastom WHO IV.** Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven unter Betrachtung des **A** vollständigen Verlusts von H3K27me3 sowie der Cut-Off-Werte **B** 25%, **C** 50% und **D** 75%.

3.2.3.2.2 Astrozytom WHO III

Das längste OS mit 52,67 Monaten wiesen diejenigen Patient:innen mit „mäßiger Ausprägung“ (Score 2) von H3K36me3 auf, gefolgt von 42,00 Monaten bei „geringer Ausprägung“ (Score 1), 33,00 Monaten bei H3K36me3-Verlust (Score 0), 20,00 Monaten bei „starker Ausprägung“ (Score 3) sowie 14,60 Monaten bei „voller Ausprägung“ (Score 4). Allerdings ist zu beachten, dass es sich bei den

Scores 0, 1 und 3 um keine Mittelwerte, sondern um einen Einzelwert handelt, da diese Gruppen jeweils durch lediglich einen einzigen Fall vertreten waren ($p=0,137$, aber Fallzahl <30).

Nachfolgend erfolgte die Unterteilung der Fälle in eine Gruppe mit vollständigem H3K36me3-Verlust (Score 0) und in eine Weitere mit H3K36me3-Retention (Score >0). Darüber hinaus wurden die Cut-Off-Werte 25% (Score 1), 50% (Score 2) und 75% (Score 3) mittels Kaplan-Meier-Analysen untersucht. Da jedoch in lediglich einem Fall eine mutmaßliche Mutation (Score 0) vorlag, wurde auf eine weitere Auswertung dieses Cut-Off-Werts verzichtet. Dagegen konnte ein signifikanter Unterschied des kumulativen Gesamtüberlebens bei einem Cut-Off-Wert von 50% und 75% im Sinne einer ungünstigeren Prognose bei stärkerer H3K36me3-Expression festgestellt werden ($p=0,016$ bzw. $p=0,008$). Für den Cut-Off-Wert von 25% zeigte sich keine Signifikanz ($p=0,400$) (Abbildung 37).

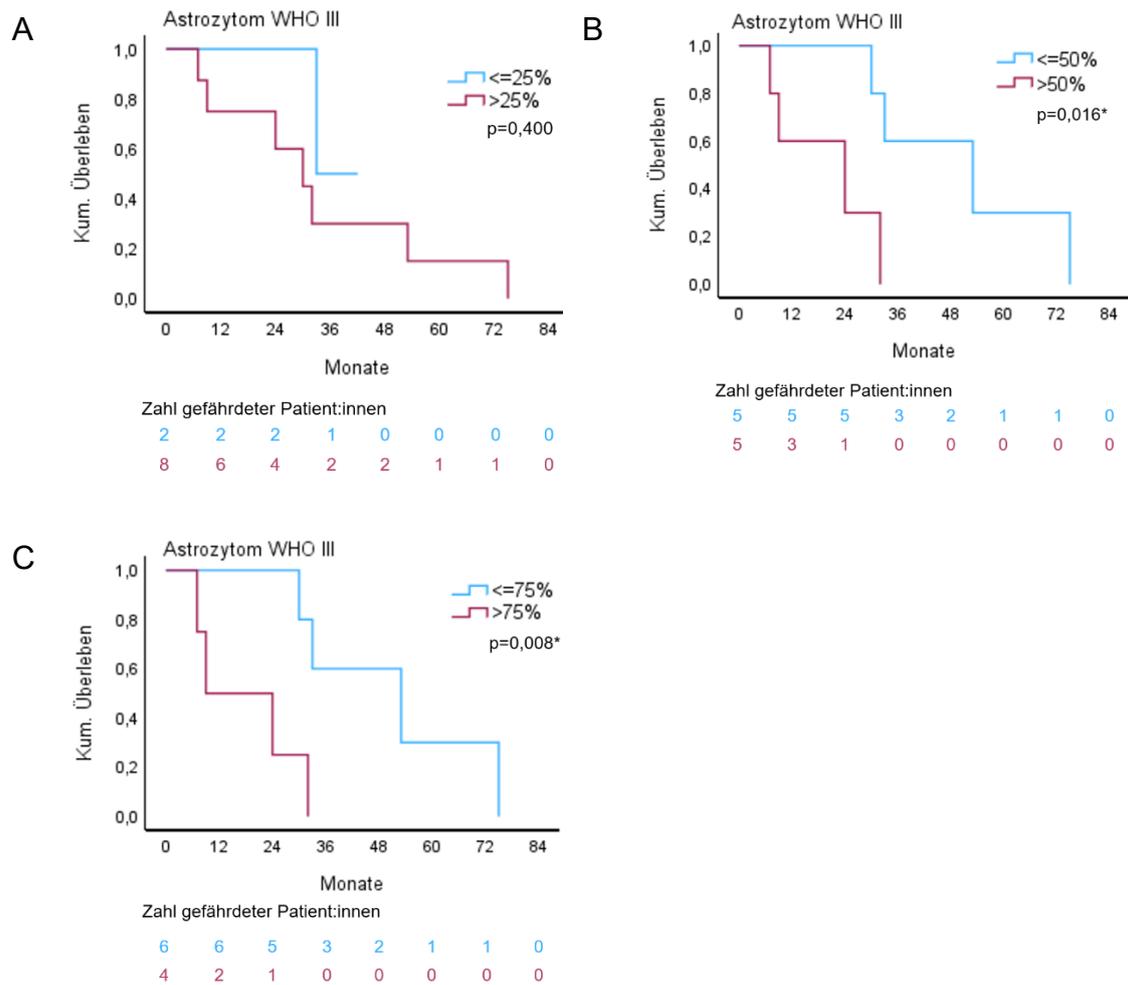


Abbildung 37: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K36me3 im Astrozytom WHO III.** Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied (*) der Überlebenskurven unter Betrachtung der Cut-Off-Werte **B** 50% und **C** 75%, wohingegen bei einem Cut-Off-Wert von **A** 25% kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte.

3.2.3.2.3 Oligodendrogliom WHO III

Für die Patientenkohorte mit Oligodendrogliom konnte lediglich für den Score 1 und 3 ein mittleres Gesamtüberleben berechnet werden. Für die Scores 0, 2 und 4 erfolgte keine Auswertung aufgrund fehlender Fälle für diese Scores. Während die Patient:innen mit „geringer Ausprägung“ (Score 1) von H3K36me3 ein OS von 58,33 Monaten aufzeigten, lebten diejenigen mit einer „starken Ausprägung“ (Score 3) mit im Durchschnitt 53,60 Monaten kürzer ($p=0,869$, aber Fallzahl <30).

Auch für das Patientenkollektiv der Oligodendrogliome erfolgte eine weitere Auswertung des OS entsprechend den zuvor definierten Cut-Off-Werten mittels Kaplan-Meier-Analyse. Da jedoch lediglich für die Scores 1 und 3 ein OS berechnet werden konnte, verhielten sich die Cut-Off-Werte 25% und 50% (Score 1 und 2) identisch zueinander, wobei kein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven beider Gruppen gezeigt werden konnte ($p=0,779$). Aufgrund der identischen Kaplan-Meier-Diagramme beider Cut-Off-Werte beschränkt sich die Darstellung in Abbildung 38 auf den Cut-Off-Wert 50%. Für die Cut-Off Werte 0 und 4 konnte aufgrund der oben beschriebenen Gegebenheiten keine Analyse durchgeführt werden.

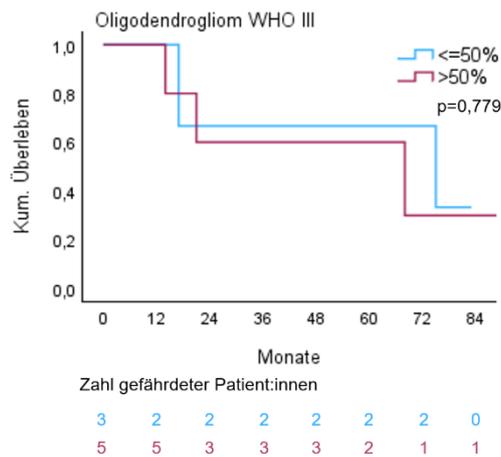


Abbildung 38: **Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit der Ausprägung von H3K36me3 im Oligodendrogliom WHO III.** Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied der Überlebenskurven unter Betrachtung des Cut-Off-Werts 50% (identisch mit dem Cut-off-Wert 25%).

3.2.3.3 Progressionsfreies Überleben und H3K36me3

3.2.3.3.1 Glioblastoma multiforme WHO IV

Ein möglicher Zusammenhang zwischen der H3K36me3-Expression und dem PFS wird im Folgenden untersucht. Die längste Zeitspanne von 9,76 Monate bis zum Auftreten des Rezidivtumors konnte für den Score 2 berechnet werden, wohingegen das früheste Rezidiv nach 8,04 Monaten in der Gruppe der Patient:innen mit Score 1 dokumentiert wurde. Eine anschließend durchgeführte

Gegenüberstellung des PFS unter Betrachtung der Scores im Primärtumor ergab keinen signifikanten Unterschied ($p=0,888$).

Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde das Patientenkollektiv mit GBM in Abhängigkeit des Cut-Off-Werts 25% (Score 1) für H3K36me3 im Primärtumor unterteilt und hinsichtlich des PFS untersucht. Hierbei zeigte sich ein früheres Rezidiv der Erkrankten mit H3K36me3-Expression $\leq 25\%$ (\leq Score 1) nach 8,18 Monaten, wohingegen bei denjenigen mit $>25\%$ ($>$ Score 1) im Primärtumor nach 8,86 Monaten ein Rezidivtumor festgestellt wurde ($p=0,593$). Das zudem durchgeführte Kaplan-Meier-Diagramm bestätigte anhand der Darstellung der progressionsfreien Überlebenskurven beider Gruppen eben beschriebene Ergebnisse ($p=0,493$) (Abbildung 39A).

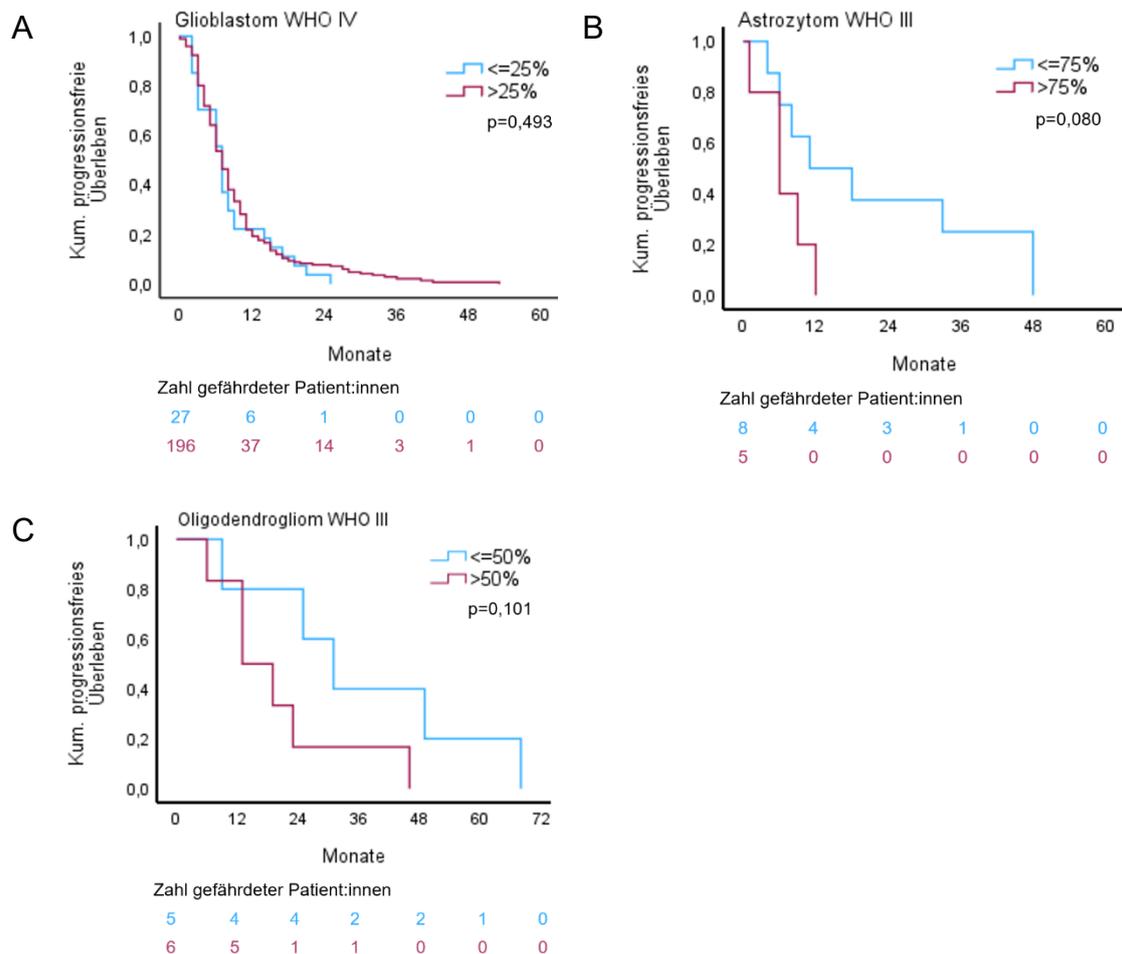


Abbildung 39: **Progressionsfreies Intervall in Abhängigkeit des Scores von H3K36me3 im Primärtumor.** Die Kaplan-Meier-Kurven widerlegen einen signifikanten prognostischen Wert

hinsichtlich des PFS in Abhängigkeit der zuvor eingeführten Cut-Off-Werte im Primärtumor für Patient:innen mit **A** Glioblastom WHO IV, **B** Astrozytom WHO III und **C** Oligodendrogliom III.

Ähnlich wie bei den Primärtumoren lässt sich auch bei den Rezidivtumoren ein Trend hin zu einer starken Expression der epigenetischen Modifikation H3K36me3 mit dem Score 3 als häufigsten Ausprägungsgrad mit 33,3% (N=23) aller untersuchten Fälle erkennen. Eine „maximale Ausprägung“ (Score 4) trat hingegen in etwa einem Drittel (29,0%, N=20) auf, wohingegen eine mutmaßliche Mutation und somit ein vollständiger Verlust von H3K36me3 (Score 0) in lediglich 1,4% (N=1) der Rezidivtumore festgestellt werden konnte (Abbildung 40). Der Median wurde mit dem Score 3 berechnet.

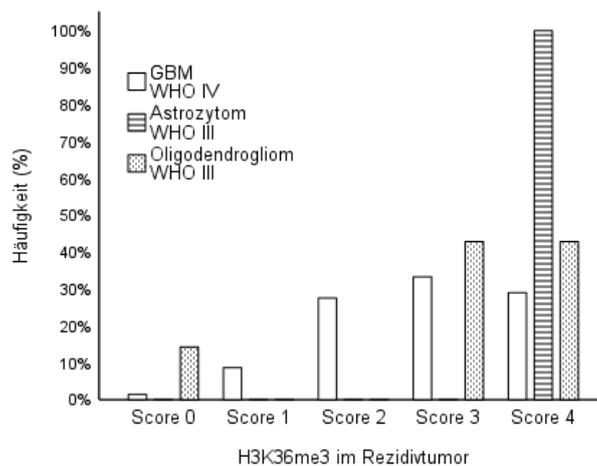


Abbildung 40: Verteilung der Ausprägungsgrade von H3K36me3 im Rezidivtumor in Abhängigkeit der Tumorentität.

Nachfolgend wurde, unter Betrachtung der Scores im Primärtumor, der mediane Score in den entsprechenden Rezidivtumoren bestimmt und anschließend mit jenem im Primärtumor verglichen. Unter den Patient:innen mit mutmaßlicher Mutation (Score 0) wurde in lediglich zwei Fällen ein Rezidivtumor dokumentiert, für welche ein medianer Score von 2 berechnet wurde. Weiterhin konnte auch für die sechs Tumorproben mit Score 1 im Primärtumor ein Median des Scores von 2 festgestellt werden. Die mit 17, 21 und 20 Fällen deutlich häufiger vertretenen Scores 2, 3 und 4 wiesen dieselbe H3K36me3-Expression im Primärtumor, als auch als Median im Rezidivtumor auf (Tabelle 12).

Tabelle 12: **Medianer Score von H3K36me3 der Rezidivtumore in Abhängigkeit des Scores im Primärtumor.** Grau hinterlegte Felder kennzeichnen einen Expressionsunterschied.

H3K36me3	GBM WHO IV				
Score Primärtumor	0	1	2	3	4
Medianer Score Rezidivtumor	2	2	2	3	4
Astrozytom WHO III					
Score Primärtumor	0	1	2	3	4
Medianer Score Rezidivtumor	-	-	4	-	4
Oligodendrogliom WHO III					
Score Primärtumor	0	1	2	3	4
Medianer Score Rezidivtumor	-	3	4	3	-

3.2.3.3.2 Astrozytom WHO III

Die Berechnung des PFS in Abhängigkeit des erfassten Scores im Primärtumor ergab eine ungünstigere Prognose im Sinne eines kürzeren PFS (8,33 Monate) bei einer H3K63me3-Expression von >75% (Score 4). Das späteste Rezidiv trat hingegen bei denjenigen Fällen mit Score 2 nach 33,00 Monaten auf ($p=0,059$, aber Fallzahl <30).

Aufgrund der deutlich kürzeren Zeitspanne bis zur Progression bei den Patient:innen mit „maximaler Ausprägung“ (Score 4) wurde der Cut-Off-Wert 75% eingeführt und die Patientenkohorte in zwei Gruppen unterteilt. Neben den oben erwähnten 8,33 Monaten PFS bei Score 4 im Primärtumor, entwickelte die Vergleichsgruppe mit einer H3K36me3-Expression $\leq 75\%$ (<Score 4) nach 19,00 Monaten einen Rezidivtumor. Mittels Kaplan-Meier-Analyse konnte hinsichtlich des kumulativen progressionsfreien Überlebens anhand der Darstellung der Überlebenskurven beider Gruppen keine Signifikanz nachgewiesen werden, zeigte jedoch eine Tendenz zu einer ungünstigeren Prognose mit früherem Rezidiv bei H3K36me3-Expression >75% ($p=0,080$) (Abbildung 39B).

Von den Fällen mit Astrozytom konnten lediglich zwei Gewebeproben von Rezidivtumoren für die Immunhistochemische Beurteilung von H3K36me3 gewonnen werden. In beiden Fällen lag der Score 4 vor, sodass keine Medianbestimmung erfolgte (Abbildung 40).

Abschließend wurden auch hier die medianen Ausprägungsgrade der Rezidivtumore mit demselben Score im Primärtumor bestimmt und mit diesem verglichen. Dabei veränderte sich der Score 4 im Primärtumor im Vergleich zum Rezidivtumor nicht in der Expression von H3K36me3, wohingegen sich der Score 2 im Primärtumor zu einem Score 4 im Rezidivtumor entwickelte (Tabelle 12).

3.2.3.3.3 Oligodendrogliom WHO III

Das längste Zeitintervall bis zum Auftreten eines Rezidivtumors konnte mit 68,00 Monaten bei dem durch lediglich einen Fall vertretenen Score 2 festgestellt werden. Das früheste Rezidiv wurde hingegen bei dem, durch ebenso einen Fall vertretenen, Score 3 mit 2,00 Monaten berechnet ($p=0,058$, aber Fallzahl <30).

Nach den eben erfolgten Untersuchungen wurde der Cut-Off-Wert von 50% festgelegt und die Patientenkohorte dementsprechend in zwei Gruppen unterteilt, wobei sich eine günstigere Prognose der Betroffenen bei einer Ausprägung von H3K36me3 $\leq 50\%$ im Primärtumor mit einem PFS von 36,40 Monaten im Vergleich zu denjenigen mit H3K36me3 $>50\%$ und 17,43 Monaten zeigte. Eine zudem durchgeführte Kaplan-Meier-Analyse konnte anhand der Darstellung der Überlebenskurven beider Gruppen keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich des zu erwartenden kumulativen progressionsfreien Überlebens aufzeigen ($p=0,101$) (Abbildung 39C).

Im Patientenkollektiv der Oligodendrogliome konnten sieben Rezidivtumore in der immunhistochemische Beurteilung von H3K36me3 eingeschlossen werden. (Abbildung 6). Hierbei konnte in jeweils drei Fällen (42,9 %) eine starke (Score 3) bzw. maximale Expression (Score 4) der Histonmodifikation H3K36me3 festgestellt werden. Außerdem wies eine einzige Tumorprobe eines Oligodendroglioms einen H3K36me3-Verlust auf (14,3%). Die Scores 1 und 2 waren in keinem

der Rezidivtumore repräsentiert. Der Median der Ausprägungsgrade belief sich auf den Score 3 (Abbildung 40).

Abschließend wurde auch hier der H3K36me3-Score der Primärtumore mit dem Median der Rezidivtumore mit demselben Score im Primärtumor verglichen. Dabei wies lediglich der Score 3 im Primärtumor denselben auch als Median im entsprechenden Rezidivtumor auf. In den beiden anderen Gruppen zeigte sich eine Tendenz hinsichtlich einer stärkeren Expression von H3K36me3 im Rezidiv. So belief sich der Median im Rezidivtumor auf den Score 3 bzw. 4 in den Gruppen mit Score 1 bzw. 2 im Primärtumor (Tabelle 12).

3.3 Multivariate Analysen

Für das Gesamtüberleben wurde eine multivariate Analyse anhand des Cox-Regressionsmodells durchgeführt. Aufgrund der niedrigen Fallzahlen von Astrozytomen und Oligodendrogliomen beschränkte sich diese hier jedoch auf die Tumorentität GBM. Es wurden die klinischen Faktoren Erkrankungsalter (Cut-Off 70 Jahre), KPS (Cut-Off 70%), präoperatives Tumolvolumen (Cut-Off 20cm³), Therapie (dichotomisiert nach Stupp-Schema und non-Stupp Behandlung), das Geschlecht, die Tumorlokalisation (dichotomisiert nach parietal vs. non-parietal) sowie der MGMT-Status (dichotomisiert nach methyliert und unmethyliert) berücksichtigt. Diese zeichneten sich in der zuvor erfolgten univariaten Testung nach Kaplan-Meier durch ihre Stabilität und statistische Signifikanz aus. Außerdem wurde die Resektion (dichotomisiert nach Totalresektion und non-Totalresektion) trotz fehlender Signifikanz in der univariaten Analyse integriert, da sich diese in der Literatur als prognostischer Faktor etabliert hat. Zudem wurden die epigenetischen Modifikationen H3K27me3 und H3K36me3 einbezogen und in separaten multivariaten Analysen betrachtet.

3.3.1 H3K27me3

Während in der ersten multivariaten Analyse die Scores der H3K27me3-Expression integriert wurden, erfolgte die zweite Analyse unter dichotomisierter Betrachtung des H3K27me3-Verlusts in Anlehnung an die Ergebnisse der univariaten Analyse. In beiden Fällen blieben, wie bereits in den Kaplan-Meier-Analysen, das Alter bei einem Cut-Off von 70 Jahren, die Therapie sowie der MGMT-Status signifikant, sodass diese als unabhängige prognostische Faktoren bei Patient:innen mit GBM gewertet werden können. Der KPS mit Cut-Off 70% und die parietale Tumorlokalisierung verloren hingegen, im Vergleich zur univariaten Analyse, die Signifikanz. Das präoperative Tumolvolumen und die Resektion stellten sich in der zweiten multivariaten Analyse, unter Berücksichtigung der dichotomisierten H3K27me3-Expression, signifikant dar. In der ersten multivariaten Analyse zeigten diese einen erwähnenswerten statistischen Trend, verfehlten das Signifikanzniveau jedoch knapp. Das Geschlecht blieb auch in der multivariaten Analyse nicht signifikant. Sowohl die Betrachtung der H3K27me3-Expression als Scores, als auch die dichotomisierte Betrachtung (Verlust * Retention) erreichten in der multivariaten Analyse das Signifikanzniveau nicht, weshalb die Expression von H3K27me3 im GBM sich in der vorgelegten Arbeit als kein prognostischer Faktor hinsichtlich des OS herausstellte.

In Tabelle 13 und Tabelle 14 Tabelle 14 wird eine vollständige Übersicht der Ergebnisse aufgezeigt.

Tabelle 13: Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse unter Betrachtung der H3K27me3-Expression. Sternchen (*) markieren signifikante Ergebnisse.

Variable	Risikoverhältnisse (95% KI)	p-Wert
Erkrankungsalter		
> 70 Jahre	2,013 (1,336-3,031)	<0,001*
Geschlecht		
männlich	0,720 (0,511-1,015)	0,061
KPS		

Variable	Risikoverhältnisse (95% KI)	p-Wert
>=70%	0,720 (0,465-1,114)	0,140
Lokalisation		
parietal	0,746 (0,393-1,413)	0,368
Präoperatives Tumorstadium		
>=20cm ³	1,337 (0,971-1,843)	0,075
Resektionsausmaß		
Totalresektion	1,334 (0,963-1,849)	0,083
Therapie		
Stupp-Schema	0,597 (0,404-0,883)	0,010*
MGMT		
unmethyliert	1,924 (1,383-2,675)	<0,001*
H3K27me3		0,066
Score 0 * Score 1	1,448 (0,571-3,673)	0,436
Score 0 * Score 2	0,801 (0,323-1,986)	0,633
Score 0 * Score 3	0,751 (0,296-1,905)	0,546
Score 0 * Score 4	1,021 (0,399-2,612)	0,966

Tabelle 14: **Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse unter Betrachtung eines H3K27me3-Verlusts gegenüber einer H3K27me3-Retention.** Sternchen (*) markieren signifikante Ergebnisse.

Variable	Risikoverhältnisse (95% KI)	p-Wert
Erkrankungsalter		
> 70 Jahre	2,059 (1,336-3,103)	<0,001*
Geschlecht		
männlich	0,790 (0,565-1,105)	0,169
KPS		
>=70%	0,836 (0,582-1,202)	0,335
Lokalisation		

Variable	Risikoverhältnisse (95% KI)	p-Wert
parietal	0,782 (0,415-1,475)	0,448
Präoperatives Tumolvolumen		
>=20cm ³	1,383 (1,011-1,892)	0,043*
Resektionsausmaß		
Totalresektion	1,372 (1,001-1,881)	0,049*
Therapie		
Stupp-Schema	0,667 (0,456-976)	0,037*
MGMT		
unmethyliert	1,866 (1,349-2,580)	<0,001*
H3K27me3		
Retention	0,970 (0,625-1,506)	0,893

3.3.2 H3K36me3

Es wurden ebenfalls zwei multivariate Analysen unter Berücksichtigung der Histonmodifikation H3K36me3 durchgeführt, wobei zum einen die einzelnen Scores, zum anderen die dichotomisierte Betrachtung von H3K36me3 (Verlust * Retention) zur Analyse herangezogen wurde. In beiden Fällen blieben, wie bereits in den Kaplan-Meier-Analysen, das Alter (Cut-Off 70 Jahre), das präoperative Tumolvolumen (Cut-Off 20cm³) und der MGMT-Status signifikant und stellen folglich unabhängige prognostische Faktoren dar. Im Gegensatz zur univariaten, erreichte die Resektion in beiden multivariaten Analysen das Signifikanzniveau. Der KPS mit Cut-Off 70%, die parietale Tumorlokalisierung und die Therapie verloren, im Vergleich zur univariaten Analyse, ihre Signifikanz. Insbesondere bezüglich der Therapie konnte jedoch ein nennenswerter statistischer Trend mit Überlebensvorteil nach erfolgter Totalresektion festgestellt werden. Das Geschlecht blieb zudem auch in der multivariaten Analyse nicht signifikant. Sowohl die Betrachtung der H3K36me3-Scores, als auch die Gegenüberstellung Verlust * Retention verfehlten in der multivariaten Analyse das Signifikanzniveau,

weshalb in der vorgelegten Arbeit kein prädiktiver Wert für die H3K36me3-Expression im GBM bezüglich des OS abgeleitet werden kann.

In Tabelle 15 und Tabelle 16 wird eine vollständige Übersicht der Ergebnisse aufgezeigt.

Tabelle 15: **Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse unter Betrachtung der H3K36me3-Expression.** Sternchen (*) markieren signifikante Ergebnisse.

Variable	Risikoverhältnisse (95% KI)	p-Wert
Erkrankungsalter		
> 70 Jahre	2,268 (1,517-3,392)	<0,001*
Geschlecht		
männlich	0,810 (0,582-1,128)	0,212
KPS		
>=70%	0,950 (0,660-1,366)	0,780
Lokalisation		
parietal	0,765 (0,404-1,449)	0,411
Präoperatives Tumervolumen		
>=20cm ³	1,405 (1,032-1,914)	0,031*
Resektionsausmaß		
Totalresektion	1,886 (0,1,369-2,598)	0,028
Therapie		
Stupp-Schema	0,693 (0,478-1,004)	0,052
MGMT		
unmethyliert	1,886 (1,369-2,598)	<0,001*
H3K27me3		0,515

Variable	Risikoverhältnisse (95% KI)	p-Wert
Score 0 * Score 1	0,742 (0,168-3,285)	0,694
Score 0 * Score 2	0,886 (0,205-3,822)	0,871
Score 0 * Score 3	0,719 (0,172-3,009)	0,651
Score 0 * Score 4	0,986 (0,235-4,138)	0,984

Tabelle 16: **Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalyse unter Betrachtung eines H3K36me3-Verlusts gegenüber einer H3K36me3-Retention.** Sternchen (*) markieren signifikante Ergebnisse.

Variable	Risikoverhältnisse (95% KI)	p-Wert
Erkrankungsalter		
> 70 Jahre	2,197 (1,472-3,279)	<0,001*
Geschlecht		
männlich	0,809 (0,583-1,123)	0,206
KPS		
>=70%	0,903 (0,633-1,290)	0,576
Lokalisation		
parietal	0,768 (0,408-1,445)	0,413
Präoperatives Tumervolumen		
>=20cm ³	1,369 (1,007-1,862)	0,045*
Resektionsausmaß		
Totalresektion	1,423 (1,048-1,931)	0,024*
Therapie		
Stupp-Schema	0,694 (0,479-1,003)	0,052
MGMT		
unmethyliert	1,788(1,306-2,449)	<0,001*
H3K27me3		
Retention	0,824 (0,199-3,401)	0,789

4 DISKUSSION

Die vorgelegte Arbeit stellt eine umfangreiche Beschreibung und Untersuchung der epigenetischen Modifikationen H3K27me3 und H3K36me3 in primären hochgradigen Gliomen und deren Rezidivtumore dar. Die Expressionsanalysen wurden für die Tumorentitäten GBM, Astrozytom und Oligodendrogliom getrennt voneinander betrachtet und auf eine prognostische Wertigkeit für die Erkrankten hin untersucht. Außerdem erfolgte die statistische Auswertung nach der im Laufe der Fertigung meiner Arbeit erschienenen neuen WHO-Klassifikation der ZNS-Tumore.

In der nachfolgenden Diskussion erfolgt zunächst die Betrachtung der relevanten klinischen prognostischen Faktoren. Anschließend werden die epigenetischen Modifikationen H3K27me3 und H3K36me3 als mögliche molekulare prognostische Parameter diskutiert.

Für die Untersuchungen dieser Arbeit konnten insgesamt 423 Fälle mit primärem hochgradigem Gliom eingeschlossen werden, welche alle im Department für Neurochirurgie und Neurotechnologie des Universitätsklinikums Tübingen operiert wurden. Aufgrund der geringen Fallzahlen der Patient:innen mit Astrozytom und Oligodendrogliom war die statistische Auswertung dieser Entitäten entsprechend eingeschränkt hinsichtlich multivariater Möglichkeiten und abzuleitender Interpretationen. Folglich liegt das Hauptaugenmerk in der nachfolgenden Diskussion auf den Ergebnissen der statistischen Auswertung des GBM.

4.1 Klinische prognostische Faktoren

4.1.1 Tumorentität

Das GBM repräsentiert mit großem Abstand den häufigsten malignen und häufigsten primären neuroepithelialen Hirntumor (Ohgaki 2009; Yong und Lonser 2011; Young et al. 2017). Mit 89,4% und damit der Mehrzahl aller Fälle war das

GBM in der Studienpopulation der vorgelegten Arbeit ebenfalls am häufigsten vertreten, gefolgt von 6,1% Astrozytomen und 4,5% Oligodendrogliomen. Vergleichende Daten gibt es aus den USA, jedoch unter Berücksichtigung aller, also benigner und maligner, Hirntumore nach alter WHO-Klassifikation von 2016 (Ostrom et al. 2021). Das GBM repräsentiert dabei mit 52% die häufigste primäre Hirnneoplasie, gefolgt vom Astrozytom mit 6,8%. Das Oligodendrogliom vertritt dagegen mit 1,7% die Minderheit. Zwar sind diese Daten aufgrund des unterschiedlichen Gesamtkollektivs und der inzwischen angepassten Klassifikation nicht direkt miteinander vergleichbar, jedoch zeichnet sich dieselbe Tendenz gleichermaßen ab. Es ist allerdings zu beachten, dass es sich bei jenen Referenzuntersuchungen um eine Gesamtstatistik eines Landes (USA) handelt, im Vergleich zu den aus einem einzelnen Zentrum (Departement für Neurochirurgie und Neurotechnologie des Universitätsklinikums Tübingen) basierenden Daten dieser Arbeit.

Hinsichtlich des OS zeigten sich zur Literatur vergleichbare Ergebnisse mit einem signifikant kürzeren OS der Patient:innen mit GBM, verglichen mit der Kohorte der Astrozytome und Oligodendrogliome (Stupp et al. 2017, Ostrom et al. 2014; Liu et al. 2019). Ein aus der Literatur bekanntes ähnliches Verhalten konnte bezüglich des PFS der Gliome beobachtet werden, wobei sich die Oligodendrogliome mit dem längsten PFS präsentierten (Stupp et al. 2017). Die daraus abgeleitete bessere Prognose des Oligodendroglioms kann unter anderem mit deren hohen Sensibilität gegenüber einer Radiochemotherapie begründet werden (Buckner, 2003; G. Cairncross & Jenkins, 2008; Taal et al., 2015).

4.1.2 Erkrankungsalter

4.1.2.1 *Glioblastoma multiforme WHO IV*

Aus der Literatur sind altersabhängige Inzidenzunterschiede der Tumorentitäten bekannt (Ostrom et al. 2015; Ostrom et al. 2014; Young et al. 2017; Reardon und Wen 2006; Ostrom et al. 2021). Während Ostrom et al. von einem Häufigkeitsgipfel in der Altersgruppe 75-84 Jahre im Falle eines GBM berichtet, belief sich dieser in der Studienkohorte dieser Arbeit auf 61-70 Jahre (Ostrom et al. 2021;

Ostrom et al. 2023). Diese Differenz lässt sich möglicherweise durch das rein chirurgische Studiendesign der Arbeit erklären. Alle untersuchten Patient:innen wurden zuvor im Department für Neurochirurgie und Neurotechnologie der Universitätsklinik Tübingen operiert oder biopsiert. Anzunehmen ist, dass Patient:innen mit sehr hohem Lebensalter und stark reduziertem KPS aufgrund multipler Vorerkrankungen sich einer solchen Intervention nicht mehr unterzogen und folglich nicht in der Studie eingeschlossen wurden. Außerdem sind biopsierte Fälle häufig älter, weshalb in der vorliegenden Arbeit mit 51,6% über die Hälfte der Fälle aufgrund unzureichendem Restgewebe für die Erstellung der TMAs nicht berücksichtigt werden konnten. Im Falle einer Totalresektion bzw. subtotalen Resektion hingegen wurden aus dem selbem Grund lediglich 7,3% bzw. 6,2% herausgenommen. Des Weiteren handelt es sich bei der zitierten Referenzstudie um Daten aus den USA unter Betrachtung der veralteten WHO-Klassifikation von 2016. Astrozytome vom IDH-Wildtyp wurden in der vorliegenden Arbeit bereits als Glioblastom WHO IV gewertet, wodurch sich das daraus resultierende jüngere Erkrankungsalter der Patient:innen mit GBM in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zur zitierten Studie nachvollziehen lässt.

Des Weiteren hat sich in der Fachliteratur das Erkrankungsalter bei Diagnosestellung eines hochgradigen primären Hirntumors seit einiger Zeit als prognostischer Faktor etabliert. Zahlreiche Studien beschreiben hierbei ein kürzeres OS mit steigendem Lebensalter (Lacroix et al. 2001; Brandes 2003; Reardon und Wen 2006; Sandberg-Wollheim et al. 1991). Dies spiegelt sich in den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wider. Anhand des in der Literatur etablierten Cut-Off-Werts von 70 Jahren zeigte sich ein höheres Lebensalter bei Diagnosestellung eines GBM als signifikant prognostischer Faktor hinsichtlich eines kürzeren OS mit 9,66 im Vergleich zu 18,43 Monaten (Alexopoulos et al. 2022; Pando et al. 2022). Eine mögliche Erklärung dafür liefert der reduzierte funktionelle Status der Patient:innen ≥ 70 Jahre bei Diagnosestellung (s. Kapitel 4.1.4 KPS, Therapie).

4.1.2.2 Astrozytom WHO III und Oligodendrogliom WHO III

Für die Patient:innen mit Astrozytom wird in der Literatur das häufigste Erkrankungsalter zwischen 75-84 Jahren, bei jenen mit Oligodendrogliom mit 45-54 Jahren angegeben (Ostrom et al. 2021). Die Daten der Fälle mit Oligodendrogliom decken sich dabei mit den Auswertungen der vorliegenden Arbeit (41-50 Jahre), während in der Kohorte der Astrozytome große Unterschiede zur Literatur festgestellt werden konnten. Mutmaßlich ist dies ebenfalls durch die inzwischen neue WHO-Klassifikation der ZNS-Tumore, nach welche die Auswertung dieser Arbeit erfolgte, zu erklären (s. Kapitel 4.1.2 Erkrankungsalter Glioblastoma multiforme WHO IV).

Für die Patient:innen mit Astrozytom und Oligodendrogliom konnte in der durchgeführten CART-Analyse kein passender prognostisch relevanter Cut-Off-Wert des Alters gefunden werden. Aufgrund dessen wurde der von Pignatti et al. als prognostisch beschriebene Cut-Off-Wert von 40 Jahren in niedriggradigen Gliomen in dieser Arbeit auf hochgradige IDH-mutierte Astrozytome sowie Oligodendrogliome angewandt und untersucht (Pignatti et al. 2002). Obwohl die an einem Astrozytom erkrankten Personen ≤ 40 Jahre mit 85 Monaten durchschnittlich deutlich länger lebten als diejenigen >40 Jahre mit 38,20 Monaten, konnte diesbezüglich kein signifikanter Unterschied des OS in Abhängigkeit des Erkrankungsalters festgestellt werden. Interessant wären dieselben Untersuchungen bei einem größeren Patientenkollektiv. Bei Einordnung der Ergebnisse gilt weiterhin zu beachten, dass der Cut-Off-Wert von 40 Jahren zum einen im Jahr 2002 beschrieben wurde und sich zum anderen auf niedriggradige Gliome beschränkt, welche im Rahmen der weiterentwickelten Klassifikationen heute nach anderen Kriterien differenziert werden. Es gibt Hinweise, dass die sogenannten Pignatti-Kriterien ihren prognostischen Wert im Rahmen der aktuellen molekularen Tumordifferenzierung, insbesondere der IDH-Mutation, eingebüßt haben (Etxaniz et al. 2017). Vereinzelt Hinweise deuten auf einen höheren prognostischen Alters Cut-Off hin (Corell et al. 2018).

4.1.3 Geschlecht

4.1.3.1 *Glioblastoma multiforme WHO IV*

Mit einem Verhältnis von 1:1,7 (F:M) der an einem GBM-Erkrankten spiegelt die Studienkohorte das in der Literatur etablierte Geschlechterverhältnis wider (Ostrom et al. 2021). Entgegen der allgemeinen geschlechtsabhängigen Lebenserwartung konnte ein erwähnenswerter statistischer Trend hinsichtlich eines längeren OS des männlichen (16,50 Monate) im Vergleich zum weiblichen Geschlecht (13,46 Monate) bei knapp verfehlten Signifikanzniveau untersucht werden. Dem gegenübergestellt beschreibt Moore et al. in einer aktuellen Studie, in welcher Patient:innen im Alter zwischen 20-39 Jahren eingeschlossen wurden, einen Überlebensvorteil des weiblichen Geschlechts bei Diagnose eines GBM (Moore et al. 2022). Eine weitere Studie unterstreicht diese Beobachtung in einem Kollektiv jeden Alters (Ostrom et al. 2018). In neueren Untersuchungen wird zwar von einem allgemeinem Überlebensvorteil der Frauen mit primärem malignen Hirntumor, jedoch mit Ausnahme u.a. vom GBM berichtet (Ostrom et al. 2021), ehe in den aktuellsten Erhebungen der US-Statistik wiederum ein allgemeiner Überlebensvorteil der Frauen beim GBM festgestellt wurde (Ostrom et al. 2023). Zu berücksichtigen gilt dabei, dass in der Studie aus dem Jahr 2018 alle Patient:innen dieselbe Standardtherapie erhielten, wovon in der zitierten Fachliteratur aus den Jahren 2021 und 2023 sowie in der Studienpopulation der vorgelegten Arbeit nicht ausgegangen werden kann. Eine weitere mögliche Erklärung ist der Einfluss von Hormonen auf die Tumorgenese. Der in der Literatur beschriebene Überlebensvorteil des weiblichen Geschlechts insbesondere im jungen Alter zwischen 20 und 39 Jahren könnte auf die neuroprotektive Wirkung des Geschlechtshormons Östrogen bei prämenopausalen Frauen zurückzuführen sein (Carrano et al. 2021, 2021). Andererseits ist ein negativer Einfluss von Testosteron durch die Zunahme von Proliferation, Migration und Invasion mit Folge des Fortschreitens eines GBM bekannt (Rodríguez-Lozano et al. 2019; Bao et al. 2017). Diese beiden in der Literatur beschriebenen Annahmen könnten eine mögliche Erklärung der geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Inzidenz und Prognose eines GBM in jüngerem Alter mit Überlebensvorteil des weiblichen Geschlechts liefern, wohingegen dieser mit zunehmendem Alter abnimmt, u.a.

aufgrund des Verlusts der neuroprotektiven Wirkung des Östrogens bei postmenopausalen Frauen (McKinley et al. 2000). Bei Betrachtung des Gesamtkollektivs aller Altersgruppen, mit einem mittleren Erkrankungsalter von 62,44 Jahren in dieser Arbeit, wäre somit eine günstigere Prognose des männlichen Geschlechts erklärbar.

4.1.3.2 Astrozytom WHO III und Oligodendrogliom WHO III

Mit 1:1,9 (F:M) ist eines, zur Literatur etabliertes, ähnliches Geschlechterverhältnis in der Studienkohorte der Astrozytome dieser Arbeit zu erkennen (Ostrom et al. 2021). Ebenso kann von einer Kohärenz der Geschlechtzugehörigkeit der Erkrankten mit Oligodendrogliom ausgegangen werden. Liu et al. beschreiben hierfür ein Verhältnis Frauen zu Männern von 1:1,28 im Vergleich zu 1:1,25 in dieser Arbeit (Liu et al., 2019).

Moore et al. beschreiben in einer aktuellen Studie einen Überlebensvorteil des weiblichen Geschlechts bei Diagnose eines Astrozytoms sowie eines Oligodendroglioms im jungen Alter (Moore et al. 2022). Im Gegensatz dazu konnte in der vorliegenden Arbeit ein längeres Gesamtüberleben des männlichen mit 31,71 Monaten im Vergleich zu 26,00 Monaten des weiblichen Geschlechts bei Betrachtung der Fälle mit Astrozytom festgestellt werden. Im Falle eines Oligodendroglioms lebte die weibliche Kohorte mit 55,00 Monaten unwesentlich kürzer als die Männer mit 55,60 Monaten. Zu berücksichtigen gilt hier bei beiden Tumorentitäten zum einen die sehr geringe Fallzahl und die damit auf das Gesamtkollektiv repräsentative Einschränkung. Zum anderen wurden in der oben genannten Studie lediglich junge Betroffene im Alter zwischen 20-39 Jahre eingeschlossen. In der Kohorte dieser Arbeit waren Patient:innen im Alter von 26-79 (Astrozytom) bzw. 26-75 Jahren (Oligodendrogliom) vertreten.

4.1.4 KPS, Therapie

4.1.4.1 Glioblastoma multiforme WHO IV

In der Literatur hat sich für den KPS ein Cut-Off-Wert von 70% etabliert (Stupp et al. 2005; Sacko et al. 2015). Dieser dient u.a. der weiteren Therapie-

entscheidung. Weiterhin wird der KPS als wichtiger prognostischer Faktor bei Patient:innen mit GBM beschrieben (Lacroix et al. 2001; Brandes 2003; Reardon und Wen 2006; Sandberg-Wollheim et al. 1991). Ein stark reduzierter Allgemeinzustand der Erkrankten (KPS<70%) zeigte in der univariaten Analyse, im Sinne eines kürzeren OS, eine signifikant schlechtere Prognose, verfehlte jedoch in den multivariaten Analysen das Signifikanzniveau. Somit stellt der KPS keinen unabhängigen signifikanten prognostischen Parameter dar, was u.a. durch eine mögliche Abhängigkeit des KPS vom Erkrankungsalter nachzuvollziehen wäre. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte weiterhin die Rolle des KPS als wichtiger klinischer Indikator für die Wahl des Therapieregimes liefern. Eine standardisierte Therapie nach Stupp, bestehend aus einer Radiochemotherapie nach zuvor erfolgter chirurgischer Tumoresektion, erhalten demnach fast ausschließlich Patient:innen mit KPS $\geq 70\%$ (Stupp et al. 2005).

Die 2005 etablierte Standardtherapie nach Stupp konnte zuletzt eine verbesserte Prognose im Gegensatz zu herkömmlichen Therapien aufzeigen (Stupp et al. 2005). Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, wobei die Behandlung mittels Radiochemotherapie nach Stupp mit einem signifikant längeren Überleben im Vergleich zur reinen Radiotherapie bzw. reinen Chemotherapie der Erkrankten einhergeht und sich weiterhin als signifikanter unabhängiger prädiktiver Wert in den multivariaten Analysen der H3K27me3-Expression herausstellte. Ebenso konnte in den Analysen unter Berücksichtigung der H3K36me3-Expression ein klarer statistischer Trend mit einem knapp verfehlten Signifikanzniveau aufgezeigt werden.

4.1.4.2 Astrozytom WHO III und Oligodendrogliom WHO III

In der Literatur wird der funktionelle Status als wichtiger prognostischer Faktor bei Patient:innen mit Astrozytom beschrieben (Curran et al. 1993; Kizilbash et al. 2014). Aufgrund der jedoch sehr geringen Fallzahl der Astrozytome, ebenso wie die Oligodendrogliome waren weitere statistische Auswertungen hinsichtlich der prognostischen Relevanz des KPS in diesen Tumorentitäten nicht möglich und werden somit nicht diskutiert.

Im Anschluss an die chirurgische Tumorresektion hat sich die Chemotherapie mit TMZ bei Patient:innen mit Astrozytom aufgrund dessen positiven Effekts auf die Prognose bei IDH-mutierten Astrozytomen etabliert (van den Bent, Martin J. et al. 2021). Dennoch erfolgte in der untersuchten Patientenkohorte in vier Fällen eine Radiochemotherapie nach Stupp. Dies lässt sich möglicherweise anhand der neuen WHO-Klassifikation erklären, welche bei der statistischen Auswertung bereits berücksichtigt wurde, jedoch bei der initialen Therapieentscheidung (Fälle von 1992-2015) noch keine Beachtung fand. Entgegen den Erwartungen hinsichtlich des OS in Abhängigkeit der erfolgten Therapie zeigten in der vorliegenden Arbeit die Patient:innen mit adjuvanter Chemotherapie das kürzeste mittlere Gesamtüberleben im Vergleich zur adjuvanten Radiotherapie bzw. Radiochemotherapie nach Stupp. Neben der eingeschränkten statistischen Aussagekraft aufgrund der niedrigen Fallzahlen ist weiterhin die zeitliche Veröffentlichung der Studie von van den Bent et al. (05/2021) vor jener der neuen WHO-Klassifikation (08/2021) zu beachten (Louis et al. 2021; van den Bent, Martin J. et al. 2021). Nach Louis et al. werden seit 2021 IDH-mutierte GBM als IDH-mutierte Astrozytome definiert (Louis et al. 2021). Diese fanden folglich in der Studie von van den Bent et al. noch keine Berücksichtigung (van den Bent, Martin J. et al. 2021), wohingegen sich selbe in der vorliegenden Arbeit bereits in der Kohorte der Astrozytome wiederfanden. Möglicherweise liefert diese Beobachtung eine Erklärung für die differierenden Ergebnisse und sollte in zukünftigen Studien anhand einer größeren Fallzahl erneut untersucht werden.

In der Behandlung der Oligodendrogliome hat sich die Chemotherapie mit PCV nach erfolgter Radiotherapie im Anschluss an die chirurgische Tumorresektion durchgesetzt (van den Bent, Martin J. et al. 2013). Zurückzuführen ist dies auf die hohe Chemosensibilität oligodendroglialer im Vergleich zu astrozytärer Tumorentitäten (Galanis und Buckner 2000; Cairncross und Macdonald 1988; Khan et al. 2014). Entgegen den allgemeinen Annahmen eines längeren mittleren Gesamtüberlebens bei Erhalt einer Chemotherapie, präsentierte sich die Kohorte dieser Arbeit nach reiner Radiotherapie mit dem längsten OS und somit der günstigsten Prognose. Aufgrund der sehr geringen Fallzahlen ist die statistische Aussagekraft jedoch auch in diesem Fall stark eingeschränkt und lässt die

Vermutung inadäquater, nicht auf das Gesamtkollektiv der Oligodendrogliome übertragbarer, Werte zu.

4.1.5 Resektionsausmaß

4.1.5.1. *Glioblastoma multiforme WHO IV*

Das Resektionsausmaß wird in der Behandlung hochgradiger Gliome in der Literatur als ein signifikant unabhängiger prognostischer Faktor beschrieben (Mahboob und Eljamel 2017, Karschnia et al. 2022). Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, in welcher sich die Patient:innen mit erhaltener Totalresektion durch das längste OS präsentierten und weiterhin sich die Totalresektion (vs. Non-Totalresektion) in drei der vier durchgeführten multivariaten Analysen als unabhängiger signifikanter prädiktiver Faktor herausstellte. Die Einordnung der Ergebnisse und der Vergleich mit der Literatur ist jedoch aufgrund der variablen Definition des Resektionsausmaßes verschiedener klinischer Studien erschwert. Basierend auf dieser Problematik entwickelten Karschnia et al. die sogenannten „RANO-Kriterien“, wonach mittels MRT das postoperative Resektionsausmaß nach genau definierten Klassen beurteilt wird (Karschnia et al. 2022). Interessant wären zukünftige Studien des postoperativen Tumolvolumens bei Patient:innen mit GBM unter Berücksichtigung dieses neuen Stratifizierungsmodells um das Resektionsausmaß als prognostischen Faktor weiter zu untersuchen.

4.1.5.2 *Astrozytom WHO III und Oligodendrogliom WHO III*

In der Kohorte der Astrozytome konnte ein signifikant längeres OS nach durchgeführter Totalresektion des Tumors festgestellt werden. Dies deckt sich mit den aus der Literatur bekannten Beobachtungen (Mahboob und Eljamel 2017). Jedoch ist die statistische Aussagekraft aufgrund der geringen Fallzahl in der vorliegenden Arbeit stark eingeschränkt.

Hinsichtlich der Behandlung eines Oligodendroglioms berichtet eine Studie von einem fehlenden Zusammenhang zwischen einer vollständigen Tumorsektion und dem Gesamtüberleben der Patient:innen (Alattar et al. 2018).

Interessanterweise konnte auch in der vorliegenden Arbeit ein längeres, jedoch nicht signifikantes OS, bei den Patient:innen nach subtotaler Resektion im Vergleich zu denjenigen mit Totalresektion beobachtet werden. Möglicherweise liefert die hohe Chemosensitivität der Oligodendrogliome hierfür eine Erklärung und könnte weiterhin den hohen Stellenwert der Chemotherapie in der Behandlung dieser Tumorentität unterstreichen (Galani und Buckner 2000; Cairncross und Macdonald 1988; Khan et al. 2014).

4.1.6 Lokalisation

4.1.6.1 *Glioblastoma multiforme WHO IV*

In der Studienpopulation der vorgelegten Arbeit konnten bei den Patient:innen mit GBM eine, zu der in der Literatur beschriebenen, passende Häufigkeitsverteilung der betroffenen Hirnlappen beobachtet werden (Ostrom et al. 2015). So waren auch in dieser Arbeit der Frontal (21,2%)- und Temporallappen (21,8%) als häufigste Lokalisationen betroffen. In älteren Studien wird die Tumorlokalisation als nicht prädiktiver Faktor beim GBM beschrieben (Hammoud et al. 1996; Lacroix et al. 2001; Henker et al. 2017). Zu unterscheiden ist hierbei, dass bei Lacroix et al. und Henker et al. die statistische Auswertung, anders als in der vorliegenden Arbeit, nach zuvor erfolgter Zuordnung zu eloquenten Arealen, also Hirnregionen mit eigenständigen Funktionen, erfolgte. Raysi Dehcordi et al. stellt in einer neueren Studie die interessante These einer Frontallappen-assoziierten günstigeren Prognose des GBM auf, wobei hier auf die bessere Chemosensitivität bei gehäufterem Auftreten von MGMT+ in dieser Hirnregion Bezug genommen wird (Raysi Dehcordi et al. 2023). In der vorliegenden Patientenkohorte konnte hingegen eine parietale Tumorbeteiligung mit einem in der univariaten Analyse signifikant längeren OS im Vergleich zur non-parietalen Lokalisation gezeigt werden, verfehlte jedoch ferner das Signifikanzniveau in den multivariaten Analysen. Möglicherweise spielen auch bei der parietalen Tumorbeteiligung molekulare Marker und deren heterogene Verteilung eine wichtige Rolle. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten epigenetischen Modifikationen H3K27me3 und H3K36me3 zeigten diesbezüglich keinen signifikanten Unterschied in ihrer

Expression. Dennoch bleibt die Tumorlokalisation als möglicher prognostischer Parameter in Verbindung mit denkbaren molekularen Veränderungen bei Patient:innen mit GBM interessant und könnte Bestandteil zukünftiger Studien werden, um darauf aufbauend möglicherweise neue Therapiekonzepte zu erarbeiten.

4.1.6.2 Astrozytom WHO III und Oligodendrogliom WHO III

Wie in der Literatur beschrieben, konnten in der Studienpopulation dieser Arbeit der Frontal (42,3%)- und Temporallappen (7,7%), gefolgt vom Parietallappen (7,7%) als häufigste Lokalisationen der Astrozytome, ebenso wie der Frontallappen (55,6%) als häufigste Lokalisation der Oligodendrogliome detektiert werden (Ostrom et al. 2015).

4.1.7 Präoperatives Tumolvolumen

4.1.7.1 Glioblastoma multiforme WHO IV

Die Rolle des präoperativen Tumolvolumens hinsichtlich der Prognose von GBM-Patient:innen wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Während ältere Studien das präoperative Tumolvolumen als nicht signifikanten prädiktiven Faktor hinsichtlich des OS beschreiben (Iliadis et al. 2009; Wood et al. 1988), führt eine neuere Studie die präoperative zweidimensionale Tumorgroße als signifikanten Faktor für das Überleben der Erkrankten auf (Leu et al. 2018). In der vorliegenden Arbeit ist ein kleines präoperatives Tumolvolumen ($\leq 20\text{cm}^3$) mit einem signifikant längeren OS assoziiert und stellte sich weiterhin in drei der vier durchgeführten multivariaten Analyse als unabhängiger signifikanter prädiktiver Faktor heraus. Somit bekräftigen die Ergebnisse dieser Arbeit die von Leu et al. beschriebenen Beobachtungen. Allerdings gilt jedoch die bei Leu et al. verwendeten zweidimensionalen, im Unterschied zur in dieser Arbeit erfolgten dreidimensionalen volumetrischen Messung, zu berücksichtigen, weshalb der Vergleich beider Arbeiten nur eingeschränkt möglich ist. Gleiches gilt für die Studie von Iliadis et al., in welcher die statistische Auswertung nach Zuteilung der Erkrankten anhand des zuvor errechneten Medians des präoperativen Tumolvolumens von

33,9cm³ erfolgte. Im Gegensatz dazu wurde in der vorliegenden Arbeit der Cut-Off-Wert nach zuvor durchgeführter CART-Analyse auf 20cm³ festgelegt. Möglicherweise liegt in der Verwendung unterschiedlicher Cut-Off-Werte die Erklärung der differierenden Ergebnisse hinsichtlich des prognostischen Werts auf das OS der Patient:innen. Zukünftige Studien mit demselben Cut-Off-Wert sowie vergleichbarer Messmethode- und Einheit könnten diesbezüglich weiter Klarheit bringen.

4.1.7.2 Astrozytom WHO III und Oligodendrogliom WHO III

In beiden Tumorentitäten (Astrozytom und Oligodendrogliom) zeichnete sich ein längeres OS bei kleinem Tumolvolumen (<20cm³) ab, ohne jedoch das Signifikanzniveau zu erreichen. Die günstigere Prognose bei kleinem Tumolvolumen deckt sich mit den in der Literatur dargestellten Untersuchungen bei Gliomen WHO II und III (Ius et al. 2022; Sauvageot et al. 2023; Dobran et al. 2024). Allerdings ist auch hier die sehr kleine Fallzahl zu berücksichtigen, die nur eine geringe statistische Aussagekraft zulässt.

4.2 Molekulare prognostische Faktoren

4.2.1 H3K27me3

4.2.1.1 Häufigkeitsverteilung der Ausprägungsgrade

Im Falle astrozytärer Tumore, einschließlich GBM, wurde in der Vergangenheit in unterschiedlichen Studien eine Retention von H3K27me3 beobachtet (Filipski et al. 2019; Pekmezci et al. 2020; Feller et al. 2020). Pekmezci et al. definiert hierbei eine Retention als ein Vorhandensein von H3K27me3 jeglicher Ausprägung. Lediglich eine fehlende Expression mit gleichzeitigem Nachweis einer Positivkontrolle wurde als H3K27me3-Verlust gewertet. Folglich wurde dieselbe Methodik wie in der vorliegenden Arbeit angewandt und lässt dadurch einen Vergleich der Ergebnisse zu. In der Studienpopulation dieser Arbeit zeigte sich in der großen Mehrzahl der Fälle mit 94,9% beim GBM und 88,0% beim Astrozytom eine Retention von H3K27me3 und deckt sich somit mit der Literatur (Pekmezci

et al. 2020). Interessant sind zudem Beobachtungen, wonach Oligodendrogliome häufiger einen Verlust von H3K27me3 aufweisen, ebenso wie IDH-mutierte Astrozytome im Vergleich zu denjenigen vom IDH-Wildtyp (GBM) (Pekmezci et al. 2020; Wang et al. 2023; Turcan et al. 2018). Auf die Fälle mit astrozytärer Tumorentität kann dies in der Studienpopulation der vorliegenden Arbeit nicht bezogen werden. Hingegen bildet sich die in der Literatur beschriebene schwache H3K27me3-Expression im Falle von Oligodendrogliomen mit Score 1 in 61,1% aller Fälle in der Kohorte der vorgelegten Arbeit ab. Allerdings differiert der Anteil der Fälle mit vollständigem H3K27me3-Verlust zwischen der Literatur (75,0%) und der vorliegenden Arbeit (11,8%) deutlich (Pekmezci et al. 2020). Der mögliche Zusammenhang zwischen vorliegender IDH-Mutation und H3K27me3-Verlust in hochgradigen Gliomen bleibt interessant und sollte insbesondere für die IDH-mutierten Astrozytome und Oligodendrogliome anhand größerer Patientenkohorten weiter untersucht werden. Insbesondere vor dem Hintergrund, dass IDH-mutierte Zellen über Zwischenschritte die Histonmethylierung positiv beeinträchtigen können und somit, entgegen den Untersuchungsergebnissen, eine stärkere Anreicherung von H3K27me3 in IDH-mutierten Tumorentitäten zu erwarten wäre (Turcan et al. 2012; Lu et al. 2012).

In der Literatur werden altersabhängige Unterschiede der H3K27me3-Expression in hochgradigen Gliomen beschrieben (Meyronet et al. 2017). Demnach treten Gliome mit H3K27me3-Verlust insbesondere im Kindesalter in Erscheinung, während weiterhin auch im Erwachsenenalter ein junges mittleres Erkrankungsalter von lediglich 32 Jahren bei einer Altersspanne von 18-82 Jahren beobachtet wurde (Meyronet et al. 2017). In derselben Studie zeigte sich außerdem ein im Vergleich höheres mittleres Erkrankungsalter von 64 Jahren bei Gliomen vom IDH-Wildtyp mit gleichzeitigem H3K27me3-Verlust (Meyronet et al. 2017). Im Falle eines Astrozytoms bzw. Oligodendroglioms (per definitionem IDH-mutiert) mit H3K27me3-Verlust unterstreicht das Erkrankungsalter von 41,33 bzw. 39 Jahren in der vorliegenden Arbeit die These eines jüngeren Erkrankungsalters bei Diagnosestellung IDH- und H3K27me3-mutierter Gliome, im Vergleich zu 62,06 Jahren in der Kohorte der Patient:innen mit per definitionem IDH-Wildtyp GBM und H3K27me3-Verlust. Folglich lassen die Ergebnisse dieser Arbeit

gerechtfertigte Rückschlüsse auf die Untersuchungen von Meyronet et al. zu, wonach IDH-Wildtyp, H3K27me₃-mutierte Gliome mit einem höheren Erkrankungsalter assoziiert sind (Meyronet et al. 2017). Zu diskutieren ist hierbei, inwieweit das Erkrankungsalter tatsächlich von der Histonmodifikation H3K27me₃ beeinflusst wird. Betrachtet man lediglich den IDH-Status der Patient:innen (Astrozytom u. Oligodendrogliom vs. GBM), so zeigt sich ein signifikant höheres Erkrankungsalter bei Patient:innen mit GBM (IDH-Wildtyp). Im Gegensatz dazu verhält sich das mittlere Erkrankungsalter in Abhängigkeit des H3K27me₃-Status (Verlust vs. Retention) beim GBM sehr ähnlich, während beim Astrozytom eine signifikante Differenz, jedoch bei sehr kleiner Fallzahl, festgestellt werden konnte. Beim Oligodendrogliom war hingegen aufgrund unzureichender Fälle kein Mittelwertvergleich möglich.

Zur Einordnung der geschlechtsabhängigen Expression von H3K27me₃ konnten in der Literatur keine vergleichbaren Untersuchungen bei hochgradigen Gliomen gefunden werden. In der vorliegenden Arbeit konnte beim GBM für das männliche Geschlecht (M:F=5:1) häufiger ein H3K27me₃-Verlust beobachtet werden, während es sich beim Astrozytom gegensätzlich verhielt (M:F=1:3). Der einzige Fall eines Oligodendroglioms mit H3K27me₃-Verlust war männlichen Geschlechts. Folglich zeigten sich zwischen den untersuchten hochgradigen Tumorentitäten hinsichtlich der geschlechtsabhängigen H3K27me₃-Expression deutliche Unterschiede, sodass keine allgemeingültige Aussage diesbezüglich getroffen werden kann.

In der vorliegenden Arbeit konnte eine parietale Tumorbeteiligung sowie ein KPS $\geq 70\%$ mit einem signifikant längeren Überleben in der univariaten Analyse bei GBM-Patient:innen in Verbindung gebracht werden. Ein Expressionsunterschied von H3K27me₃ konnte hingegen weder bei Betrachtung der Tumorlokalisation noch beim KPS festgestellt werden.

4.2.1.2 H3K27me₃ als prognostischer Faktor

Die epigenetische Modifikation H3K27me₃ wurde bereits in zahlreichen Krebsarten untersucht, wobei sowohl dessen verstärkte Expression als auch dessen Verlust bei unterschiedlichen malignen Neoplasien als prognostischer Faktor

identifiziert wurde (Day et al. 2022). Während in DIPG, Meningeomen und Ependymomen der H3K27me3-Verlust in Zusammenhang mit einer ungünstigen Prognose gebracht wird (Castel et al. 2015; Nassiri et al. 2021; Katz et al. 2018; Panwalkar et al. 2017), wurde dieser hingegen bei Patient:innen mit diffusen Gliomen, einschließlich Oligodendrogliomen, Astrozytomen und Glioblastomen, mit einer günstigen Prognose assoziiert (Filipski et al. 2019). Entgegen den Beobachtungen von Filipski et al. konnte bei Patient:innen mit Diagnose GBM in der vorliegenden Arbeit kein signifikanter prognostischer Unterschied des OS in Abhängigkeit der H3K27me3-Expression festgestellt werden. Jedoch zeigte sich ein erwähnenswerter statistischer Trend im Sinne eines längeren OS bei H3K27me3-Retention. Passend hierzu konnte in der Patientenkohorte mit GBM in der vorliegenden Arbeit ein signifikant kürzeres PFS im Falle eines vollständigen H3K27me3-Verlusts im Vergleich zur Retention dergleichen festgestellt werden. Somit decken sich die Ergebnisse dieser Arbeit, entgegen den Erwartungen, mit den oben beschriebenen Untersuchungen bei DIPG, Ependymomen und Meningeomen, nicht aber mit jenen der diffusen Gliome. Beim Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit jenen der Studie von Filipski et al. ist die unterschiedliche Fallauswahl der Patient:innen zu berücksichtigen. Während Filipski et al. die statistischen Auswertungen anhand einer nicht-molekular klassifizierten Kohorte vornahm, erfolgten die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit nach Tumorentitäten getrennt voneinander. Aus der Literatur ist die im Vergleich zum GBM oder Astrozytom bessere Prognose der Oligodendrogliome bekannt (Buckner 2003; Taal et al. 2015; Cairncross und Jenkins 2008). Letztere werden weiterhin mit einem weitestgehenden Verlust von H3K27me3 assoziiert (Filipski et al. 2019; Pekmezci et al. 2020; Feller et al. 2020). Da neben den Astrozytomen und dem GBM in der Arbeit von Filipski et al. ebenso die Oligodendrogliome berücksichtigt wurden, könnte der beschriebene Zusammenhang eine Erklärung für die bessere Prognose im Falle eines H3K27me3-Verlusts in der Studie von Filipski et al. sein (Filipski et al. 2019). Gleichermäßen geltend für die auf oligodendrogliale Entitäten beschränkten Untersuchungen von Ammendola et al. (Filipski et al. 2019; Ammendola et al. 2021).

4.2.2 H3K36me3

4.2.2.1 Häufigkeitsverteilung der Ausprägungsgrade

Über die charakteristischen Eigenschaften der Patient:innen mit hochgradigen Gliomen in Abhängigkeit der vorliegenden H3K36me3-Expression ist bislang wenig bekannt. Ein gehäuftes Auftreten eines H3K36me3-Verlusts wird in der Literatur bei DIPG und Kleinhirngliomen beobachtet (Fang et al. 2018; Nomura et al. 2017). In der vorliegenden Arbeit konnte hingegen kein signifikanter Unterschied in der Expression der untersuchten epigenetischen Modifikation in Abhängigkeit der Tumorlokalisation gefunden werden.

In neueren Studien wurde weiterhin eine gehäufte Retention von H3K36me3 in IDH-mutierten Gliomen (Astrozytom, Oligodendrogliom) beobachtet (Turcan et al. 2018; Wang et al. 2023). Nach der aktuellen WHO-Klassifikation werden Oligodendrogliome und Astrozytome durch eben jene IDH-Mutation definiert, im Gegensatz zu den in dieser Arbeit ebenso untersuchten Glioblastomen. In der vorliegenden Arbeit zeigte sich, wie in der Literatur beschrieben, eine Tendenz in Richtung einer starken Expression in IDH-mutierten Gliomen (Astrozytome, Oligodendrogliome), jedoch konnte selbe Beobachtung auch für die Patientenkohorte mit GBM gemacht werden. Ein H3K36me3-Verlust zeigte sich hingegen in lediglich 1,9% der Glioblastome, in 8% der Astrozytome und in keinem der Oligodendrogliome.

In der Fachliteratur wird weiterhin eine SETD-2-Mutation mit daraus resultierender H3K36me3-Reduktion insbesondere bei Kindern und jungen Erwachsenen mit hochgradigen Gliomen beschrieben (Fontebasso et al. 2013; Schwartzentruber et al. 2012; Brennan et al. 2013). Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen der GBM-Patient:innen der vorliegenden Arbeit. Hierbei konnte, ausgenommen des H3K36me3-Verlusts, mit stärkerer Expression ein höheres Erkrankungsalter festgestellt werden. Im Gegensatz hierzu präsentierten sich diejenigen mit Oligodendrogliom bei stärkerer Expression mit einem jüngeren Erkrankungsalter bei Diagnosestellung. In der Kohorte der Astrozytome zeichnete sich keine Tendenz des Erkrankungsalters in Abhängigkeit der H3K36me3-Expression ab. Während in der oben aufgeführten Studie von Schwartzentruber et

al. hochgradige Gliome unabhängig deren Entität untersucht wurden, erfolgte in der vorliegenden Arbeit eine separate Auswertung der Entitäten hochgradiger Gliome. Bekannt ist, dass das GBM die mit Abstand häufigste primäre und maligne Hirneoplasie im Erwachsenenalter darstellt (Ostrom et al. 2021). So ist anzunehmen, dass auch in den zitierten Studienergebnissen die Mehrzahl der Kohorte aus GBM-Patient:innen besteht und sich somit mit den Ergebnissen dieser Arbeit decken könnten. Interessant wären folglich zukünftige Studien insbesondere der IDH-mutierten Gliome Astrozytom und Oligodendrogliom anhand einer größeren Fallzahl, um eine allgemeingültigere Aussage über das Erkrankungsalter in Abhängigkeit der H3K36me3-Expression in diesen Tumorentitäten treffen zu können.

Hinsichtlich der H3K36me3-Expression in Abhängigkeit des Geschlechts oder des KPS der Patient:innen zeigte sich in keiner der untersuchten Tumorentitäten (GBM, Astrozytom, Oligodendrogliom) ein signifikanter Unterschied oder erwähnenswerter statistischer Trend. In der Literatur konnten diesbezüglich keine vergleichbaren Studien gefunden werden.

4.2.2.2 H3K36me3 als prognostischer Faktor

Die Daten hinsichtlich des Langzeitüberlebens bei vorliegender H3K36M-Mutation beschränken sich bislang auf vereinzelte Studien. Dennoch vertreten diverser Fachliteraturen die Annahme einer ungünstigeren Prognose bei geringer H3K36me3-Expression durch zugrunde liegende Mutationen, unter anderem in diffusen intrinsischen pontinen Gliomen (Chen et al, 2020, Fang et al 2018). Goldstein et al. beschreiben in Anlehnung daran in einer weiteren aktuellen Studie ein kürzeres PFS bei geringer H3K36me3-Expression bei GBM-Patient:innen (Goldstein et al. 2022). Ähnliche Beobachtungen konnten auch in der vorliegenden Arbeit gemacht werden. Unter den Patient:innen mit GBM zeigte sich ein erwähnenswerter statistischer Trend hinsichtlich eines kürzeren OS mit 13,33 im Vergleich zu 15,75 Monaten bei vollständigem H3K36me3-Verlust. Das PFS belief sich annähernd gleich mit 8,18 Monaten bei H3K36me3-Expression <25% im Vergleich zu 8,86 Monaten bei >25%. In beiden Fällen wurde das Signifikanzniveau jedoch verfehlt. Bei Einordnung der Ergebnisse gilt zu beachten, dass

Goldstein et al. in seiner Studie, anders als in der vorliegenden Arbeit, GBM-Patient:innen einbezog, welche bei MGMT+ eine Chemotherapie mit TMZ erhielten, weshalb der Autor diese Beobachtungen auf eine Chemoresistenz im Rahmen einer H3K36me3-Reduktion zurückführt. Außerdem wurde insbesondere die SETD2-bedingte H3K36me3-Reduktion untersucht (Goldstein et al. 2022), während in dieser Arbeit die H3K36me3-Reduktion unabhängig deren Ursache einbezogen wurde .

Die sich teilweise mit der Literatur deckenden Ergebnisse im Sinne einer ungünstigeren Prognose bei vollständigem H3K36me3-Verlust lassen sich durch die Beteiligung von H3K36me3 an der Regulierung der Genexpression und Reparatur von DNA-Schäden erklären (Xiao et al. 2021; Duns et al. 2010; Sun et al. 2020). Paradoxerweise wurde jedoch für die Scores >0 mit zunehmender H3K36me3-Expression eine ungünstigere Prognose mit kürzerem OS beobachtet. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte der in der Literatur beschriebene Zusammenhang zwischen einer H3K36me3-Retention und einem H3K27me3-Verlust liefern (Klein et al. 2018; Yuan et al. 2011). Letzterer wird, wie bereits erwähnt, ebenso mit einer ungünstigeren Prognose in Verbindung gebracht und zeigt auch in der vorliegenden Arbeit einen statistischen Trend dahingehend (Castel et al. 2015; Nassiri et al. 2021; Katz et al. 2018; Panwalkar et al. 2017). Der eben beschriebene Zusammenhang könnte bei vorliegender H3K36me3-Retention eine mögliche Erklärung für eine ungünstigere Prognose bei zunehmender Stärke der Expression liefern. Möglicherweise überwiegen dabei die Nachteile eines H3K27me3-Verlusts den Vorteilen einer H3K36me3-Retention. Ein vollständiger Verlust von H3K36me3 hingegen könnte in dieser Theorie wiederum ebenso wenig kompensiert werden und würde somit auch zu einer ungünstigeren Prognose führen.

Anders verhielt es sich in der Patientenkohorte mit diagnostiziertem Astrozytom, in welcher eine starke H3K36me3-Expression (Cut-Off 50% und 75%) mit einem signifikant kürzeren OS in Verbindung gebracht werden konnte. Aufgrund der sehr geringen Fallzahl konnte jedoch weiterhin keine multivariate Analyse erfolgen. So lassen sich diese Ergebnisse nur bedingt auf das Gesamtkollektiv dieser

Tumorentitäten übertragen. Zukünftige Studien mit einer größeren Fallzahl könnte diesbezüglich Aufschluss geben.

4.2.2.3 H3K27me3 und H3K36me3 in Rezidivtumore

Bisher gibt es keine Studien, welche die Entwicklung der H3K27me3- bzw. H3K36me3- Expression zwischen Primär- und Rezidivtumor untersuchten. In der vorgelegten Arbeit erfolgte die Auswertung des medianen Scores aller Rezidivtumore mit demselben Score im Primärtumor. Hierbei konnte bei Betrachtung beider aufgeführten Histonmodifikationen der gleiche bzw. ein geringfügig abweichender medianer Score in den Rezidivtumoren im Vergleich zu den untersuchten Scores im Primärtumor bei Patient:innen mit GBM festgestellt werden. Um eine eindeutige Aussage über die Entwicklung der H3K27me3- bzw. H3K36me3- Expression im Verlauf einer Erkrankung eines primären hochgradigen Glioms treffen zu können, sind jedoch Vergleiche und Analysen direkt miteinander korrelierender Tumore desselben Betroffenen notwendig.

4.3 Limitationen der Studie

Die Arbeit umfasst eine große Fallzahl an primären hochgradigen Gliomen mit einem umfangreichen Datensatz an klinischen Parametern über einen großen Zeitraum mit langen Verläufen. Zudem bietet das immunhistochemische Verfahren ein leicht verfügbares, schnelles und kosteneffizientes Verfahren der Gewebeanalyse.

Dennoch weiß ich auch um die Schwächen dieser Arbeit. Die Auswertung der immunhistochemischen nukleären Färbung erfolgte durch eine visuelle mikroskopische Beurteilung durch eine einzige Person, was zu einer eingeschränkten Objektivität der Ergebnisse führt. Eine digitale bildgestützte Quantifizierung der Immunexpression von H3K27me3 und H3K36me3 könnte diese Fehlerquelle reduzieren. Bekannt ist zudem eine möglicherweise schwächere Färbung in älteren Proben, was zu einer fälschlichen Zuordnung von Fällen zu einer reduzierten Expression der epigenetischen Modifikationen H3K27me3 und H3K36me3 geführt haben könnte. Die immunhistochemische Auswertung von H3K27me3 erfolgte

außerdem für Proben >10 Jahre nach zuvor verändertem Verdünnungsverhältnis von 1:200 auf 1:100. Ein Einfluss auf das Scoring ist diesbezüglich dennoch unwahrscheinlich, da die Auswertung nicht nach der Intensität der Färbung erfolgte. In 36,5% bzw. 32,1% der Fälle konnte ein „mismatch“ zweier Tumorproben innerhalb eines Patientenfalls für H3K27me3 bzw. H3K36me3 beobachtet werden, was die Eignung der TMA-Methode für diese Tumorentitäten und molekularen Marker in Frage stellen lässt. Hierbei handelt es sich jedoch in der großen Mehrzahl der Fälle mit 90% bzw. 85% um eine Nichtübereinstimmung von lediglich einem Score Punkt.

Weiterhin bleibt insbesondere die Art der Auswertung immunhistochemischer Färbungen bei Gliomen fraglich. Bei Meningeomen und Ependynomen erfolgt die Auswertung dichotomisiert (Verlust vs. Retention), wobei der Verlust durch positive Gefäßproliferate bei sonst negativem Tumor beschrieben wird. Hiervon abweichend wurde in der vorliegenden Arbeit ein mehrgliedriger Score angewandt, was einen genaueren Vergleich der Expressionsmuster von H3K27me3 und H3K36me3 ermöglicht.

Zu den größten Einschränkungen zählt außerdem das retrospektive Studiendesign und die geringe Fallzahl der Astrozytome und Oligodendrogliome, was die statistische Aussagekraft stark einschränkt.

Einer veränderten Expression der epigenetischen Modifikationen können unterschiedliche Mutationen zugrunde liegen, die in dieser Arbeit nicht weiter untersucht wurden. Hierfür werden weitere Studien notwendig sein, um eine eindeutigere prognostische Relevanz von H3K36me3 und H3K27me3 in hochgradigen Gliomen beurteilen zu können und um gegebenenfalls eine spezifische, zielgerichtete Therapie zu etablieren.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Hirneigene Tumore wie das Glioblastom (GBM), das Astrozytom und das Oligodendrogliom zeichnen sich durch infiltratives Wachstum aus. Darunter vertritt das GBM die häufigste primäre und maligne Hirnneoplasie im Erwachsenenalter. Trotz multimodaler Behandlungen nach chirurgischer Tumorresektion ist die Prognose dieser Entitäten sehr schlecht. Praktisch alle Tumore rezidivieren im Verlauf der Erkrankung, was das Gesamtüberleben der Patient:innen entscheidend limitiert.

Vielversprechende Therapieansätze zielen dabei auf die molekularen Marker H3K27me3 und H3K36me3 ab. Zum einen auf einen Proteinkomplex im Zellkern, den Polycomb-repressiven Komplex 2 (PRC2), welcher im nicht-mutierten Zustand die Trimethylierung zu H3K27me3 katalysiert. Auf der anderen Seite konnten mit H3K36me3-Demethylase-Inhibitoren oder einer gegen das Enzym SET-Domäne 2 (SETD2)-gerichteten Therapie vielversprechende Ergebnisse in anderen Krebsarten erzielt werden.

Auf Tissue Microarrays arrangiert, wurden in der vorliegenden Arbeit 423 Patientenproben (378 GBM, 26 Astrozytom, 19 Oligodendrogliom) für H3K27me3 und H3K36me3 immunhistochemisch gefärbt, deren Expressionsmuster durch einen semiquantitativen Score von 0-4 beurteilt und anschließend mit klinischen Daten verglichen wurden.

Interessant war diesbezüglich die Beobachtung einer schwachen H3K27me3-Expression (häufigste Expression: <25%) im Patientenkollektiv der Oligodendrogliome, während im Falle der Astrozytome oder GBM eine sehr homogene Verteilung der Scores festzustellen war. Hingegen zeigte sich bei der immunhistochemischen Analyse von H3K36me3 vermehrt eine stärkere Expression in allen drei untersuchten Tumorentitäten (häufigste Expression: >50% beim GBM und Oligodendrogliom, >75% beim Astrozytom).

In Abhängigkeit des Alters, des KPS und der Tumorlokalisation konnten keine signifikanten Unterschiede in der H3K27me3- und H3K36me3-Expression im GBM gefunden werden. Jedoch konnte durch die vorgelegte Arbeit eine signifikant schwächere H3K27me3-Expression beim männlichen Geschlecht mit GBM aufgezeigt werden.

Die vorliegende Arbeit konnte außerdem wichtige Erkenntnisse hinsichtlich der prognostischen Relevanz von H3K27me3 und H3K36me3 herausarbeiten. Insbesondere die H3K27me3-Retention erwies sich bei GBM-Patient:innen als signifikanter Faktor für ein längeres PFS und zeigte ferner einen erwähnenswerten statistischen Trend hinsichtlich eines längeren Gesamtüberlebens (OS, englisch: overall survival). Weiterhin ergeben sich durch diese Arbeit Hinweise auf eine ungünstigere Prognose für die H3K36me3-Expression >75% (höchste Signifikanz) beim Astrozytom, was aufgrund der geringen Fallzahl der Astrozytome in der vorliegenden Arbeit einen interessanten Ansatz zukünftiger Studien mit größeren Fallzahlen bieten könnte.

Die gewonnenen Erkenntnisse leisten einen Beitrag das Vorkommen und die Rolle von H3K27me3 und H3K36me3 in hirneigene Tumoren zu verstehen. Hervorzuheben ist der in dieser Arbeit aufgeführte prognostische Wert von H3K27me3 bei Patient:innen mit GBM. Weitere Untersuchungen sind diesbezüglich notwendig, um die Erkenntnisse der vorgelegten Arbeit zu bekräftigen. Die neuen Kenntnisse über die Verteilung von Veränderungen der Histonmethylierungen in Gliomen schaffen die Grundlage, um entsprechende Veränderungen als Zielstrukturen für zukünftige Therapien ausnutzen zu können.

Literaturverzeichnis

- Adamson, Cory; Kanu, Okezie O.; Mehta, Ankit I.; Di, Chunhui; Lin, Ningjing; Mattox, Austin K.; Bigner, Darell D. (2009): Glioblastoma multiforme. A review of where we have been and where we are going. In: *Expert opinion on investigational drugs* 18 (8), S. 1061–1083. DOI: 10.1517/13543780903052764.
- Ajlan, Abdulrazag; Thomas, Piia; Albakr, Abdulrahman; Nagpal, Seema; Recht, Lawrence (2017): Optimizing bevacizumab dosing in glioblastoma. Less is more. In: *Journal of neuro-oncology* 135 (1), S. 99–105. DOI: 10.1007/s11060-017-2553-2.
- Alattar, Ali A.; Brandel, Michael G.; Hirshman, Brian R.; Dong, Xuezhi; Carroll, Kate T.; Ali, Mir Amaan et al. (2018): Oligodendroglioma resection. A Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) analysis. In: *Journal of neurosurgery* 128 (4), S. 1076–1083. DOI: 10.3171/2016.11.JNS161974.
- Alexopoulos, Georgios; Zhang, Justin; Karampelas, Ioannis; Patel, Mayur; Kemp, Joanna; Coppens, Jeroen et al. (2022): Long-Term Time Series Forecasting and Updates on Survival Analysis of Glioblastoma Multiforme: A 1975-2018 Population-Based Study. In: *Neuroepidemiology* 56 (2), S. 75–89. DOI: 10.1159/000522611.
- Ammendola, Serena; Caldonazzi, Nicolò; Simbolo, Michele; Piredda, Maria Lilliana; Brunelli, Matteo; Poliani, Pietro Luigi et al. (2021): H3K27me3 immunostaining is diagnostic and prognostic in diffuse gliomas with oligodendroglial or mixed oligoastrocytic morphology. In: *Virchows Archiv : an international journal of pathology* 479 (5), S. 987–996. DOI: 10.1007/s00428-021-03134-1.
- Bao, Dejun; Cheng, Chuandong; Lan, Xiaoqiang; Xing, Rong; Chen, Zhuo; Zhao, Hua et al. (2017): Regulation of p53wt glioma cell proliferation by androgen receptor-mediated inhibition of small VCP/p97-interacting protein expression. In: *Oncotarget* 8 (14), S. 23142–23154. DOI: 10.18632/oncotarget.15509.
- Barani, Igor J.; Larson, David A. (2015): Radiation therapy of glioblastoma. In: *Cancer treatment and research* 163, S. 49–73. DOI: 10.1007/978-3-319-12048-5_4.
- Batchelor, Tracy (2017): Patient education: High-grade glioma in adults (Beyond the Basics). In: *UpToDate*. Online verfügbar unter <https://www.uptodate.com/contents/high-grade-glioma-in-adults-beyond-the-basics?view=print>, zuletzt geprüft am 21.03.2020.
- Behjati, Sam; Tarpey, Patrick S.; Presneau, Nadège; Scheipl, Susanne; Pillay, Nischalan; van Loo, Peter et al. (2013): Distinct H3F3A and H3F3B driver

- mutations define chondroblastoma and giant cell tumor of bone. In: *Nature genetics* 45 (12), S. 1479–1482. DOI: 10.1038/ng.2814.
- Behling, Felix; Schittenhelm, Jens (2018): Tissue microarrays - translational biomarker research in the fast lane. In: *Expert review of molecular diagnostics* 18 (10), S. 833–835. DOI: 10.1080/14737159.2018.1522252.
- Benjamin, Ramsis; Capparella, Joanna; Brown, Alice (2003): Classification of glioblastoma multiforme in adults by molecular genetics. In: *Cancer journal (Sudbury, Mass.)* 9 (2), S. 82–90. DOI: 10.1097/00130404-200303000-00003.
- Berdasco, María; Esteller, Manel (2013): Genetic syndromes caused by mutations in epigenetic genes. In: *Human genetics* 132 (4), S. 359–383. DOI: 10.1007/s00439-013-1271-x.
- Brandes, Alba A. (2003): State-of-the-art treatment of high-grade brain tumors. In: *Seminars in oncology* 30 (6 Suppl 19), S. 4–9. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2003.11.028.
- Brennan, Cameron (2011): Genomic profiles of glioma. In: *Current neurology and neuroscience reports* 11 (3), S. 291–297. DOI: 10.1007/s11910-011-0198-7.
- Brennan, Cameron W.; Verhaak, Roel G. W.; McKenna, Aaron; Campos, Benito; Nounshmehr, Houtan; Salama, Sofie R. et al. (2013): The somatic genomic landscape of glioblastoma. In: *Cell* 155 (2), S. 462–477. DOI: 10.1016/j.cell.2013.09.034.
- Brown, Nicholas F.; Carter, Thomas J.; Ottaviani, Diego; Mulholland, Paul (2018): Harnessing the immune system in glioblastoma. In: *British journal of cancer* 119 (10), S. 1171–1181. DOI: 10.1038/s41416-018-0258-8.
- Buckner, Jan C. (2003): Factors influencing survival in high-grade gliomas. In: *Seminars in oncology* 30 (6 Suppl 19), S. 10–14. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2003.11.031.
- Cairncross, Gregory; Jenkins, Robert (2008): Gliomas with 1p/19q codeletion. A.k.a. oligodendroglioma. In: *Cancer journal (Sudbury, Mass.)* 14 (6), S. 352–357. DOI: 10.1097/PPO.0b013e31818d8178.
- Cairncross, Gregory; Wang, Meihua; Shaw, Edward; Jenkins, Robert; Brachman, David; Buckner, Jan et al. (2013): Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma. Long-term results of RTOG 9402. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 31 (3), S. 337–343. DOI: 10.1200/JCO.2012.43.2674.
- Cairncross, J. G.; Macdonald, D. R. (1988): Successful chemotherapy for recurrent malignant oligodendroglioma. In: *Annals of neurology* 23 (4), S. 360–364. DOI: 10.1002/ana.410230408.
- Carrano, Anna; Juarez, Juan Jose; Incontri, Diego; Ibarra, Antonio; Guerrero Cazares, Hugo (2021): Sex-Specific Differences in Glioblastoma. In: *Cells* 10 (7). DOI: 10.3390/cells10071783.

- Carvalho, Sílvia; Vítor, Alexandra C.; Sridhara, Sreerama C.; Martins, Filipa B.; Raposo, Ana C.; Desterro, Joana M. P. et al. (2014): SETD2 is required for DNA double-strand break repair and activation of the p53-mediated checkpoint. In: *eLife* 3, e02482. DOI: 10.7554/eLife.02482.
- Castel, David; Philippe, Cathy; Calmon, Raphaël; Le Dret, Ludivine; Truffaux, Nathalène; Boddaert, Nathalie et al. (2015): Histone H3F3A and HIST1H3B K27M mutations define two subgroups of diffuse intrinsic pontine gliomas with different prognosis and phenotypes (6).
- Chaichana, Kaisorn L.; Jusue-Torres, Ignacio; Navarro-Ramirez, Rodrigo; Raza, Shaan M.; Pascual-Gallego, Maria; Ibrahim, Aly et al. (2014): Establishing percent resection and residual volume thresholds affecting survival and recurrence for patients with newly diagnosed intracranial glioblastoma (1).
- Chang, Susan M.; Parney, Ian F.; Huang, Wei; Anderson, Frederick A.; Asher, Anthony L.; Bernstein, Mark et al. (2005): Patterns of care for adults with newly diagnosed malignant glioma. In: *JAMA* 293 (5), S. 557–564. DOI: 10.1001/jama.293.5.557.
- Chinot, Olivier L.; Wick, Wolfgang; Mason, Warren; Henriksson, Roger; Saran, Frank; Nishikawa, Ryo et al. (2014): Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. In: *The New England journal of medicine* 370 (8), S. 709–722. DOI: 10.1056/NEJMoa1308345.
- Choucair, A. K.; Levin, V. A.; Gutin, P. H.; Davis, R. L.; Silver, P.; Edwards, M. S.; Wilson, C. B. (1986): Development of multiple lesions during radiation therapy and chemotherapy in patients with gliomas. In: *Journal of neurosurgery* 65 (5), S. 654–658. DOI: 10.3171/jns.1986.65.5.0654.
- Cloughesy, Timothy F.; Brenner, Andrew; Groot, John F. de; Butowski, Nicholas A.; Zach, Leor; Campian, Jian L. et al. (2019): A randomized controlled phase III study of VB-111 combined with bevacizumab vs bevacizumab monotherapy in patients with recurrent glioblastoma (GLOBE). In: *Neuro-oncology* 22 (5), S. 705–717. DOI: 10.1093/neuonc/noz232.
- Coburger, Jan; Engelke, Jens; Scheuerle, Angelika; Thal, Dietmar R.; Hlavac, Michal; Wirtz, Christian Rainer; König, Ralph (2014): Tumor detection with 5-aminolevulinic acid fluorescence and Gd-DTPA-enhanced intraoperative MRI at the border of contrast-enhancing lesions. A prospective study based on histopathological assessment. In: *Neurosurgical focus* 36 (2), E3. DOI: 10.3171/2013.11.FOCUS13463.
- Coburger, Jan; Hagel, Vincent; Wirtz, Christian Rainer; König, Ralph (2015): Surgery for Glioblastoma. Impact of the Combined Use of 5-Aminolevulinic Acid and Intraoperative MRI on Extent of Resection and Survival. In: *PloS one* 10 (6), e0131872. DOI: 10.1371/journal.pone.0131872.
- Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways (2008). In: *Nature* 455 (7216), S. 1061–1068.
- Cooney, Tabitha M.; Lubanszky, Evan; Prasad, Rachna; Hawkins, Cynthia; Mueller, Sabine (2020): Diffuse midline glioma: review of epigenetics. In:

- Journal of neuro-oncology* 150 (1), S. 27–34. DOI: 10.1007/s11060-020-03553-1.
- Corell, A.; Carstam, L.; Smits, A.; Henriksson, R.; Jakola, A. S. (2018): Age and surgical outcome of low-grade glioma in Sweden. In: *Acta neurologica Scandinavica* 138 (4), S. 359–368. DOI: 10.1111/ane.12973.
- Court, Franck; Le Boiteux, Elisa; Fogli, Anne; Müller-Barthélémy, Mélanie; Vaurs-Barrière, Catherine; Chautard, Emmanuel et al. (2019): Transcriptional alterations in glioma result primarily from DNA methylation-independent mechanisms. In: *Genome research* 29 (10), S. 1605–1621. DOI: 10.1101/gr.249219.119.
- Curran, W. J.; Scott, C. B.; Horton, J.; Nelson, J. S.; Weinstein, A. S.; Fischbach, A. J. et al. (1993): Recursive partitioning analysis of prognostic factors in three Radiation Therapy Oncology Group malignant glioma trials. In: *Journal of the National Cancer Institute* 85 (9), S. 704–710. DOI: 10.1093/jnci/85.9.704.
- Czermin, Birgit; Melfi, Raffaella; McCabe, Donna; Seitz, Volker; Imhof, Axel; Pirrotta, Vincenzo (2002): Drosophila Enhancer of Zeste/ESC Complexes Have a Histone H3 Methyltransferase Activity that Marks Chromosomal Polycomb Sites. In: *Cell* 111 (2), S. 185–196. DOI: 10.1016/s0092-8674(02)00975-3.
- Dagliesh, Gillian L.; Furge, Kyle; Greenman, Chris; Chen, Lina; Bignell, Graham; Butler, Adam et al. (2010): Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. In: *Nature* 463 (7279), S. 360–363. DOI: 10.1038/nature08672.
- Day, Charles A.; Hinchcliffe, Edward H.; Robinson, James P. (2022): H3K27me3 in Diffuse Midline Glioma and Epithelial Ovarian Cancer: Opposing Epigenetic Changes Leading to the Same Poor Outcomes. In: *Cells* 11 (21). DOI: 10.3390/cells11213376.
- Deb, Gauri; Singh, Anup Kumar; Gupta, Sanjay (2014): EZH2. Not EZHY (easy) to deal. In: *Molecular cancer research : MCR* 12 (5), S. 639–653. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0546.
- Dobran, M.; Capece, M.; Aiudi, D.; Carrassi, E.; Fasinella, M. R.; Lorenzetti, M. et al. (2024): Outcome predictors in a series of 40 patients after surgery for low-grade gliomas. In: *Interdisciplinary Neurosurgery* 36, S. 101920. DOI: 10.1016/j.inat.2023.101920.
- Dobran, Mauro; Nasi, Davide; Chiriatti, Stefano; Gladi, Maurizio; Di Somma, Lucia; Iacoangeli, Maurizio; Scerrati, Massimo (2018): Prognostic Factors in Glioblastoma: Is There a Role for Epilepsy? In: *Neurologia medico-chirurgica* 58 (3), S. 110–115. DOI: 10.2176/nmc.oa.2017-0167.
- Duan, Ran; Du, Wenfang; Guo, Weijian (2020): EZH2: a novel target for cancer treatment. In: *Journal of hematology & oncology* 13 (1), S. 104. DOI: 10.1186/s13045-020-00937-8.

- Duns, Gerben; van den Berg, Eva; van Duivenbode, Inge; Osinga, Jan; Hollema, Harry; Hofstra, Robert M. W.; Kok, Klaas (2010): Histone methyltransferase gene SETD2 is a novel tumor suppressor gene in clear cell renal cell carcinoma. In: *Cancer research* 70 (11), S. 4287–4291. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0120.
- Engelhard, Herbert H.; Stelea, Ana; Mundt, Arno (2003): Oligodendroglioma and anaplastic oligodendroglioma. In: *Surgical Neurology* 60 (5), S. 443–456. DOI: 10.1016/s0090-3019(03)00167-8.
- Esteller, M.; Garcia-Foncillas, J.; Andion, E.; Goodman, S. N.; Hidalgo, O. F.; Vanaclocha, V. et al. (2000): Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. In: *The New England journal of medicine* 343 (19), S. 1350–1354. DOI: 10.1056/NEJM200011093431901.
- Etxaniz, Olatz; Carrato, Cristina; Aguirre, Itziar de; Queralto, Cristina; Muñoz, Ana; Ramirez, José L. et al. (2017): IDH mutation status trumps the Pignatti risk score as a prognostic marker in low-grade gliomas. In: *Journal of neuro-oncology* 135 (2), S. 273–284. DOI: 10.1007/s11060-017-2570-1.
- Fang, Jun; Huang, Yaping; Mao, Guogen; Yang, Shuang; Rennert, Gadi; Gu, Liya et al. (2018): Cancer-driving H3G34V/R/D mutations block H3K36 methylation and H3K36me3-MutSα interaction. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (38), S. 9598–9603. DOI: 10.1073/pnas.1806355115.
- Feller, C.; Felix, M.; Weiss, T.; Herold-Mende, C.; Zhang, F.; Kockmann, T. et al. (2020): Histone epiproteomic profiling distinguishes oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q co-deleted from IDH-mutant astrocytoma and reveals less tri-methylation of H3K27 in oligodendrogliomas. In: *Acta neuropathologica* 139 (1), S. 211–213. DOI: 10.1007/s00401-019-02096-8.
- Filipski, Katharina; Braun, Yannick; Zinke, Jenny; Roller, Bastian; Baumgarten, Peter; Wagner, Marlies et al. (2019): Lack of H3K27 trimethylation is associated with 1p/19q codeletion in diffuse gliomas. In: *Acta neuropathologica* 138 (2), S. 331–334. DOI: 10.1007/s00401-019-02025-9.
- Fontebasso, Adam M.; Schwartzenuber, Jeremy; Khuong-Quang, Dong-Anh; Liu, Xiao-Yang; Sturm, Dominik; Korshunov, Andrey et al. (2013): Mutations in SETD2 and genes affecting histone H3K36 methylation target hemispheric high-grade gliomas. In: *Acta neuropathologica* 125 (5), S. 659–669. DOI: 10.1007/s00401-013-1095-8.
- Francis, Stephen S.; Ostrom, Quinn T.; Cote, David J.; Smith, Timothy R.; Claus, Elizabeth; Barnholtz-Sloan, Jill S. (2022): The Epidemiology of Central Nervous System Tumors. In: *Hematology/oncology clinics of North America* 36 (1), S. 23–42. DOI: 10.1016/j.hoc.2021.08.012.
- Galanis, E.; Buckner, J. (2000): Chemotherapy for high-grade gliomas. In: *British journal of cancer* 82 (8), S. 1371–1380. DOI: 10.1054/bjoc.1999.1075.

- Gaspar, Laurie E.; Fisher, Barbara J.; Macdonald, David R.; Leber, Deborah V.; Halperin, Edward C.; Schold, S.Clifford; Cairncross, J.Gregory (1992): Supratentorial malignant glioma. Patterns of recurrence and implications for external beam local treatment. In: *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics* 24 (1), S. 55–57. DOI: 10.1016/0360-3016(92)91021-e.
- Gately, Lucy; McLachlan, Sue-Anne; Philip, Jennifer; Ruben, Jeremy; Dowling, Anthony (2018): Long-term survivors of glioblastoma. A closer look. In: *Journal of neuro-oncology* 136 (1), S. 155–162. DOI: 10.1007/s11060-017-2635-1.
- Gauchotte, Guillaume; Peyre, Matthieu; Pouget, Celso; Cazals-Hatem, Dominique; Polivka, Marc; Rech, Fabien et al. (2020): Prognostic Value of Histopathological Features and Loss of H3K27me3 Immunolabeling in Anaplastic Meningioma: A Multicenter Retrospective Study. In: *Journal of neuropathology and experimental neurology* 79 (7), S. 754–762. DOI: 10.1093/jnen/nlaa038.
- Gilbert, Mark R.; Dignam, James J.; Armstrong, Terri S.; Wefel, Jeffrey S.; Blumenthal, Deborah T.; Vogelbaum, Michael A. et al. (2014): A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. In: *The New England journal of medicine* 370 (8), S. 699–708. DOI: 10.1056/NEJMoa1308573.
- Glazer, Robert I.; Hartman, Kathleen D.; Knode, Marion C.; Richard, Michelle M.; Chiang, Peter K.; Tseng, Christopher K.H.; Marquez, Victor E. (1986): 3-Deazaneplanocin. A new and potent inhibitor of S-adenosylhomocysteine hydrolase and its effects on human promyelocytic leukemia cell line HL-60. In: *Biochemical and Biophysical Research Communications* 135 (2), S. 688–694. DOI: 10.1016/0006-291x(86)90048-3.
- Goldstein, M.; Gabriel, N.; Balaji, K.; Wong, N.; Wang, X.; Dahiya, S. (2022): A Novel Epigenetic Marker Predicts Treatment Response in Glioblastoma and Provides a Target for Overcoming Treatment Resistance. In: *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics* 114 (3), e70-e71. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2022.07.828.
- Gonzalez Castro, L. Nicolas; Wesseling, Pieter (2021): The cIMPACT-NOW updates and their significance to current neuro-oncology practice. In: *Neuro-oncology practice* 8 (1), S. 4–10. DOI: 10.1093/nop/npaa055.
- Grimm, Sean A.; Chamberlain, Marc C. (2016): Anaplastic astrocytoma. In: *CNS oncology* 5 (3), S. 145–157. DOI: 10.2217/cns-2016-0002.
- Gupta, R.; Webb-Myers, R.; Flanagan, S.; Buckland, M. E. (2011): Isocitrate dehydrogenase mutations in diffuse gliomas. Clinical and aetiological implications. In: *Journal of clinical pathology* 64 (10), S. 835–844. DOI: 10.1136/jclinpath-2011-200227.
- Guyotat, Jacques; Pallud, Johan; Armoiry, Xavier; Pavlov, Vladislav; Metellus, Philippe (2016): 5-Aminolevulinic Acid-Protoporphyrin IX Fluorescence-Guided Surgery of High-Grade Gliomas. A Systematic Review. In: *Advances*

- and technical standards in neurosurgery* (43), S. 61–90. DOI: 10.1007/978-3-319-21359-0_3.
- Hammoud, M. A.; Sawaya, R.; Shi, W.; Thall, P. F.; Leeds, N. E. (1996): Prognostic significance of preoperative MRI scans in glioblastoma multiforme. In: *Journal of neuro-oncology* 27 (1), S. 65–73. DOI: 10.1007/bf00146086.
- Hardell, Lennart; Carlberg, Michael; Söderqvist, Fredrik; Mild, Kjell Hansson (2013): Case-control study of the association between malignant brain tumours diagnosed between 2007 and 2009 and mobile and cordless phone use. In: *International journal of oncology* 43 (6), S. 1833–1845. DOI: 10.3892/ijo.2013.2111.
- Hashizume, Rintaro; Andor, Noemi; Ihara, Yuichiro; Lerner, Robin; Gan, Haiyun; Chen, Xiaoyue et al. (2014): Pharmacologic inhibition of histone demethylation as a therapy for pediatric brainstem glioma. In: *Nature medicine* 20 (12), S. 1394–1396. DOI: 10.1038/nm.3716.
- Hegi, Monika E.; Diserens, Annie-Claire; Godard, Sophie; Dietrich, Pierre-Yves; Regli, Luca; Ostermann, Sandrine et al. (2004): Clinical trial substantiates the predictive value of O-6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 10 (6), S. 1871–1874. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0384.
- Hegi, Monika E.; Diserens, Annie-Claire; Gorlia, Thierry; Hamou, Marie-France; Tribolet, Nicolas de; Weller, Michael et al. (2005): MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma (10).
- Henker, Christian; Kriesen, Thomas; Glass, Anne; Schneider, Björn; Piek, Jürgen (2017): Volumetric quantification of glioblastoma: experiences with different measurement techniques and impact on survival. In: *Journal of neuro-oncology* 135 (2), S. 391–402. DOI: 10.1007/s11060-017-2587-5.
- Hess, Kenneth R.; Broglio, Kristine R.; Bondy, Melissa L. (2004): Adult glioma incidence trends in the United States, 1977-2000. In: *Cancer* 101 (10), S. 2293–2299. DOI: 10.1002/cncr.20621.
- Heßelmann, Volker; Mager, Ann-Kathrin; Goetz, Claudia; Detsch, Oliver; Theissen, Hannah-Katharina; Friese, Michael et al. (2017): Treffsicherheit der Intraoperativen MR-Bildgebung (ioMRI) in der Nachweisbarkeit von Resttumorgewebe zur Resektion hochgradiger (Grad IV) Gliome. In: *RoFo : Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin* 189 (6), S. 519–526. DOI: 10.1055/s-0043-106189.
- Hochberg, F. H.; Pruitt, A. (1980): Assumptions in the radiotherapy of glioblastoma. In: *Neurology* 30 (9), S. 907–911. DOI: 10.1212/wnl.30.9.907.
- Iliadis, Georgios; Selviaridis, Panagiotis; Kalogera-Fountzila, Anna; Fragkoulidi, Anna; Baltas, Dimos; Tselis, Nikolaos et al. (2009): The importance of tumor volume in the prognosis of patients with glioblastoma: comparison of computerized volumetry and geometric models. In: *Strahlentherapie und Onkologie*

- : *Organ der Deutschen Röntgengesellschaft ... [et al]* 185 (11), S. 743–750. DOI: 10.1007/s00066-009-2015-7.
- Ius, Tamara; Ng, Sam; Young, Jacob S.; Tomasino, Barbara; Polano, Maurizio; Ben-Israel, David et al. (2022): The benefit of early surgery on overall survival in incidental low-grade glioma patients: A multicenter study. In: *Neuro-oncology* 24 (4), S. 624–638. DOI: 10.1093/neuonc/noab210.
- Jenkinson, Michael D.; Barone, Damiano Giuseppe; Bryant, Andrew; Vale, Luke; Bulbeck, Helen; Lawrie, Theresa A. et al. (2018): Intraoperative imaging technology to maximise extent of resection for glioma. In: *The Cochrane database of systematic reviews* 1, CD012788. DOI: 10.1002/14651858.CD012788.pub2.
- Jiao, Lianying; Liu, Xin (2015): Structural basis of histone H3K27 trimethylation by an active polycomb repressive complex 2. In: *Science (New York, N.Y.)* 350 (6258), aac4383. DOI: 10.1126/science.aac4383.
- Jiao, Lianying; Liu, Xin (2016): Response to Comment on "Structural basis of histone H3K27 trimethylation by an active polycomb repressive complex 2". In: *Science (New York, N.Y.)* 354 (6319), S. 1543. DOI: 10.1126/science.aaj2335.
- Karnofsky, David A.; Abelmann, Walter H.; Craver, Lloyd F.; Burchenal, Joseph H. (1948): The use of the nitrogen mustards in the palliative treatment of carcinoma. With particular reference to bronchogenic carcinoma. In: *Cancer* 1 (4), S. 634–656. DOI: 10.1002/1097-0142(194811)1:4<634::AID-CNCR2820010410>3.0.CO;2-L.
- Karschnia, Philipp; Young, Jacob S.; Dono, Antonio; Häni, Levin; Sciortino, Tommaso; Bruno, Francesco et al. (2022): Prognostic validation of a new classification system for extent of resection in glioblastoma: A report of the RANO resect group. In: *Neuro-oncology* 25 (5), S. 940–954. DOI: 10.1093/neuonc/noac193.
- Katz, Leah M.; Hielscher, Thomas; Liechty, Benjamin; Silverman, Joshua; Zagzag, David; Sen, Rajeev et al. (2018): Loss of histone H3K27me3 identifies a subset of meningiomas with increased risk of recurrence. In: *Acta neuropathologica* 135 (6), S. 955–963. DOI: 10.1007/s00401-018-1844-9.
- Khan, A. Basit; Lee, Sungho; Harmanci, Akdes Serin; Patel, Rajan; Latha, Khatri; Yang, Yuhui et al. (2022): CXCR4 EXPRESSION IS ASSOCIATED WITH PRONEURAL-TO-MESENCHYMAL TRANSITION IN GLIOBLASTOMA. In: *International journal of cancer* 152 (4), S. 713–724. DOI: 10.1002/ijc.34329.
- Khan, Khurshid Ahmed; Abbasi, Ahmed Nadeem; Ali, Nasir (2014): Treatment updates regarding anaplastic oligodendroglioma and anaplastic oligoastrocytoma. In: *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP* 24 (12), S. 935–939.
- Kim, Michelle M.; Umemura, Yoshie; Leung, Denise (2018): Bevacizumab and Glioblastoma: Past, Present, and Future Directions. In: *Cancer journal (Sudbury, Mass.)* 24 (4), S. 180–186. DOI: 10.1097/ppo.0000000000000326.

- Kim, Woojin; Bird, Gregory H.; Neff, Tobias; Guo, Guoji; Kerenyi, Marc A.; Walsensky, Loren D.; Orkin, Stuart H. (2013): Targeted disruption of the EZH2-EED complex inhibits EZH2-dependent cancer. In: *Nature chemical biology* 9 (10), S. 643–650. DOI: 10.1038/nchembio.1331.
- Kirchner, Thomas; Müller-Hermelink, Hans Konrad; Roessner, Albert; Grundmann, Ekkehard (Hg.) (2014): Kurzlehrbuch Pathologie. Urban-&-Fischer-Verlag. 12. Auflage [Nachdruck]. München: Elsevier Urban & Fischer. Online verfügbar unter <http://shop.elsevier.de/978-3-437-43307-8>.
- Kizilbash, Sani H.; Giannini, Caterina; Voss, Jesse S.; Decker, Paul A.; Jenkins, Robert B.; Hardie, John et al. (2014): The impact of concurrent temozolomide with adjuvant radiation and IDH mutation status among patients with anaplastic astrocytoma. In: *Journal of neuro-oncology* 120 (1), S. 85–93. DOI: 10.1007/s11060-014-1520-4.
- Klein, Brianna J.; Krajewski, Krzysztof; Restrepo, Susana; Lewis, Peter W.; Strahl, Brian D.; Kutateladze, Tatiana G. (2018): Recognition of cancer mutations in histone H3K36 by epigenetic writers and readers. In: *Epigenetics* 13 (7), S. 683–692. DOI: 10.1080/15592294.2018.1503491.
- Kononen, J.; Bubendorf, L.; Kallioniemi, A.; Bärnlund, M.; Schraml, P.; Leighton, S. et al. (1998): Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. In: *Nature medicine* 4 (7), S. 844–847. DOI: 10.1038/nm0798-844.
- Krichevsky, Anna M.; Uhlmann, Erik J. (2019): Oligonucleotide Therapeutics as a New Class of Drugs for Malignant Brain Tumors. Targeting mRNAs, Regulatory RNAs, Mutations, Combinations, and Beyond. In: *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 16 (2), S. 319–347. DOI: 10.1007/s13311-018-00702-3.
- La Rosa, Alfredo Harb-De; Acker, Matthew; Swain, Sanjaya; Manoharan, Murugesan (2015): The role of epigenetics in kidney malignancies. In: *Central European journal of urology* 68 (2), S. 157–164. DOI: 10.5173/ceju.2015.453.
- Labreche, Karim; Simeonova, Iva; Kamoun, Aurélie; Gleize, Vincent; Chubb, Daniel; Letouzé, Eric et al. (2015): TCF12 is mutated in anaplastic oligodendroglioma. In: *Nature communications* 6, S. 7207. DOI: 10.1038/ncomms8207.
- Lacroix, M.; Abi-Said, D.; Fourney, D. R.; Gokaslan, Z. L.; Shi, W.; DeMonte, F. et al. (2001): A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme. Prognosis, extent of resection, and survival. In: *Journal of neurosurgery* 95 (2), S. 190–198. DOI: 10.3171/jns.2001.95.2.0190.
- Lamborn, Kathleen R.; Chang, Susan M.; Prados, Michael D. (2004): Prognostic factors for survival of patients with glioblastoma: recursive partitioning analysis. In: *Neuro-oncology* 6 (3), S. 227–235. DOI: 10.1215/S1152851703000620.
- Leu, Severina; Boulay, Jean-Louis; Thommen, Sarah; Bucher, Heiner C.; Stippich, Christoph; Mariani, Luigi; Bink, Andrea (2018): Preoperative Two-

- Dimensional Size of Glioblastoma is Associated with Patient Survival. In: *World neurosurgery* 115, e448-e463. DOI: 10.1016/j.wneu.2018.04.067.
- Levin, Victor A.; Bidaut, Luc; Hou, Ping; Kumar, Ashok J.; Wefel, Jeffrey S.; Bekele, B. Nebiyu et al. (2011): Randomized double-blind placebo-controlled trial of bevacizumab therapy for radiation necrosis of the central nervous system. In: *International journal of radiation oncology, biology, physics* 79 (5), S. 1487–1495. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.12.061.
- Li, Jun; Duns, Gerben; Westers, Helga; Sijmons, Rolf; van den Berg, Anke; Kok, Klaas (2016): SETD2. An epigenetic modifier with tumor suppressor functionality. In: *Oncotarget* 7 (31), S. 50719–50734. DOI: 10.18632/oncotarget.9368.
- Lim, Michael; Xia, Yuanxuan; Bettegowda, Chetan; Weller, Michael (2018): Current state of immunotherapy for glioblastoma. In: *Nature reviews. Clinical oncology* 15 (7), S. 422–442. DOI: 10.1038/s41571-018-0003-5.
- Liu, Shuo; Liu, Xiaoqiang; Xiao, Yingxiu; Chen, Shuying; Zhuang, Weiduan (2019): Prognostic factors associated with survival in patients with anaplastic oligodendroglioma. In: *PloS one* 14 (1), e0211513. DOI: 10.1371/journal.pone.0211513.
- Louis, David N.; Ellison, David W.; Brat, Daniel J.; Aldape, Kenneth; Capper, David; Hawkins, Cynthia et al. (2019): cIMPACT-NOW: a practical summary of diagnostic points from Round 1 updates. In: *Brain pathology (Zurich, Switzerland)* 29 (4), S. 469–472. DOI: 10.1111/bpa.12732.
- Louis, David N.; Ohgaki, Hiroko; Wiestler, Otmar D.; Cavenee, Webster K.; Burger, Peter C.; Jouvett, Anne et al. (2007): The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. In: *Acta neuropathologica* 114 (2), S. 97–109. DOI: 10.1007/s00401-007-0243-4.
- Louis, David N.; Perry, Arie; Reifenberger, Guido; Deimling, Andreas von; Figarella-Branger, Dominique; Cavenee, Webster K. et al. (2016): The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System. A summary. In: *Acta neuropathologica* 131 (6), S. 803–820. DOI: 10.1007/s00401-016-1545-1.
- Louis, David N.; Perry, Arie; Wesseling, Pieter; Brat, Daniel J.; Cree, Ian A.; Figarella-Branger, Dominique et al. (2021): The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. In: *Neuro-oncology* 23 (8), S. 1231–1251. DOI: 10.1093/neuonc/noab106.
- Lowe, Brandon R.; Maxham, Lily A.; Hamey, Joshua J.; Wilkins, Marc R.; Partridge, Janet F. (2019): Histone H3 Mutations. An Updated View of Their Role in Chromatin Deregulation and Cancer. In: *Cancers* 11 (5). DOI: 10.3390/cancers11050660.
- Lu, Chao; Ward, Patrick S.; Kapoor, Gurpreet S.; Rohle, Dan; Turcan, Sevin; Abdel-Wahab, Omar et al. (2012): IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. In: *Nature* 483 (7390), S. 474–478. DOI: 10.1038/nature10860.

- Ludlum, David B. (1990): DNA alkylation by the haloethylnitrosoureas. Nature of modifications produced and their enzymatic repair or removal. In: *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 233 (1-2), S. 117–126. DOI: 10.1016/0027-5107(90)90156-X.
- Mahboob, Syed O.; Eljamel, Muftah (2017): Intraoperative image-guided surgery in neuro-oncology with specific focus on high-grade gliomas. In: *Future oncology (London, England)* 13 (26), S. 2349–2361. DOI: 10.2217/fon-2017-0195.
- Mar, Brenton G.; Chu, S. Haihua; Kahn, Josephine D.; Krivtsov, Andrei V.; Koche, Richard; Castellano, Cecilia A. et al. (2017): SETD2 alterations impair DNA damage recognition and lead to resistance to chemotherapy in leukemia. In: *Blood* 130 (24), S. 2631–2641. DOI: 10.1182/blood-2017-03-775569.
- Margueron, Raphaël; Reinberg, Danny (2011): The Polycomb complex PRC2 and its mark in life. In: *Nature* 469 (7330), S. 343–349. DOI: 10.1038/nature09784.
- Marina, Ovidiu; Suh, John H.; Reddy, Chandana A.; Barnett, Gene H.; Vogelbaum, Michael A.; Peereboom, David M. et al. (2011): Treatment outcomes for patients with glioblastoma multiforme and a low Karnofsky Performance Scale score on presentation to a tertiary care institution. Clinical article. In: *Journal of neurosurgery* 115 (2), S. 220–229. DOI: 10.3171/2011.3.JNS10495.
- McKinley, B. P.; Michalek, A. M.; Fenstermaker, R. A.; Plunkett, R. J. (2000): The impact of age and sex on the incidence of glial tumors in New York state from 1976 to 1995. In: *Journal of neurosurgery* 93 (6), S. 932–939. DOI: 10.3171/jns.2000.93.6.0932.
- McTyre, Emory; Lucas, John T.; Helis, Corbin; Farris, Michael; Soike, Michael; Mott, Ryan et al. (2018): Outcomes for Anaplastic Glioma Treated With Radiation Therapy With or Without Concurrent Temozolomide. In: *American journal of clinical oncology* 41 (8), S. 813–819. DOI: 10.1097/COC.0000000000000380.
- Mechtler, Laszlo (2009): Neuroimaging in neuro-oncology. In: *Neurologic clinics* 27 (1), 171-201, ix. DOI: 10.1016/j.ncl.2008.09.015.
- Mehta, M.; Wen, P.; Nishikawa, R.; Reardon, D.; Peters, K. (2017): Critical review of the addition of tumor treating fields (TTFields) to the existing standard of care for newly diagnosed glioblastoma patients. In: *Critical reviews in oncology/hematology* 111, S. 60–65. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2017.01.005.
- Meyronet, David; Esteban-Mader, Maud; Bonnet, Charlotte; Joly, Marie-Odile; Uro-Coste, Emmanuelle; Amiel-Benouaich, Alexandra et al. (2017): Characteristics of H3 K27M-mutant gliomas in adults. In: *Neuro-oncology* 19 (8), S. 1127–1134. DOI: 10.1093/neuonc/now274.
- Miller, Kimberly D.; Ostrom, Quinn T.; Kruchko, Carol; Patil, Nirav; Tihan, Tarik; Cioffi, Gino et al. (2021): Brain and other central nervous system tumor

- statistics, 2021. In: *CA: a cancer journal for clinicians* 71 (5), S. 381–406. DOI: 10.3322/caac.21693.
- Mineo, J-F; Bordron, A.; Baroncini, M.; Ramirez, C.; Maurage, C-A; Blond, S.; Dam-Hieu, P. (2007): Prognosis factors of survival time in patients with glioblastoma multiforme: a multivariate analysis of 340 patients. In: *Acta neurochirurgica* 149 (3), 245-52; discussion 252-3. DOI: 10.1007/s00701-006-1092-y.
- Mohammad, Faizaan; Weissmann, Simon; Leblanc, Benjamin; Pandey, Deo P.; Højfeldt, Jonas W.; Comet, Itys et al. (2017): EZH2 is a potential therapeutic target for H3K27M-mutant pediatric gliomas. In: *Nature medicine* 23 (4), S. 483–492. DOI: 10.1038/nm.4293.
- Moore, Kristin J.; Moertel, Christopher L.; Williams, Lindsay A. (2022): Young adult males have worse survival than females that is largely independent of treatment received for many types of central nervous system tumors: A National Cancer Database analysis. In: *Cancer* 128 (8), S. 1616–1625. DOI: 10.1002/cncr.34120.
- Müller, Jürg; Hart, Craig M.; Francis, Nicole J.; Vargas, Marcus L.; Sengupta, Aditya; Wild, Brigitte et al. (2002): Histone Methyltransferase Activity of a Drosophila Polycomb Group Repressor Complex. In: *Cell* 111 (2), S. 197–208. DOI: 10.1016/s0092-8674(02)00976-5.
- Nassiri, Farshad; Wang, Justin Z.; Singh, Olivia; Karimi, Shirin; Dalcourt, Tatyana; Ijad, Nazanin et al. (2021): Loss of H3K27me3 in meningiomas. In: *Neuro-oncology* 23 (8), S. 1282–1291. DOI: 10.1093/neuonc/noab036.
- Nichol, J. N.; Dupéré-Richer, D.; Ezponda, T.; Licht, J. D.; Miller, W. H. (2016): H3K27 Methylation. A Focal Point of Epigenetic Deregulation in Cancer.
- Nomura, Masashi; Mukasa, Akitake; Nagae, Genta; Yamamoto, Shogo; Tatsuno, Kenji; Ueda, Hiroki et al. (2017): Distinct molecular profile of diffuse cerebellar gliomas. In: *Acta neuropathologica* 134 (6), S. 941–956. DOI: 10.1007/s00401-017-1771-1.
- Noushmehr, Houtan; Weisenberger, Daniel J.; Diefes, Kristin; Phillips, Heidi S.; Pujara, Kanan; Berman, Benjamin P. et al. (2010): Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. In: *Cancer cell* 17 (5), S. 510–522. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.03.017.
- Ohgaki, Hiroko (2005): Genetic pathways to glioblastomas. In: *Neuropathology : official journal of the Japanese Society of Neuropathology* 25 (1), S. 1–7. DOI: 10.1111/j.1440-1789.2004.00600.x.
- Ohgaki, Hiroko (2009): Epidemiology of brain tumors. In: *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 472, S. 323–342. DOI: 10.1007/978-1-60327-492-0_14.
- Ohgaki, Hiroko; Kleihues, Paul (2013): The definition of primary and secondary glioblastoma. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 19 (4), S. 764–772. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3002.

- Ostrom, Quinn T.; Bauchet, Luc; Davis, Faith G.; Deltour, Isabelle; Fisher, James L.; Langer, Chelsea Eastman et al. (2014): The epidemiology of glioma in adults. A "state of the science" review. In: *Neuro-oncology* 16 (7), S. 896–913. DOI: 10.1093/neuonc/nou087.
- Ostrom, Quinn T.; Cioffi, Gino; Waite, Kristin; Kruchko, Carol; Barnholtz-Sloan, Jill S. (2021): CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2014-2018. In: *Neuro-oncology* 23 (12 Suppl 2), iii1-iii105. DOI: 10.1093/neuonc/noab200.
- Ostrom, Quinn T.; Gittleman, Haley; Fulop, Jordonna; Liu, Max; Blanda, Rachel; Kromer, Courtney et al. (2015): CBTRUS Statistical Report. Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. In: *Neuro-oncology* 17 Suppl 4, iv1-iv62. DOI: 10.1093/neuonc/nov189.
- Ostrom, Quinn T.; Price, Mackenzie; Neff, Corey; Cioffi, Gino; Waite, Kristin A.; Kruchko, Carol; Barnholtz-Sloan, Jill S. (2023): CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2016-2020. In: *Neuro-oncology* 25 (12 Suppl 2), iv1-iv99. DOI: 10.1093/neuonc/noad149.
- Ostrom, Quinn T.; Rubin, Joshua B.; Lathia, Justin D.; Berens, Michael E.; Barnholtz-Sloan, Jill S. (2018): Females have the survival advantage in glioblastoma. In: *Neuro-oncology* 20 (4), S. 576–577. DOI: 10.1093/neuonc/noy002.
- Pando, Alejandro; Patel, Aman M.; Choudhry, Hannaan S.; Eloy, Jean Anderson; Goldstein, Ira M.; Liu, James K. (2022): Palliative Care Effects on Survival in Glioblastoma: Who Receives Palliative Care? In: *World neurosurgery*. DOI: 10.1016/j.wneu.2022.11.143.
- Panwalkar, Pooja; Clark, Jonathan; Ramaswamy, Vijay; Hawes, Debra; Yang, Fusheng; Dunham, Christopher et al. (2017): Immunohistochemical analysis of H3K27me3 demonstrates global reduction in group-A childhood posterior fossa ependymoma and is a powerful predictor of outcome.
- Parsons, D. Williams; Jones, Siân; Zhang, Xiaosong; Lin, Jimmy Cheng-Ho; Leary, Rebecca J.; Angenendt, Philipp et al. (2008): An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. In: *Science (New York, N.Y.)* 321 (5897), S. 1807–1812. DOI: 10.1126/science.1164382.
- Patel, Anoop P.; Tirosh, Itay; Trombetta, John J.; Shalek, Alex K.; Gillespie, Shawn M.; Wakimoto, Hiroaki et al. (2014): Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. In: *Science (New York, N.Y.)* 344 (6190), S. 1396–1401. DOI: 10.1126/science.1254257.
- Pegg, Anthony E.; Dolan, M. Eileen; Moschel, Robert C. (1995): Structure, Function, and Inhibition of O6-Alkylguanine-DNA Alkyltransferase. In: Bd. 51: Elsevier (Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology), S. 167–223.

- Pekmezci, Melike; Phillips, Joanna J.; Dirilenoglu, Fikret; Atasever-Rezanko, Turkan; Tihan, Tarik; Solomon, David et al. (2020): Loss of H3K27 trimethylation by immunohistochemistry is frequent in oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted, but is neither a sensitive nor a specific marker. In: *Acta neuropathologica*. DOI: 10.1007/s00401-019-02123-8.
- Phillips, Heidi S.; Kharbanda, Samir; Chen, Ruihuan; Forrest, William F.; Soriano, Robert H.; Wu, Thomas D. et al. (2006): Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. In: *Cancer cell* 9 (3), S. 157–173. DOI: 10.1016/j.ccr.2006.02.019.
- Pignatti, Francesco; van den Bent, Martin; Curran, Desmond; Debruyne, Channa; Sylvester, Richard; Therasse, Patrick et al. (2002): Prognostic factors for survival in adult patients with cerebral low-grade glioma. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 20 (8), S. 2076–2084. DOI: 10.1200/JCO.2002.08.121.
- Plate, K. H.; Breier, G.; Weich, H. A.; Risau, W. (1992): Vascular endothelial growth factor is a potential tumour angiogenesis factor in human gliomas in vivo. In: *Nature* 359 (6398), S. 845–848. DOI: 10.1038/359845a0.
- Prados, Michael D.; Gutin, Philip H.; Phillips, Theodore L.; Wara, William M.; Larson, David A.; Sneed, Penny K. et al. (1992): Highly anaplastic astrocytoma. A review of 357 patients treated between 1977 and 1989. In: *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*Physics* 23 (1), S. 3–8. DOI: 10.1016/0360-3016(92)90537-r.
- Raysi Dehcordi, Soheila; Galzio, Renato; Marrone, Federica; Di Vitantonio, Hembra; Marzi, Sara; Fasano, Teresa et al. (2023): Brain location and tumor biological markers in high- and low-grade gliomas. In: *Journal of neurosurgical sciences* 67 (2), S. 143–149. DOI: 10.23736/S0390-5616.20.05047-X.
- Reardon, David A.; Wen, Patrick Y. (2006): Therapeutic advances in the treatment of glioblastoma. Rationale and potential role of targeted agents. In: *The oncologist* 11 (2), S. 152–164. DOI: 10.1634/theoncologist.11-2-152.
- Regula, J.; MacRobert, A. J.; Gorchein, A.; Buonaccorsi, G. A.; Thorpe, S. M.; Spencer, G. M. et al. (1995): Photosensitisation and photodynamic therapy of oesophageal, duodenal, and colorectal tumours using 5 aminolaevulinic acid induced protoporphyrin IX--a pilot study. In: *Gut* 36 (1), S. 67–75. DOI: 10.1136/gut.36.1.67.
- Rodríguez-Lozano, Dulce Carolina; Piña-Medina, Ana Gabriela; Hansberg-Pastor, Valeria; Bello-Alvarez, Claudia; Camacho-Arroyo, Ignacio (2019): Testosterone Promotes Glioblastoma Cell Proliferation, Migration, and Invasion Through Androgen Receptor Activation. In: *Frontiers in endocrinology* 10, S. 16. DOI: 10.3389/fendo.2019.00016.
- Sacko, Adama; Hou, Miao-Miao; Temgoua, Michael; Alkhafaji, Ali; Marantidou, Athina; Belin, Catherine et al. (2015): Evolution of the Karnofsky Performance

- Status throughout life in glioblastoma patients. In: *Journal of neuro-oncology* 122 (3), S. 567–573. DOI: 10.1007/s11060-015-1749-6.
- Sahm, Felix; Capper, David; Jeibmann, Astrid; Habel, Antje; Paulus, Werner; Troost, Dirk; Deimling, Andreas von (2012): Addressing diffuse glioma as a systemic brain disease with single-cell analysis. In: *Archives of neurology* 69 (4), S. 523–526. DOI: 10.1001/archneurol.2011.2910.
- Sahm, Felix; Reuss, David; Koelsche, Christian; Capper, David; Schittenhelm, Jens; Heim, Stephanie et al. (2014): Farewell to oligoastrocytoma: in situ molecular genetics favor classification as either oligodendroglioma or astrocytoma. In: *Acta neuropathologica* 128 (4), S. 551–559. DOI: 10.1007/s00401-014-1326-7.
- Sandberg-Wollheim, Magnhild; Hougaard, Kjeld; Malmström, Per; Strömblad, Lars-GÖRan; Salford, Leif G.; Anderson, Harald et al. (1991): A randomized study of chemotherapy with procarbazine, vincristine, and lomustine with and without radiation therapy for astrocytoma grades 3 and/or 4. In: *Cancer* 68 (1), S. 22–29. DOI: 10.1002/1097-0142(19910701)68:1<22::aid-cncr2820680105>3.0.co;2-2.
- Sauvageot, Sidonie; Boetto, Julien; Duffau, Hugues (2023): Surgical, functional, and oncological considerations regarding awake resection for giant diffuse lower-grade glioma of more than 100 cm³. In: *Journal of neurosurgery* 139 (4), S. 934–943. DOI: 10.3171/2023.2.JNS222755.
- Schiffer, D.; Dutto, A.; Cavalla, P.; Bosone, I.; Chiò, A.; Villani, R.; Bellotti, C. (1997): Prognostic factors in oligodendroglioma. In: *The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques* 24 (4), S. 313–319. DOI: 10.1017/s0317167100032984.
- Schijns, Virgil E. J. C.; Pretto, Chrystel; Strik, Anna M.; Gludemans-Rijkers, Rianne; Deviller, Laurent; Pierre, Denis et al. (2018): Therapeutic Immunization against Glioblastoma. In: *International journal of molecular sciences* 19 (9). DOI: 10.3390/ijms19092540.
- Schupper, Alexander J.; Yong, Raymund L.; Hadjipanayis, Constantinos G. (2021): The Neurosurgeon's Armamentarium for Gliomas: An Update on Intraoperative Technologies to Improve Extent of Resection. In: *Journal of Clinical Medicine* 10 (2). DOI: 10.3390/jcm10020236.
- Schwartzentruber, Jeremy; Korshunov, Andrey; Liu, Xiao-Yang; Jones, David T. W.; Pfaff, Elke; Jacob, Karine et al. (2012): Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. In: *Nature* 482 (7384), S. 226–231. DOI: 10.1038/nature10833.
- Senft, Christian; Bink, Andrea; Heckelmann, Michael; Gasser, Thomas; Seifert, Volker (2011): Glioma extent of resection and ultra-low-field iMRI. Interim analysis of a prospective randomized trial. In: *Acta neurochirurgica. Supplement* 109, S. 49–53. DOI: 10.1007/978-3-211-99651-5_8.

- Sharda, Asmita; Humphrey, Timothy C. (2022): The role of histone H3K36me3 writers, readers and erasers in maintaining genome stability. In: *DNA repair* 119, S. 103407. DOI: 10.1016/j.dnarep.2022.103407.
- Shin, Jacob Y.; Diaz, Aidnag Z. (2016): Utilization and impact of adjuvant therapy in anaplastic oligodendroglioma. An analysis on 1692 patients. In: *Journal of neuro-oncology* 129 (3), S. 567–575. DOI: 10.1007/s11060-016-2212-Z.
- Simon, Jeremy M.; Hacker, Kathryn E.; Singh, Darshan; Brannon, A. Rose; Parker, Joel S.; Weiser, Matthew et al. (2014): Variation in chromatin accessibility in human kidney cancer links H3K36 methyltransferase loss with widespread RNA processing defects. In: *Genome research* 24 (2), S. 241–250. DOI: 10.1101/gr.158253.113.
- Sottoriva, Andrea; Spiteri, Inmaculada; Piccirillo, Sara G. M.; Touloumis, Anestis; Collins, V. Peter; Marioni, John C. et al. (2013): Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (10), S. 4009–4014. DOI: 10.1073/pnas.1219747110.
- Stummer, W.; Novotny, A.; Stepp, H.; Goetz, C.; Bise, K.; Reulen, H. J. (2000): Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins. A prospective study in 52 consecutive patients. In: *Journal of neurosurgery* 93 (6), S. 1003–1013. DOI: 10.3171/jns.2000.93.6.1003.
- Stummer, W.; Stocker, S.; Wagner, S.; Stepp, H.; Fritsch, C.; Goetz, C. et al. (1998): Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. In: *Neurosurgery* 42 (3), 518-25; discussion 525-6. DOI: 10.1097/00006123-199803000-00017.
- Stupp, Roger; Hegi, Monika E.; Mason, Warren P.; van den Bent, Martin J.; Taphoorn, Martin J. B.; Janzer, Robert C. et al. (2009): Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study. 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. In: *The Lancet Oncology* 10 (5), S. 459–466. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70025-7.
- Stupp, Roger; Mason, Warren P.; van den Bent, Martin J.; Weller, Michael; Fisher, Barbara; Taphoorn, Martin J. B. et al. (2005): Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. In: *The New England journal of medicine* 352 (10), S. 987–996. DOI: 10.1056/NEJMoa043330.
- Stupp, Roger; Reni, Michele; Gatta, Gemma; Mazza, Elena; Vecht, Charles (2007): Anaplastic astrocytoma in adults. In: *Critical reviews in oncology/hematology* 63 (1), S. 72–80. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2007.03.003.
- Stupp, Roger; Taillibert, Sophie; Kanner, Andrew; Read, William; Steinberg, David; Lhermitte, Benoit et al. (2017): Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on

- Survival in Patients With Glioblastoma. A Randomized Clinical Trial. In: *JAMA* 318 (23), S. 2306–2316. DOI: 10.1001/jama.2017.18718.
- Stupp, Roger; Taillibert, Sophie; Kanner, Andrew A.; Kesari, Santosh; Steinberg, David M.; Toms, Steven A. et al. (2015): Maintenance Therapy With Tumor-Treating Fields Plus Temozolomide vs Temozolomide Alone for Glioblastoma. A Randomized Clinical Trial. In: *JAMA* 314 (23), S. 2535–2543. DOI: 10.1001/jama.2015.16669.
- Sun, Zhongxing; Zhang, Yanjun; Jia, Junqi; Fang, Yuan; Tang, Yin; Wu, Hongfei; Fang, Dong (2020): H3K36me3, message from chromatin to DNA damage repair. In: *Cell & bioscience* 10, S. 9. DOI: 10.1186/s13578-020-0374-z.
- Swanson, Kenneth D.; Lok, Edwin; Wong, Eric T. (2016): An Overview of Alternating Electric Fields Therapy (NovoTTF Therapy) for the Treatment of Malignant Glioma. In: *Current neurology and neuroscience reports* 16 (1), S. 8. DOI: 10.1007/s11910-015-0606-5.
- Taal, Walter; Bromberg, Jacqueline E. C.; van den Bent, Martin J. (2015): Chemotherapy in glioma. In: *CNS oncology* 4 (3), S. 179–192. DOI: 10.2217/cns.15.2.
- Tan, Jing; Yang, Xiaojing; Zhuang, Li; Jiang, Xia; Chen, Wei; Lee, Puay Leng et al. (2007): Pharmacologic disruption of Polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells. In: *Genes & development* 21 (9), S. 1050–1063. DOI: 10.1101/gad.1524107.
- Torres, Daniela; Canoll, Peter (2019): Alterations in the Brain Microenvironment in Diffusely Infiltrating Low-Grade Glioma. In: *Neurosurgery clinics of North America* 30 (1), S. 27–34. DOI: 10.1016/j.nec.2018.08.001.
- Tortosa, Avelina; Viñolas, Núria; Villà, Salvador; Verger, Eugènia; Gil, Juan M.; Brell, Marta et al. (2003): Prognostic implication of clinical, radiologic, and pathologic features in patients with anaplastic gliomas. In: *Cancer* 97 (4), S. 1063–1071. DOI: 10.1002/cncr.11120.
- Turcan, Sevin; Makarov, Vladimir; Taranda, Julian; Wang, Yuxiang; Fabius, Armida W. M.; Wu, Wei et al. (2018): Mutant-IDH1-dependent chromatin state reprogramming, reversibility, and persistence. In: *Nature genetics* 50 (1), S. 62–72. DOI: 10.1038/s41588-017-0001-z.
- Turcan, Sevin; Rohle, Daniel; Goenka, Anuj; Walsh, Logan A.; Fang, Fang; Yilmaz, Emrullah et al. (2012): IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. In: *Nature* 483 (7390), S. 479–483. DOI: 10.1038/nature10866.
- van den Bent, Martin J.; Brandes, Alba A.; Taphoorn, Martin J. B.; Kros, Johan M.; Kouwenhoven, Mathilde C. M.; Delattre, Jean-Yves et al. (2013): Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma. Long-term follow-up of EORTC brain tumor group study 26951. In: *Journal of clinical oncology : official journal of*

- the American Society of Clinical Oncology* 31 (3), S. 344–350. DOI: 10.1200/JCO.2012.43.2229.
- van den Bent, Martin J.; Tesileanu, C. Mircea S.; Wick, Wolfgang; Sanson, Marc; Brandes, Alba Ariela; Clement, Paul M. et al. (2021): Adjuvant and concurrent temozolomide for 1p/19q non-co-deleted anaplastic glioma (CAT-NON; EORTC study 26053-22054): second interim analysis of a randomised, open-label, phase 3 study. In: *The Lancet. Oncology* 22 (6), S. 813–823. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00090-5.
- Viaene, Angela N.; Santi, Mariarita; Rosenbaum, Jason; Li, Marilyn M.; Surrey, Lea F.; Nasrallah, MacLean P. (2018): SETD2 mutations in primary central nervous system tumors. In: *Acta neuropathologica communications* 6 (1), S. 123. DOI: 10.1186/s40478-018-0623-0.
- Wainwright, Derek A.; Nigam, Pragati; Thaci, Bart; Dey, Mahua; Lesniak, Maciej S. (2012): Recent developments on immunotherapy for brain cancer. In: *Expert opinion on emerging drugs* 17 (2), S. 181–202. DOI: 10.1517/14728214.2012.679929.
- Wan, Lixin; Xu, Kexin; Wei, Yongkun; Zhang, Jinfang; Han, Tao; Fry, Christopher et al. (2018): Phosphorylation of EZH2 by AMPK Suppresses PRC2 Methyltransferase Activity and Oncogenic Function. In: *Molecular cell* 69 (2), 279-291.e5. DOI: 10.1016/j.molcel.2017.12.024.
- Wang, Xinyu; Dai, Lijun; Liu, Yang; Li, Chenghao; Fan, Dandan; Zhou, Yue et al. (2023): Partial erosion on under-methylated regions and chromatin reprogramming contribute to oncogene activation in IDH mutant gliomas. In: *Epigenetics & chromatin* 16 (1), S. 13. DOI: 10.1186/s13072-023-00490-x.
- Weller, Michael; van den Bent, Martin; Tonn, Jörg C.; Stupp, Roger; Preusser, Matthias; Cohen-Jonathan-Moyal, Elizabeth et al. (2017): European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. In: *The Lancet Oncology* 18 (6), e315-e329. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30194-8.
- Weller, Michael; Wick, Wolfgang; Aldape, Ken; Brada, Michael; Berger, Mitchell; Pfister, Stefan M. et al. (2015): Glioma. In: *Nature reviews. Disease primers* 1, S. 15017. DOI: 10.1038/nrdp.2015.17.
- Wen, Patrick Y.; Kesari, Santosh (2008): Malignant gliomas in adults. In: *The New England journal of medicine* 359 (5), S. 492–507. DOI: 10.1056/NEJMra0708126.
- Wesseling, Pieter; van den Bent, Martin; Perry, Arie (2015): Oligodendroglioma. Pathology, molecular mechanisms and markers. In: *Acta neuropathologica* 129 (6), S. 809–827. DOI: 10.1007/s00401-015-1424-1.
- Winkler, Frank; Osswald, Matthias; Wick, Wolfgang (2018): Anti-Angiogenics. Their Role in the Treatment of Glioblastoma. In: *Oncology research and treatment* 41 (4), S. 181–186. DOI: 10.1159/000488258.

- Wirsching, Hans-Georg; Galanis, Evanthia; Weller, Michael (2016): Glioblastoma. In: *Handbook of clinical neurology* 134, S. 381–397. DOI: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00023-2.
- Wirsching, Hans-Georg; Weller, Michael (2018): Neues zu hirneigenen Tumoren. In: *Therapeutische Umschau. Revue therapeutique* 75 (7), S. 438–443. DOI: 10.1024/0040-5930/a001021.
- Wood, J. R.; Green, S. B.; Shapiro, W. R. (1988): The prognostic importance of tumor size in malignant gliomas: a computed tomographic scan study by the Brain Tumor Cooperative Group. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 6 (2), S. 338–343. DOI: 10.1200/JCO.1988.6.2.338.
- Xiao, Chu; Fan, Tao; Tian, He; Zheng, Yujia; Zhou, Zheng; Li, Shuofeng et al. (2021): H3K36 trimethylation-mediated biological functions in cancer. In: *Clinical epigenetics* 13 (1), S. 199. DOI: 10.1186/s13148-021-01187-2.
- Xie, Yuan; Bergström, Tobias; Jiang, Yiwen; Johansson, Patrik; Marinescu, Voichita Dana; Lindberg, Nanna et al. (2015): The Human Glioblastoma Cell Culture Resource. Validated Cell Models Representing All Molecular Subtypes. In: *EBioMedicine* 2 (10), S. 1351–1363. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.08.026.
- Yan, Hai; Parsons, D. Williams; Jin, Genglin; McLendon, Roger; Rasheed, B. Ahmed; Yuan, Weishi et al. (2009): IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. In: *The New England journal of medicine* 360 (8), S. 765–773. DOI: 10.1056/NEJMoa0808710.
- Yong, Raymond L.; Lonser, Russell R. (2011): Surgery for glioblastoma multiforme. Striking a balance. In: *World neurosurgery* 76 (6), S. 528–530. DOI: 10.1016/j.wneu.2011.06.053.
- Young, Jacob S.; Chmura, Steven J.; Wainwright, Derek A.; Yamini, Bakhtiar; Peters, Katherine B.; Lukas, Rimas V. (2017): Management of glioblastoma in elderly patients. In: *Journal of the neurological sciences* 380, S. 250–255. DOI: 10.1016/j.jns.2017.07.048.
- Yu, Jia-Ray; Lee, Chul-Hwan; Oksuz, Ozgur; Stafford, James M.; Reinberg, Danny (2019): PRC2 is high maintenance. In: *Genes & development* 33 (15–16), S. 903–935. DOI: 10.1101/gad.325050.119.
- Yuan, Wen; Xu, Mo; Huang, Chang; Liu, Nan; Chen, She; Zhu, Bing (2011): H3K36 methylation antagonizes PRC2-mediated H3K27 methylation. In: *The Journal of biological chemistry* 286 (10), S. 7983–7989. DOI: 10.1074/jbc.M110.194027.
- Zhu, Ping; Zhu, Jay-Jiguang (2017): Tumor treating fields: a novel and effective therapy for glioblastoma: mechanism, efficacy, safety and future perspectives. In: *Chinese clinical oncology* 6 (4), S. 41. DOI: 10.21037/cco.2017.06.29.

Anhang

A Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde im Department für Neurochirurgie und Neurotechnologie des Universitätsklinikums Tübingen zunächst unter der Betreuung von Herrn PD Dr. Marco Skardelly durchgeführt. Im Verlauf wurde diese auf Herrn PD Dr. med. Felix Behling übertragen.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Herrn PD Dr. med. Felix Behling. Das Zusammenführen der klinischen Daten erfolgte durch Herrn PD Dr. med. Felix Behling und mich. Die für den weiteren Stanzprozess notwendige Markierung der Tumorproben auf den entsprechenden HE-Schnitten erfolgte durch Prof. Dr. med. Jens Schittenhelm. Die Erstellung der TMAs wurde durch mich durchgeführt. Das Mikrotomieren der Blöcke erfolgte durch die Medizinisch-technischen Laboratoriumsassistent:innen der neuropathologischen Abteilung. Die immunhistochemischen Färbungen wurden mithilfe eines vollautomatischen Autostainers angefertigt. Nach Einarbeitung durch Herrn PD Dr. med. Felix Behling und dessen Unterstützung sowie die von Herrn Prof. Dr. med. Jens Schittenhelm wurde die Auswertung der Immunhistochemie von mir durchgeführt.

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

Tübingen, den 01.02.2025

Linda Maria Winkler (geb. Schnaidt)

B Danksagung

Zunächst gilt mein Dank Herrn PD Dr. med. Marko Skardelly, der mir ermöglichte, über dieses Thema zu promovieren und somit den Grundstein für diese Arbeit gelegt hat.

Ein ganz besonderer Dank geht an Herrn PD Dr. med. Felix Behling, der mich zunächst als Betreuer begleitete und später die Rolle meines Doktorvaters übernommen hat. Seine kontinuierliche Unterstützung, wertvollen Ratschläge, konstruktive Kritik und Motivation waren für mich von unschätzbarem Wert.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Jens Schittenhelm und allen Mitarbeitenden des Neuropathologischen Instituts für ihre tatkräftige Hilfe sowie ihre ständige Bereitschaft, mir mit Rat und Tat zur Seite zu stehen, bedanken.

Ich möchte weiterhin meine große Dankbarkeit allen Patient:innen aussprechen, die ihre Zustimmung zur Verwendung ihrer Daten für die Forschung gegeben haben. Ohne sie wäre es nicht möglich, Fortschritte in der medizinischen Forschung zu erzielen. Sie sind maßgeblich an den Ergebnissen und dem Gelingen dieser Arbeit beteiligt.

Ein großes Dankeschön gilt auch all meinen Freunden, die mich auf diesem Weg begleitet haben. Allen voran möchte ich Julika, Bene, Baderle, Franzi, Miri und Florine sowie meinen Tübinger Mädels Eva, Leonie, Nura und Sonja danken, die auf unterschiedliche Art und Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich bin auch meiner Familie zu größtem Dank verpflichtet. Ohne die fortwährende und unermüdliche Unterstützung und aufmunternden Worte meiner Eltern Sabine und Hagen, meinen Geschwistern Lukas und Anna-Lena sowie meiner Paten-tante Ulrike wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinem lieben Mann Felix bedanken, der mir in jeder Phase dieser Arbeit zur Seite stand und mir stets den nötigen Rückhalt gab. Sein Glaube an mich, seine positive Einstellung sowie seine ständige Ermutigung waren für mich eine große Hilfe.