

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

betreut am
Zentrum der Neurologie und Neurochirurgie
Klinik für Neurochirurgie
Direktor: Prof. Dr. Volker Seifert

**Die Bedeutung der IDH1 Mutation für das Outcome
von Patienten mit sekundärem Glioblastom
behandelt in der Klinik für Neurochirurgie Frankfurt am Main**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Johannes Zappi

aus Kassel

Frankfurt am Main, 2016

Dekan:	Prof. Dr. Josef Pfeilschifter
Referent:	Prof. Dr. Dr. Christian Senft
Korreferent/in:	Prof. Dr. Joachim Steinbach
[ggf. 2. Korreferent/in:	Titel Vorname Nachname]
Tag der mündlichen Prüfung:	12.05.2017

I Inhaltsverzeichnis

3.1.4 Lokalisation.....	38
3.1.5 Karnofsky Index (KPS).....	38
3.2 Therapie.....	41
3.2.1 Resektionsausmaß	41
3.2.2 Radiotherapie	41
3.2.3 Chemotherapie	42
3.3 Überlebensanalysen nach Kaplan-Meier mit log-rank Test.....	43
3.3.1 IDH1 (R132H) Mutation.....	44
3.3.1.1 IDH1 und Re-Bestrahlung.....	44
3.3.1.2 Vorbestrahlung der Ursprungsläsion	46
3.3.2 Alter	49
3.3.3 Geschlecht.....	50
3.3.4 Präoperativer KPS	51
3.3.5 Lokalisation.....	51
3.3.6 Multifokalität.....	53
3.3.7 Ursprungsläsion	53
3.3.8 Zeitraum zwischen Ursprungsläsion und Glioblastom	55
3.3.9 Resektionsausmaß	56
3.3.10 Adjuvante Therapieregimen	58
3.4 Univariate Signifikanzanalyse im log rank Test.....	60
3.5 Cox Regressionsanalyse.....	62
3.6 Versuch der Risikostratifizierung	63
4 Diskussion	67
5 Zusammenfassung	77
6 Summary	79
7 Literaturverzeichnis.....	81
8 Anhang	84
9 Danksagung.....	88
10 Curriculum vitae	89
11 Schriftliche Erklärung	91

II Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: GBM (HE, 40 x Vergrößerung).	12
Abbildung 2: GBM (HE, 400 x Vergrößerung).	12
Abbildung 3: Zeitliche Übersicht der Standardtherapiemaßnahmen.	13
Abbildung 4: Zelluläre Antwort auf O6 -Methylguanin-Schäden.	17
Abbildung 5: Häufigkeiten der molekularpathologischen Unterschiede zwischen primären und sekundären Glioblastomen.	20
Abbildung 6: Häufigkeiten der IDH1 Mutationen.	21
Abbildung 7: IDH1 (R132H) Mutation.	23
Abbildung 8: Immunhistochemische IDH1 Färbung nach (Strept-)Avidin-Biotin-Complex- (ABC) Methode mit DAB.	24
Abbildung 9: GBM (Immunhistochemie für mutiertes IDH1 (R132H), 4 x und 40 x Vergrößerung).	25
Abbildung 10: GBM (Immunhistochemie mutiertes IDH1 (R132H) Protein, 4 x und 40 x Vergrößerung).	30
Abbildung 11: Altersverteilung des mutierten IDH1 (R132H) Proteins.	34
Abbildung 12: Geschlechterverteilung IDH1 (R132H) Mutation.	34
Abbildung 13: Präoperativer KPS Verteilung IDH1 Mutation	35
Abbildung 14: Lokalisationsverteilung IDH1 (R132H) Mutation.	35
Abbildung 15: Zeitraum Verteilung IDH1 Mutation.	36
Abbildung 16: Ursprungsläsionen.	36
Abbildung 17: Altersverteilung aller Patienten.	37
Abbildung 18: Altersverteilung bei sekundärem Glioblastom.	37
Abbildung 19: Lokalisation der Glioblastome.	38
Abbildung 20: Karnofsky Index.	39
Abbildung 21: Adjuvante Therapie.	42
Abbildung 22: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable IDH1 Mutation. ...	44
Abbildung 23: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable IDH1 Protein mutiert und Rebestrahlung.	45
Abbildung 24: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable IDH1 Protein wildtyp und Rebestrahlung.	46
Abbildung 25: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Re-Bestrahlung...	47
Abbildung 26: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Vorbestrahlung Ursprungsläsion.	48
Abbildung 27: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Alter.	49
Abbildung 28: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Geschlecht.	50
Abbildung 29: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable präoperativer KPS.	51
Abbildung 30: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Lokalisation Hirnlappen.	52
Abbildung 31: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Lokalisation Hemisphären.	52
Abbildung 32: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Multifokalität.	53
Abbildung 33: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Ursprungsläsion..	54

II Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 34: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Ursprungsläsion WHO Grad.....	54
Abbildung 35: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Zeitraum zwischen Auftreten des sGBM und Ursprungsläsion.	55
Abbildung 36: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Resektionsausmaß.	56
Abbildung 37: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable IDH1 Mutation und Resektionsausmaß.	57
Abbildung 38: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable adjuvante Therapie.	59
Abbildung 39: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Chemotherapie... ..	59
Abbildung 40: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Bestrahlung.	60
Abbildung 41: Balkendiagramm Einflussfaktoren Cox-Regression.....	62
Abbildung 42: Baumdiagramm Risikogruppen.	63
Abbildung 43: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Risikogruppe gepoolt.....	65
Abbildung 44: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Risikogruppe gute Prognose Resektionsausmaß.	66
Abbildung 45: Risikogruppen	84
Tabelle 1: Übersicht des Patientenkollektivs.	40
Tabelle 2: Univariate Signifikanzanalyse im log-rank Test.	61
Tabelle 3: Übersicht Gesamtüberleben in Bezug auf Einflussfaktoren.	84
Tabelle 4: Übersicht Rebestrahlung und IDH1 (R132H) Mutation.	86
Tabelle 5: Übersicht IDH1 (R132H) Mutation und Resektionsausmaß.	86
Tabelle 6: Übersicht Risikogruppen und Resektionsausmaß.	87
Tabelle 7: Übersicht Rebestrahlung.....	87

III Abkürzungen und Anglizismen

Abkürzung bzw. Anglizismus	Bedeutung
5-ALA	5-Aminolävulinsäure
ACNU	Nimustin, Chemotherapeutikum
AML	Akute myeloische Leukämie
BCNU	Carmustin, Chemotherapeutikum
BER	Basen-Exzisionsreparatursystem
CCNU	Lomustin, Chemotherapeutikum
CpG Position	Austausch des Basenpaares Guanin/ Cytosin mit Adenin und Thymin
DAB	Diaminobenzidin
DNA	Desoxyribonukleinsäure, desoxyribonucleic acid
EEG	Elektroenzephalogramm
EGF	Epidermal Growth Factor
GBM	Glioblastom
GTR	Komplettresektion
H	Histidin
HIER	heat-induced epitope retrieval
HIF 1 α	Hypoxie-induzierter-Faktor 1 α
HR	Hazard Ratio, relatives Risiko
HRP	Horseradish Peroxidase (Meerrettichperoxidase)
IDH1	Isocitrat Dehydrogenase-1, R132H (sofern nicht anderweitig angegeben)
IG	Ursprungsläsion
KI	95% Konfidenzintervall
KPS	Karnofsky Performance Score
LOH	Verlust der Heterozygotie, loss of heterozygosity
MDM 2	murine double minute 2
MDS	Myelodysplasie
MGMT	Methylguanin-DNA-Methyltransferase
MMR	Basenfehlpaarungsreparatursystem
MRT	Magnetresonanztomographie, Kernspintomographie
NADP+	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat, oxidierte Form
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat, reduzierte Form
NR	Keine Resektion/ Biopsie
p53	Tumorsuppressor
PBS	Phosphate buffered saltine (phosphatgepufferte Salzlösung)
PET	Positronenemissionstomographie
R	Arginin
Rb Protein	Retinoblastoma Protein (Tumorsuppressor)
ReXRT	Rebestrahlung
second line	Im Kontext Medikamente der zweiten Wahl
STR	Teilresektion
TMZ	Temozolomid, Chemotherapeutikum
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VM26	Teniposid, Chemotherapeutikum

III Abkürzungen und Anglizismen

VP 16	Etoposid, Chemotherapeutikum
WHO	World Health Organisation
XRT	Radiotherapie
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Allgemeine Informationen zum Glioblastoma multiforme

1.1.1 Geschichte

Die Historie von Glioblastomen reicht lange zurück. Im Jahre 1858 hatte Rudolf Virchow als Erster Gliazellen beschrieben.¹ Später, im Jahre 1922, begannen die beiden amerikanischen Neurochirurgen Percival Bailey und Harvey Cushing die systematische Aufarbeitung der Pathologie von Hirntumoren. Vier Jahre später entwickelten sie eine histopathologische Einteilung von Hirntumoren in 14 Hauptgruppen und prägten dabei den Begriff Glioblastoma multiforme.² Der Name Glioblastom stützte sich auf die Ansicht, dass sich der Tumor aus Gliavorläuferzellen entwickelt und das Erscheinungsbild sehr unterschiedlich sein kann mit Nekrosen, zystischen Raumforderungen und Einblutungen, sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch.

Im Jahre 1949 vereinfachte Kernohan diese Klassifikation dadurch, dass er Gliome nur noch in vier Gruppen einteilte (Grad 1 bis Grad 4). Bei dieser Einteilung wurden Grad 4 Gliome als Glioblastome bezeichnet, wobei er dafür die Histologie und das biologischen Verhalten berücksichtigte.³ Die Einteilung wird heutzutage durch die internationale WHO Klassifikation von Tumoren des ZNS vorgenommen, die im Jahre 2007 in der vierten Auflage erschienen ist. Diese Klassifikation basiert auf histologischen Kriterien des Hirngewebes wie Zelldichte, Kernmorphologie, Mitoserate und immunhistochemischen Eigenschaften und teilt Tumoren entsprechend ihres Einflusses auf das Überleben der Patienten in die Grade I (benigne) bis IV (hochmaligne) ein.⁴

Sekundäre Glioblastome werden traditionell definiert als Glioblastome, welche sich schrittweise aus weniger bösartigen Astrozytomen (diffuses oder anaplastisches Astrozytom (WHO Grad II/III)) oder aus Oligodendrogliomen (Grad II/III) entwickeln.

1.1.2 Ätiologie und Symptome

Nach den aktuellsten Zahlen aus dem Jahre 2012 erkrankten in Deutschland circa 7200 Personen an einer Krebserkrankung des Zentralen Nervensystems (ZNS), wovon 95 % das Gehirn betreffen.⁶ Basierend auf Ergebnissen von Studien aus den Vereinigten Staaten von Amerika ist das Glioblastom der häufigste und bösartigste astrozytäre Tumor, der 15,1 % aller Tumorerkrankungen des ZNS und mehr als 55 % aller Gliome ausmacht. Dabei findet sich dieser Tumor meistens im Telenzephalon, vorzugsweise im Frontal- und Temporallappen.⁷

Erste Symptome können langanhaltende Kopfschmerzen, epileptische Anfälle (Grand-mal Anfälle), Persönlichkeitsveränderung (vor allem bei der Lokalisation im Frontalhirn) und neurologische Ausfälle sein, je nachdem, wo sich der Tumor befindet.⁸

1.1.3 Diagnostik

Im Rahmen der Diagnostik und Prognoseabschätzung ist es von hohem Stellenwert, dass eine neurologische Untersuchung durchgeführt und der Karnofsky Index (KPS) festgelegt wird. Der Karnofsky Index quantifiziert das allgemeine Befinden des Patienten und die Einschränkungen bei Aktivitäten des alltäglichen Lebens; er reicht von 100 (keine Einschränkung) bis 0 (Tod).⁹ Somit lässt sich der Ausgangszustand der Patienten standardisiert beurteilen und Veränderungen im Verlauf erkennen.

Als weitere Diagnostik erfolgt ein Computertomogramm (CT) oder ein Magnetresonanztomogramm (MRT) mit oder ohne Kontrastmittel, wobei der Goldstandard ein Kontrastmittel-MRT mit Gadolinium als Kontrastmittel ist. Das Glioblastom zeigt sich im T1-gewichteten MRT-Bild als eine im Zentrum hypointens erscheinende, im Randbereich kontrastmittelanreichernde, hyperintense intrakranielle Raumforderung mit perifokaler Ödembildung. Die hypointense Struktur entspricht dem nekrotischen Bereich des Tumors und die hyperintense Läsion dem aktiven Teil des Tumors. Im T2-gewichteten MRT-Bild

identifiziert man das Gliom gegenüber dem angrenzenden Hirngewebe als eine signalreiche (hyperintense), unregelmäßig begrenzte Raumforderung. Das Gliom ist gegen das perifokale Ödem in der Regel etwas signalärmer (hypointenser). Signalinhomogenitäten innerhalb des Tumors, die sowohl in den T1- als auch in den T2-gewichteten Sequenzen nachweislich zu finden sind, entsprechen nekrotischen, verkalkten oder eingebluteten Tumoranteilen.¹⁰

Zusätzliche neuroradiologische Bildgebung besteht aus der MR-Spektroskopie, der diffusionsgewichteten MRT, der Perfusions-MRT und der Positronenemissionstomographie (PET), um unter anderem eine Raumforderung differenzialdiagnostisch und prognostisch abzuschätzen und ein späteres Therapieansprechen zu beurteilen.¹¹

Weiterhin kann zur differentialdiagnostischen Abklärung eine Liquor cerebrospinalis-Punktion erfolgen, um einen entzündlichen Prozess auszuschließen, und ein Elektroenzephalogramm (EEG) geschrieben werden, um die Krampfbereitschaft festzustellen. Die Prävention und Früherkennung besitzen bei Gliomen keine erwähnenswerte Bedeutung. Nur klinische Verdachtssymptome können einen Hinweis auf eine solche intrakranielle Raumforderung geben.¹²

1.2 Pathologie des Glioblastoma multiforme

In der WHO Klassifikation ist das Glioblastom als ein Grad IV Astrozytom mit einem raschen, infiltrativen Wachstum gekennzeichnet. Histologisch fällt es dadurch auf, dass eine hohe Zelldichte, viele atypische Mitosen, Tumornekrosen sowie eine oft ausgeprägte Anaplasie und Gefäßproliferation vorliegen. Bei einem Glioblastom im Speziellen erkennt man makroskopisch ein typisches „buntes“ Bild mit Blutungen, Nekrosen und weißlich grauen Tumorgewebe. Es wächst oft diffus–infiltrativ und breitet sich schnell entlang von Myelinbahnen aus. Histologisch finden sich die Merkmale eines WHO Grad IV Tumors. Dem entsprechend ist polymorphes (bis hin zu mehrkernigen Riesenzellen), zellreiches Tumorgewebe auf fibrillären Untergrund mit vielen Mitosen zu finden. Au-

ßerdem weist das Glioblastom strichförmige oder flächenhafte Nekrosen auf, die von den Tumorzellkernen radiär umzingelt werden (Palisadenanordnung der Kerne). Charakteristisch für diesen Hirntumor sind auch Gefäßproliferationen, vor allem im Bereich des Infiltrationsareals (siehe Abbildung 1 und 2).¹³

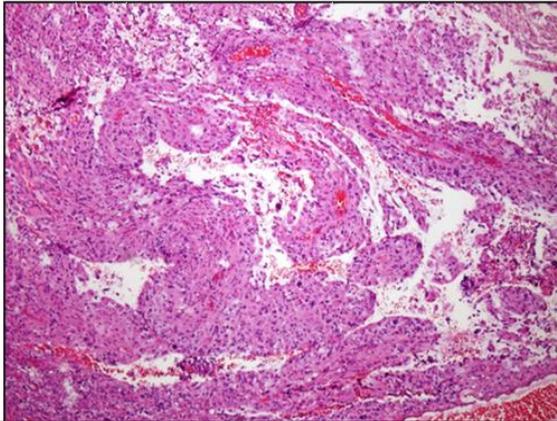


Abbildung 1: GBM (HE, 40 x Vergrößerung).

In der Übersichtsaufnahme zeigt sich ein dichtzelliger hirneigener Tumor mit zahlreichen Gefäßen.

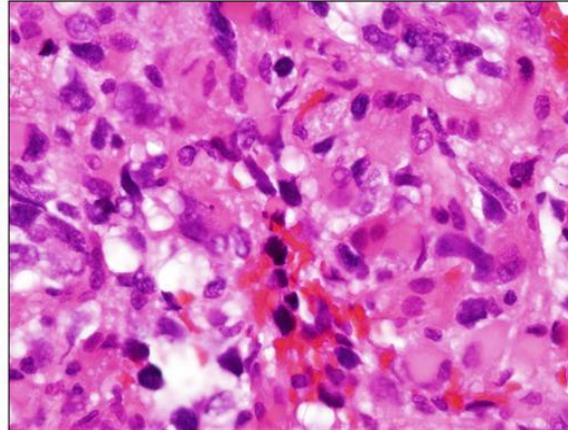


Abbildung 2: GBM (HE, 400 x Vergrößerung).

In der höheren Vergrößerung zeigen sich pleomorphe Tumorzellen, die auf einer fibrillären Matrix liegen. Außerdem sind mehrere Mitosefiguren erkennbar.

1.3 Therapie des Glioblastoma multiforme

Trotz vieler verschiedener Therapieansätze haben Glioblastome immer noch eine sehr schlechte Prognose, wobei hier noch zwischen primären und sekundären Glioblastomen unterschieden werden muss (s.u.). Die Standardtherapie bei (primären) Glioblastomen setzt sich zusammen aus einer Kombination bestehend aus der Resektion des Tumorgewebes (partiell oder radiologisch vollständig), einer adjuvanten Strahlenbehandlung des Tumorbereichs und einer Chemotherapie (lokal oder systemisch). Prinzipiell ist das Therapieregime bei primären Glioblastomen standardisiert, hingegen bei sekundären Glioblastomen viele verschiedene Faktoren bei der Therapieentscheidung eine Rolle spielen, unter anderem die Art der Vorbehandlung der unterschiedlichen Tumorentitäten.¹² Zur zeitlichen Übersicht der Therapieoptionen ist Abbildung 3 dargestellt. Der Methylierungsstatus des Promoters für die Methylguanin-DNA-Methyltransferase (MGMT), bestimmt routinemäßig in einer molekularpathologi-

schen Untersuchung, ist ein wichtiges Kriterium für die Therapieplanung/ -prognose, da in vorausgegangenen Studien gezeigt werden konnte, dass Patienten mit einem hypermethylierten MGMT-Promoter ein besseres Ansprechen auf eine Chemotherapie (mit Temozolomid) und somit ein gesteigertes Überleben haben.^{14,15} In einer Analyse aus dem Jahr 2012 konnten zwei bestimmte Regionen in dem Promoterabschnitt des MGMT-Gens (cg1243587 und cg12981137) gefunden werden, die vor allem wichtig bei der Abschaltung des Gens und der Vorhersage eines möglichen Outcomes bezüglich des Überlebens sind. Herausgefunden wurden diese Informationen mithilfe einer Analyse der 450K-Methylom Datenbank (HumanMethylation 450) und Vergleich mit Glioblastomgewebe.¹⁶ Das Alter des Patienten, der präoperative Karnofsky Index, das Resektionsausmaß und die Promotor-Methylierung für eine Vorhersage des Ansprechens der Temozolomid-Therapie sind wichtige prognostische Faktoren.¹⁷

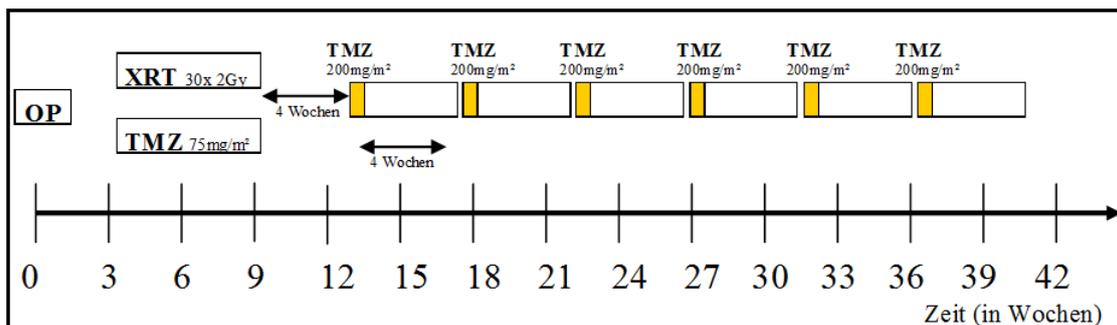


Abbildung 3: Zeitliche Übersicht der Standardtherapiemaßnahmen.

Zunächst erfolgt eine OP (Komplettresektion, Teilresektion, Biopsie). Mit 3 wöchigem Abstand beginnt die kombinierte Radiochemotherapie über 6 Wochen. Die Chemotherapie erfolgt mit Temozolomid (TMZ) mit einer täglichen Dosis von 75 mg/m² und die Strahlentherapie (XRT) mit einer Fraktionierung in 30 Sitzungen à 2 Gy (Gesamtdosis 60 Gy). Nach 4 Wochen Pause werden 6 Zyklen mit Temozolomid fortgesetzt. Ein Zyklus besteht aus einer in den ersten 5 Tagen erfolgenden Gabe von Temozolomid mit einer Dosis von 150-200 mg/m² und er dauert 4 Wochen. Eine supportive Therapie (Antiemetika, Antikonvulsiva, Antikoagulantien, antiödematöse Medikamente) erfolgt bei Bedarf.

1.3.1 Präoperative Behandlung

Vor einer Operation zur Therapie einer peritumoralen Hirnschwellung kann die Gabe von antiödematösen Medikamenten indiziert sein. Es wird zunächst versucht, das Hirnödem mit Glukokortikoiden (Dexamethason) zu behandeln; sie können bei einem deutlichen Hirnödem durch die unterstützende Gabe von Osmodiuretika wie Mannitol begleitet werden. Außerdem wird versucht, die oft auftretenden Krampfanfälle über eine antikonvulsive Therapie (mit zum Beispiel

Valproinsäure, Benzodiazepine oder Levetiracetam) zu kontrollieren und die Therapie postoperativ fortzusetzen. Die Schmerztherapie orientiert sich am WHO- Stufenschema.¹²

1.3.2 Operative Therapie

Der operative Eingriff ist bei Gliomen meistens diagnostischer und therapeutischer Natur. Bei der Resektion wird unterschieden zwischen einer partiellen und einer radiologisch vollständigen Resektion, bei der meistens noch ein kleiner MR-tomographisch sichtbarer Tumorrest im Gehirn verbleibt. Vorausgegangene Studien deuten darauf hin, dass die Überlebensrate steigt, je mehr Tumorgewebe entfernt werden kann.¹⁸ Ziele der Operationen sollten die Verkleinerung der Tumormasse, eine Hirndruckentlastung, die Wiederherstellung der Liquorzirkulation und die Wiederherstellung der neurologischen Funktion bei Schonung von möglichst viel vitalem Hirngewebe und der Vermeidung von neuen neurologischen Ausfällen sein.¹² Damit neurochirurgisch der größte Teil des Tumors, idealerweise der komplette Tumor, reseziert werden kann, gibt es die Möglichkeit, das Tumorgewebe mit einem speziellen, in der Neurochirurgie eingesetzten Mikroskop sichtbar zu machen. Der Tumor wird im Mikroskop farblich sichtbar, weil er in der Regel 5-Aminolävulinsäure (5-ALA) in das fluoreszierende Porphyrin IX umbaut und anreichert. Um das Tumorgewebe sichtbar zu machen und vom gesunden Hirnparenchym abgrenzen zu können, nehmen Patienten eine flüssige Lösung mit 5-ALA (20 mg 5-ALA/ kg Körpergewicht) präoperativ circa drei bis vier Stunden vor der Einleitung der Narkose zu sich. Intraoperativ wird der fluoreszierende Farbstoff mit blauvioletttem Licht in einem neurochirurgischen Mikroskop sichtbar gemacht und leuchtet rot. So können selbst nach der Resektion möglicherweise zurückgebliebene Tumorreste erkannt werden.^{19,20}

Um ohne Resektion den Tumor anhand der Histologie zu klassifizieren, besteht die Möglichkeit, lediglich eine Biopsie durchzuführen. Diese Methode dient ausschließlich diagnostischen Zwecken und wird nur in Erwägung gezogen, wenn der Tumor ungünstig lokalisiert ist, sich multifokal ausgebreitet hat oder es sich um ältere Patienten in schlechtem Allgemeinzustand handelt. Bei einigen operativen Verfahren werden MRTs unterstützend in der Neuronavigation intraope-

rativ eingesetzt.²¹ Postoperativ innerhalb der ersten 72 Stunden sollte zur Abklärung und zur Dokumentation des operativen Resektionsausmaßes ein MRT Bild mit und ohne Kontrastmittel erfolgen (siehe oben).¹²

1.3.3 Strahlentherapie

Prinzipiell gibt es zwei Möglichkeiten, eine Strahlentherapie durchzuführen- die Ganzhirn- und Teilhirnbestrahlung. Die Ganzhirnbestrahlung ist weitgehend obsolet geworden, da gleich gute Ergebnisse bei der Teilhirnbestrahlung erzielt werden, die eine geringere Strahlenbelastung und Komplikationsrate für Patienten mit sich bringt. Für die Teilhirnbestrahlung wird als erstes durch Schnittbild-diagnostik prä- und postoperativ das Zielvolumen festgelegt, welches in der Regel das Tumorbett und einen 0,5-2 cm breiten Sicherheitssaum umfasst. Wichtig bei der Durchführung und Planung der Strahlentherapie ist die immer gleichbleibende und exakte Lagerung des Patienten. Anschließend wird ein dreidimensionaler Bestrahlungsplan erstellt mit Hilfe eines Bestrahlungsplanungs-Computertomogramms in Therapielagerung und eine CT-gestützte Adaptation der Verteilung der Isodosen an das Tumolvolumen.¹² Das Standardschema bei der Bestrahlung der Tumorregion besteht aus einer Bestrahlung mit einer totalen Dosis von circa 60 Gy, aufgeteilt in mehrere Fraktionen von circa 2 Gy, über einen Zeitraum von sechs Wochen. Gewöhnlich wird circa drei Wochen nach der Operation mit der Strahlentherapie begonnen.²² Obwohl bekannt ist, dass Gliome nur eine geringe bis mäßige Strahlenempfindlichkeit besitzen, gehört die Bestrahlung trotzdem zu der lebensverlängernden Standardtherapie. Die lokale Kontrolle des Tumorwachstums steht dabei im Vordergrund. Nebenwirkungen der Strahlentherapie hängen unter anderem von der Fraktionierung, der Größe des Bestrahlungsfelds und Gewebeempfindlichkeit ab.¹²

1.3.4 Chemotherapie

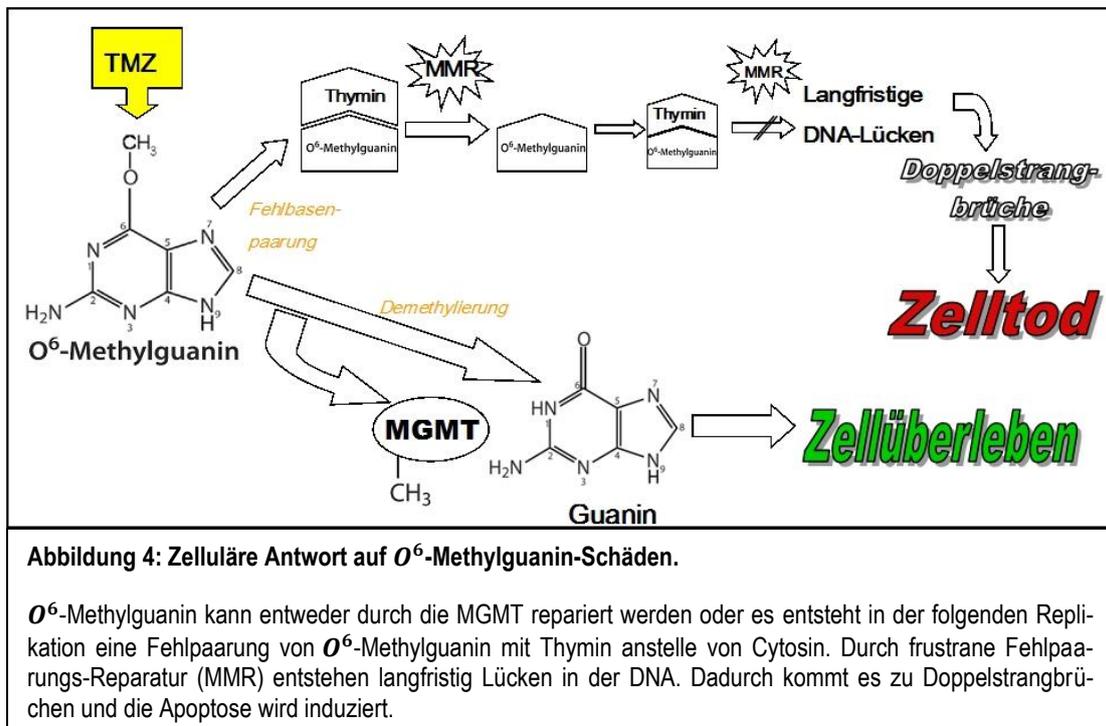
Die Chemotherapie kann entweder lokal in Form eines Carmustin oder Gliadel® (BCNU) Mikroplättchens, welches intraoperativ direkt in den Tumor eingebracht wird, oder systemisch in Form von dem Chemotherapeutikum Temozolomid

(TMZ, Temodal®) durchgeführt werden. Bei unzureichendem Ansprechen auf die Temozolomidtherapie werden Chemotherapeutika zweiter Wahl (second line), wie zum Beispiel Bevacizumab, die Kombination ACNU/ VM26 oder ACNU/ VP16 oder CeCeNU, verwendet. Goldstandard in der Chemotherapie bei primären Glioblastomen ist die systemische Gabe von Temozolomid.

Bei Temozolomid handelt es sich um ein alkylierendes Zytostatikum, welches die Zellteilung durch Alkylierung der DNA während der DNA Replikation hemmt. Der wichtigste zytotoxische Effekt ist die Alkylierung des O^6 -Guanins, welche zu 5 % vorkommt, zu einem DNA- Doppelstrangbruch und so schlussendlich zum Zelltod führt. In der Regel demethyliert die MGMT diese methylierte Base (Guanin) und repariert somit diesen Schaden. Eine hohe Aktivität der MGMT ist auch der Grund für eine potentiell schlechtere Wirksamkeit einer Temozolomidtherapie. Die MGMT überträgt die Methylgruppe vom Guanin auf einen enzym-eigenen Cystein-Rest, wodurch die MGMT dann inaktiviert ist und neue MGMT für eine neue DNA Reparatur erstellt werden muss.

Wenn das methylierte Guanin nicht durch die MGMT entfernt wird, entsteht im nächsten DNA-Replikationszyklus eine Fehlpaarung von Methylguanin mit Thymin anstelle des richtigen Cytosins. Um solche Basenfehlpaarungen kümmert sich das Basenfehlpaarungsreparatursystem (MMR) und korrigiert diese dadurch, dass es Teile des neu synthetisierten DNA-Strangs einschließlich des Thymins gegenüber von dem methylierten O^6 -Guanin entfernt, wodurch eine Lücke in der DNA entsteht. Diese Lücke wird durch Neusynthese aufgefüllt. Das Methylguanin besteht im kodierenden Strang fort und eine Thyminbase wird eingesetzt. Dadurch beginnt der Reparaturvorgang wieder von neuem, da es, wie zu Beginn, zu einer Fehlpaarung der Base Thymin mit dem Methylguanin kommt. Es entstehen langfristig Lücken in der DNA, weil diese Reparatur immer wieder von vorn beginnt. Aus diesen Lücken wiederum entstehen in der folgenden Replikationsphase der Mitose Doppelstrangbrüche, welche zum Zelltod durch Apoptose, dem programmierten Zelltod, oder zur Autophagozytose der Zelle führen (siehe Abbildung 4). Wenn das MMR bei einer Zelle defekt ist, kann Temozolomid nicht wirken und es tritt ein schlechterer therapeutischer

Effekt auf. Demnach ist es also essentiell, dass eine hohe MMR- und niedrige MGMT- Aktivität der Zelle vorliegen, um die bestmögliche Wirkung von Temozolomid zu erzielen.



Ein ganz wichtiger Aspekt bei der Anwendung von Chemotherapeutika ist die Abwägung zwischen möglicher Nebenwirkung und therapeutischer Wirkung. Zu den Nebenwirkungen bei Temozolomid zählen vor allem die Myelosuppression, Blutbildveränderungen wie Lymphopenie, Thrombozytopenie, Leukopenie und Neutropenie, eine aplastische Anämie, Myelodysplasie (MDS), akute myeloische Leukämie (AML), opportunistische Infektionen mit zum Beispiel dem Erreger *Pneumocystis jirovecii*, Übelkeit, Erbrechen, Alopezie, Obstipation und Abgeschlagenheit.^{23,24}

Die Temozolomidtherapie als Standard für primäre Glioblastome gibt es seit 2005. Das Medikament wird nach dem sog. Stupp-Protokoll verabreicht: Dabei erfolgt eine zyklische Gabe des Chemotherapeutikums, in der der Zyklus sechs Mal durchlaufen wird. Verabreicht werden 75 mg/m² Körperoberfläche pro Tag für 7 Tage die Woche über den gesamten Zeitraum der Bestrahlung. Es folgen 4 Wochen Pause, nach der dann folgend Temozolomid in einer Dosis von 150-200 mg/m² Körperoberfläche für 5 Tage alle 28 Tage gegeben wird. Die Kombi-

nation von Strahlentherapie und Temozolomidtherapie verbessert das Überleben der Patienten deutlich im Vergleich zur alleinigen Strahlenbehandlung (mittleres Überleben bei TMZ plus Bestrahlung um 2,5 Monate verlängert).¹⁷

1.3.5 Supportive Therapie

Zur Reduktion des Hirndrucks durch das meist auftretende Hirnödem werden dieselben antiödematösen Maßnahmen ergriffen wie in der präoperativen Therapie (s.o.). Dazu werden hoch dosierte Glukokortikoide und gegebenenfalls Osmotherapeutika wie zum Beispiel Mannitol eingesetzt. Bekannt ist, dass Glioblastompatienten einem höheren Thromboembolierisiko unterliegen. Aus diesem Grund muss genau auf eine Antikoagulation geachtet werden, welche in den meisten Fällen mit niedermolekularem Heparin durchgeführt wird. Außerdem werden diese Patienten weiter mit Antikonvulsiva zur Epilepsieprophylaxe behandelt, außer wenn postoperativ kein Krampfanfall mehr aufgetreten ist. In diesem Fall wird versucht, die Antikonvulsiva langsam innerhalb von drei Monaten auszuschleichen.¹²

1.4 Unterschiede zwischen primären und sekundären Glioblastom

Im Jahr 1940 hat Hans-Joachim Scherer erstmalig eine Unterscheidung von Glioblastomen in primäre und sekundäre Subtypen vorgenommen.²⁵

Primäre Glioblastome entstehen de-novo, das heißt sie entstehen mit einer kurzen vorrausgehenden Anamnese und ohne vorherigen klinischen oder histologischen Anhalt für eine niedriggradige oder anaplastische Ursprungsläsion. Die primären Glioblastome sind weitaus häufiger als sekundäre Glioblastome (95 % der Glioblastome) und haben ihren Altersgipfel bei ca. 60 Jahren. Außerdem treten primäre Glioblastome häufiger bei männlichen Patienten auf; es findet sich ein medianes Gesamtüberleben von 4,7 Monaten.²⁶

Sekundäre Glioblastome (5 % der Glioblastome) hingegen entwickeln sich schrittweise aus weniger bösartigen Astrozytomen (diffuses oder anaplastisches Astrozytom (WHO Grad II/III)) oder aus Oligodendrogliomen (WHO Grad II/III). Diese Art von Glioblastomen tritt vermehrt bei jüngeren Patienten mit ei-

nem Durchschnittsalter von 45 Jahren und bei Frauen auf. Patienten mit einem sekundären Glioblastom haben ein besseres medianes Gesamtüberleben als primäre Glioblastompatienten, da deren Überlebensprognose bei 7,8 Monaten liegt.²⁶ Des Weiteren existieren einige molekularpathologische Unterschiede zwischen primären und sekundären Glioblastomen, die im Folgenden dargestellt werden (siehe Abbildung 5).⁴⁶

Bei *primären* Glioblastomen finden sich eine Überexpression beziehungsweise Amplifikation des EGF- Rezeptors (Epidermal Growth Factor) auf Chromosom 7 und ein Verlust der Heterozygotie (Loss Of Heterozygosity) auf dem langen Arm des Chromosoms 10 (Chromosom 10q).²⁶ Der Begriff LOH wird meist verwandt, um den Verlust beziehungsweise die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen zu bezeichnen. Außerdem kommen eine Deletion des PTEN-Gens (Phosphatase and Tensin homolog)²⁷ und des p16 Gens vor²⁸. Die Häufigkeiten der Mutationen unterscheiden sich bei primären und sekundären Glioblastomen. Meistens kommen bei primären Glioblastomen eine LOH 10q (70 % der Fälle), eine EGFR Amplifikation (36 %), eine p16 Deletion (31 %), eine p53 Mutation (28 %) oder PTEN Mutationen (25 %) vor.²⁶

Bei *sekundären* Glioblastomen finden sich eine Überexpression des PDGF Rezeptors (Platelet Derived Growth Factor)²⁹, der Verlust des langen Arms des Chromosoms 10 (LOH 10q), welcher bei dem Übergang von einem anaplastischen Astrozytom zu einem sekundären Glioblastom essentiell ist³⁰, weiterhin eine IDH1 Punktmutation (Isocitrat Dehydrogenase-1)⁵, die Methylierung eines Promotor, die Inaktivierung des p53-Tumorsuppressor- Gens (TP53), eine MDM2 Überexpression (murine double minute 2)²⁶, eine Deletion des p16 Gens²⁸ und eine Inaktivierung des Retinoblastom-Protein Gens³¹.

Bei sekundären Glioblastomen sind sogenannte IDH1 Mutationen (s.u.)⁵ mit 83 % am häufigsten, gefolgt von TP 53 Mutation (65 %), LOH 10q (63 %), p16 Mutationen (19 %)²⁶ und Retinoblastom-Protein Gens Mutationen (43 %)³¹. Obwohl die molekularen Unterschiede und die unterschiedlichen Häufigkeiten in der Ausprägung zwischen primären und sekundären Glioblastomen existieren,

ist bislang anhand der Molekularpathologie keine eindeutige Unterscheidung möglich. Eine sehr eingeschränkte Ausnahme könnte allenfalls hinsichtlich der IDH1 Mutation bei sekundären Glioblastomen gemacht werden.⁵

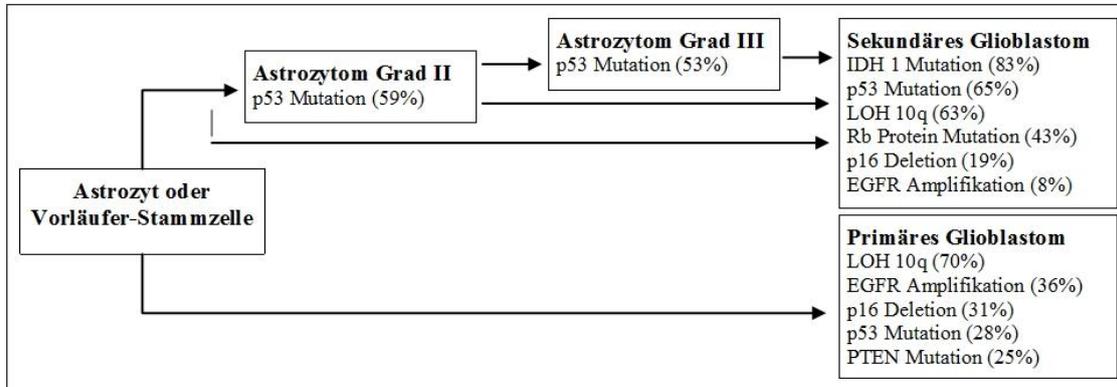


Abbildung 5: Häufigkeiten der molekularpathologischen Unterschiede zwischen primären und sekundären Glioblastomen.

In den letzten 30 Jahren wurden immer mehr molekularpathologisch veränderte Signalwege gefunden, deren genaue Kenntnis bei der Therapie und Diagnostik von Gliomen hilfreich sind. Ein sehr wegweisender Fund bei Gliomen stellt eine Mutation der Isocitrat Dehydrogenase-1 dar, die im Jahr 2008 von Parsons et al. beschrieben wurde. Zu Grunde liegt eine Punktmutation des IDH1 Gens auf Chromosom 2q33.⁵ Hier ist Guanin durch Adenin in Nukleotidposition 395 (G395A) ersetzt. Das IDH1 Gen kodiert für die Isocitrat Dehydrogenase-1. Durch diese Mutation (G395A) ist meistens bei dem Enzym Arginin (R) gegen Histidin (H) in Position 132 ausgetauscht. Außer diesem Austausch werden der Austausch von Arginin gegen Glycin (C394G, R132G), Cystein (C394T, R132C) oder Serin (C394A, R132S) beschrieben, welche aber sehr selten vorkommen (siehe Abbildung 6).^{32,33} Sofern nicht anderweitig beschrieben, wird in dieser Arbeit auf die IDH1_R132H Bezug genommen.

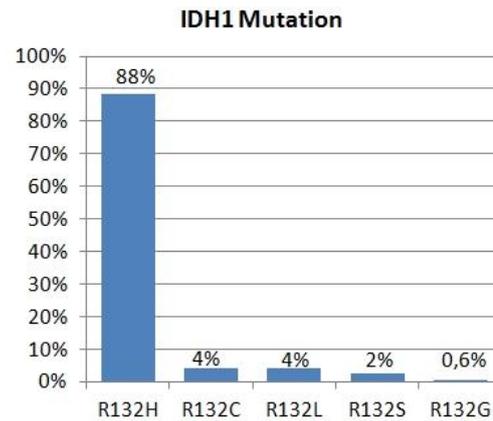


Abbildung 6: Häufigkeiten der IDH1 Mutationen.
Daten aus ³³

Im Vergleich zu primären Glioblastomen findet sich diese IDH1 Mutation fast ausschließlich bei sekundären Glioblastomen.^{33,40} Aus diesem Grund kann die Mutation des IDH1 Proteins immunhistochemisch als potentiell Unterscheidungsmerkmal zwischen primären und sekundären Glioblastomen dienen. Der Nachweis wird geführt, indem man mutiertes IDH1_R132H-Protein auf fixierten Gehirntumorschnitten mit einem speziellen Antikörper detektiert. Schon diffuse Astrozytome (WHO Grad II, 83 % mutiertes IDH1_R132H), anaplastische Astrozytome (WHO Grad III, 81 %) und anaplastische Oligodendrogliome (WHO Grad III, 88 %) weisen eine hohe Rate an mutiertem IDH1 Protein auf, was darauf schließen lässt, dass eine IDH1 Mutation sich sehr früh in der Gliomentstehung etabliert und sich fortführend in den weiteren Gliomentitäten präsentiert. Das legt die Vermutung nahe, dass eine IDH1 Mutation als diagnostischer Marker für sekundäre Glioblastome dienen könnte.³⁴ Die Sensitivität der IDH1_R132H Färbung beträgt bei der Unterscheidung zwischen primär und sekundär entstanden Gliomen 71 % bei einer Spezifität von 96 %.³⁵ Meningeome, Schwannome und Ependymome lassen sich gewöhnlich nicht mit dem Antikörper anfärben und somit besteht kein Nachweis eines mutierten IDH1 Proteins. Des Weiteren wurden IDH1 Mutationen bei akuten myeloischen Leukämien (AML), zentralen oder periostalen Knorpeltumoren, Kolorektal- und Prostatakarzinomen und den Enchondromatosen Maffucci und Ollier Syndrom gefunden.³⁶

Die IDH1 Mutation führt sowohl zu einem loss of function, als auch zu einem gain of function. Die IDH1_R132H-Mutation beeinträchtigt die üblicherweise erfolgende oxidative Carboxylierung von Isocitrat in α -Ketoglutarat unter NADP⁺ Verbrauch (NADPH entsteht) des Citrat- Zyklus im Cytosol, welcher als Stoffwechselweg bei aeroben Organismen für die Energiegewinnung genutzt wird. Das entstehende NADPH ist unter anderem wichtig für die Zelle für den Schutz vor oxidativem Stress. Stattdessen erfolgt eine direkte Reduktion von α -Ketoglutarat in 2-Hydroxyglutarat, was dadurch vermehrt anfällt. Das 2-Hydroxyglutarat wiederum inhibiert die Prolylhydroxylase, was dann unter anderem den HIF 1 α (Hypoxie induzierten Faktor 1 α) aktiviert. Normalerweise würde die Prolylhydroxylase aktiviert und damit dann HIF 1 α stabilisiert.³⁷ HIF 1 α aktiviert seinerseits unter anderem den Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) für die Angiogenese (siehe Abbildung 7).³² Das vermehrt gebildete 2-Hydroxyglutarat sorgt für eine kompetitive Inhibierung von α -Ketoglutarat abhängigen Dioxygenasen, wodurch es zu einer verminderten Demethylierung von hypermethylierten Bereichen auf der DNA und Histonen kommt. Methylierte Bereiche der DNA und methylierte Histone, welche als ‚Verpackungsproteine‘ die DNA in ihrer kondensierten Form zusammenhalten, sorgen für eine schlechtere Transkription bei der DNA Replikation, was zu einer Deregulation der Genexpression führen würde.³⁸

Eine weitere Hypothese für die Beteiligung der IDH1 Mutation in der Gliomentstehung ist das erhöhte Auftreten von oxidativen DNA- Schäden. Vor allem das menschliche Gehirn ist sehr anfällig gegenüber oxidativem Stress, der verursacht wird durch radikale Sauerstoffpartikel aufgrund des hohen Sauerstoffverbrauchs des Gehirns. Ein Mechanismus, der das Gehirn vor diesen radikalen Sauerstoffteilchen schützt, ist die Oxidation von Gluthation als Hauptantioxidans des Hirns. Gluthation benötigt dann für die eigene Regeneration, nachdem radikale Sauerstoffpartikel abgefangen wurden, NADPH, um das entstandene Glutathiondisulfit wieder zu Gluthation zu reduzieren. Da das mutierte IDH1 Protein unter NADPH- Verbrauch α -Ketoglutarat direkt zu 2-Hydroxyglutarat reduziert, fehlt dieses NADPH dem Antioxidans Gluthation, um sich selbst wieder zu regenerieren. So kann oxidativer Stress das Gehirn schädigen.³⁹

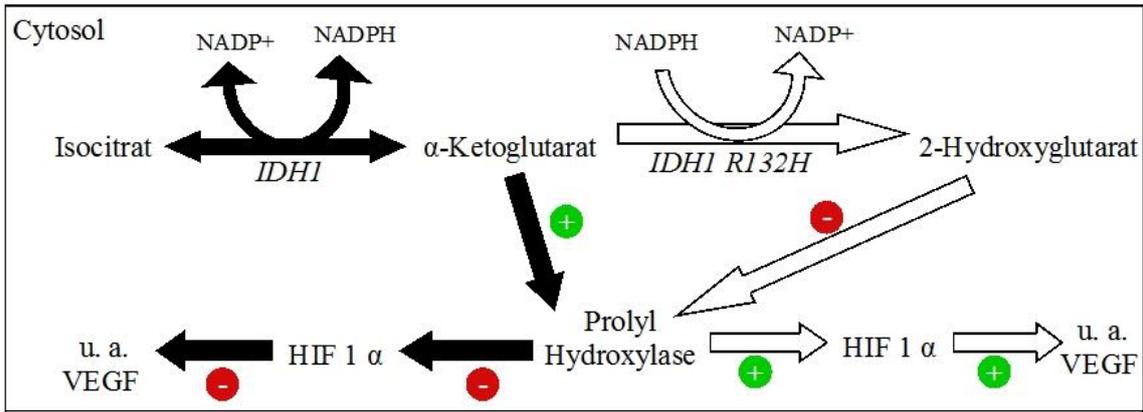


Abbildung 7: IDH1 (R132H) Mutation.

Bei fehlerfreier *IDH1* Genfunktion (schwarze Pfeile) erfolgt eine oxidative Carboxylierung von Isocitrat in α -Ketoglutarat unter NADP^+ Verbrauch. α -Ketoglutarat aktiviert die Prolyl Hydroxylase, welche dadurch HIF 1 α stabilisiert und unter anderem die Tumorangio-genese hemmt. Eine *IDH1_R132H*-Mutation (weiße Pfeile) beeinträchtigt diese Carboxylierung und stattdessen erfolgt eine direkte Reduktion von α -Ketoglutarat in 2-Hydroxyglutarat. 2-Hydroxyglutarat wiederum inhibiert die Prolyl Hydroxylase, was dann unter anderem den HIF 1 α aktiviert. HIF 1 α aktiviert seinerseits unter anderem den VEGF für die Angiogenese.

Zusätzlich sind auch IDH2 Mutationen bei Gliomen gefunden wurden. Diese Mutation liegt auf Chromosom 15q26, ist aber viel seltener zu finden als eine IDH1 Mutation. Bei IDH2 Mutation kommt es meistens zu einem Austausch der Aminosäure Arginin an Position 172. In Stoffwechselwegen in Mitochondrien ist die IDH2 eingebunden und wirkt dort am Citrat-Zyklus mit, analog zur IDH1.^{33, 37}

Seit Ende 2009 gibt es die Möglichkeit, die Expression von mutiertem IDH1 (R132H) Protein sichtbar zu machen und so unter dem Mikroskop zu betrachten.³⁵ Dieses mutierte Protein in dem Tumorgewebe wird durch einen primären Antikörper (in diesem Fall anti-IDH1-Antikörper) markiert und von einem biotinylierten Sekundärantikörper (in diesem Fall Polylink Sekundärantikörper) erkannt. Eine Meerrettich-Peroxidase (HRP), welche an Streptavidin gekoppelt ist, wird anschließend dazugegeben und das Streptavidin bindet seinerseits an das Biotin.⁴² Zum Schluss wird eine chromatogene DAB- Lösung dazugegeben, welche durch die Peroxidase, die nun über zwei Antikörper an ein mutiertes IDH1 (R132H) Protein gebunden ist, umgesetzt wird und sich als eine braune Färbung um die Mutation herumzeigt. Diese Färbung kommt dadurch zustande, dass das DAB, welches als Elektronendonator fungiert, zusammen mit Wasserstoffperoxid, das zu Beginn der Gewebebehandlung dazu gegeben wurde, mit

der Peroxidase reagieren und so die braune Farbreaktion (plus Wasser) verursachen (siehe Abbildung 8).⁴³

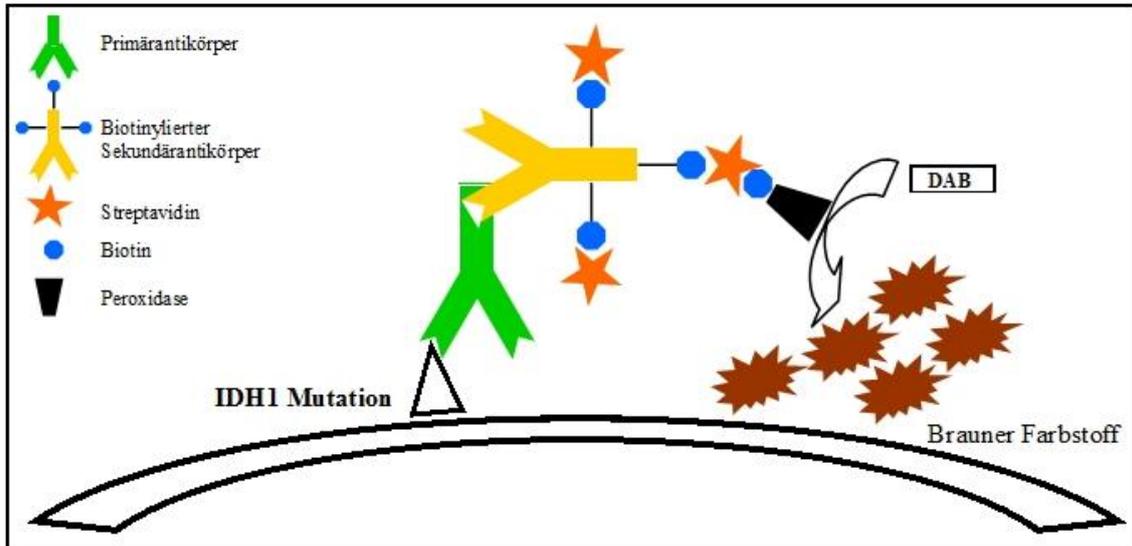


Abbildung 8: Immunhistochemische IDH1 Färbung nach (Strept-)Avidin-Biotin-Complex- (ABC) Methode mit DAB.

Ein unkonjugierter Primärantikörper bindet an eine IDH1 Mutation (Epitop). Dieser Primärantikörper wird anschließend von einem biotinyliertem Sekundärantikörper gebunden. An das Biotin des zweiten Antikörpers bindet Streptavidin, welches seinerseits wieder über Biotin mit der Meerrettichperoxidase (HRP) verbunden ist. Diese Peroxidase ruft bei Zugabe von DAB eine braune Farbreaktion um die Mutation hervor (positiver IDH1 Status).

Eine Gegenfärbung mit Hämalaun schließt den Prozess der IDH1-Färbung ab, um die Kerne der IDH1-negativen Zellen in Blau zu färben, damit diese besser von den IDH1 mutierten Zellen (braun) abgegrenzt werden können (siehe Abbildung 9).

Gewöhnlich wird die gesamte immunhistochemische Färbung mit einer Maschine durchgeführt und anschließend unter dem Mikroskop betrachtet. Das hat den Vorteil einer erhöhten Reproduzierbarkeit und erspart viel Zeit in der Anfertigung der immunhistochemischen Färbungen.

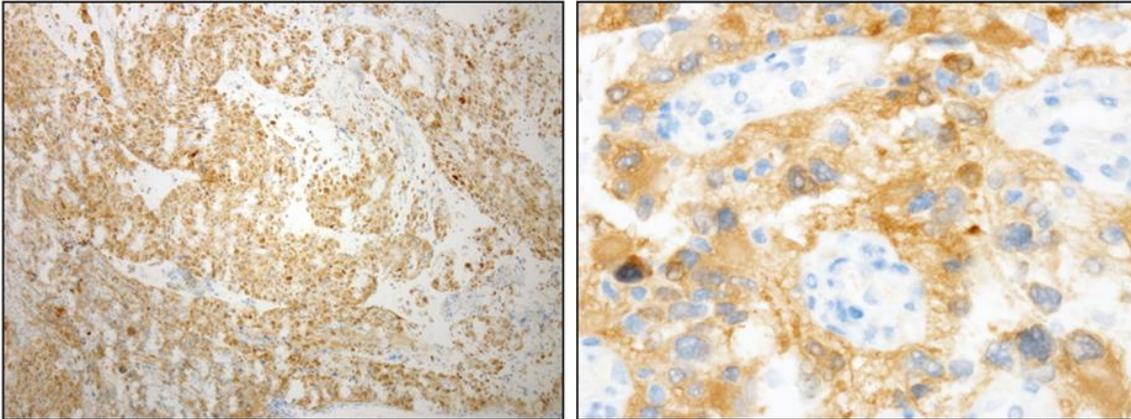


Abbildung 9: GBM (Immunhistochemie für mutiertes IDH1 (R132H), 4 x und 40 x Vergrößerung).

Tumorzellen, die mutiertes IDH1 (R132H) Protein exprimieren, stellen sich braun gefärbt dar. Nicht mutierte Zellen, wie z.B. Endothelzellen der Gefäßproliferate, stellen sich negativ in dieser Reaktion dar.

Eine Methylierung eines Promotors, einem Genbereich zur Steuerung der Genfunktion, bei der Proteinbiosynthese oder der DNA- Synthese hat zur Folge, dass die nach dem Promotor folgende Gensequenz nicht abgelesen werden kann. Es wird somit inaktiviert und ist funktionslos. Von diesen Methylierungen sind meist die Gene von p14, p16, Rb, MGMT und dem Metalloprotease-Inhibitor 3 (TIMP-3 Gen) betroffen. Die Promotermethylierung als eine Art von Mutation beziehungsweise Modifikation kann häufiger bei sekundären Glioblastomen als bei primären beobachtet werden.²⁶

1.5 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Zu sekundären Glioblastomen gibt es immer noch wenige Informationen, vor allem keine etablierte Standardtherapie. Die Prognose ist bei dieser Art von Hirntumor schlecht.

Ziel dieser retrospektiven Arbeit ist es, das Outcome von Patienten mit einem sekundären Glioblastom zu beschreiben und prognostische Faktoren in Bezug auf das Gesamtüberleben zu identifizieren, um auf den jeweiligen Einzelfall bezogen, die bestmögliche Therapie anzubieten und den Patienten eine valide Prognose zum Krankheitsverlauf liefern zu können.

Dazu sollte, wenn möglich, eine Risikostratifizierung aus den patientenspezifischen Daten erarbeitet werden. Die Grundlage der Untersuchung bildeten die in der internen Datenbank des Universitätsklinikums Frankfurt am Main gespeicherten Daten von Patienten mit der Diagnose eines histologisch gesicherten WHO Grad II oder Grad III Tumors und daraus entstandenen sekundären Glioblastoms, sowie die Auswertungen der entsprechenden Patientenakten.

2 Patienten und Methoden

2.1 Patienten

Die Diagnose „sekundäres Glioblastom“ beruht auf der histologischen Feststellung eines Glioblastoms (WHO Grad IV) und einer aus der Vorgeschichte des Patienten bekannten, histologisch gesicherten niedriggradigen diffusen (WHO Grad II) oder anaplastischen (WHO Grad III) Astrozytom-, Oligodendrogliom- oder Oligoastrozytomläsion.

Das Patientenkollektiv umfasste Patienten, bei denen in einem Zeitraum von 1999 bis 2012 an der Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikum der Johann Wolfgang Goethe- Universität, Frankfurt am Main ein sekundäres Glioblastom neu diagnostiziert worden war. Der Zeitraum bezog sich auf das Datum der Diagnosestellung des Glioblastoms durch die histologische Untersuchung des Resektats oder des Gewebes, das durch eine Biopsie gewonnen wurde. Alle Daten, die in dieser Arbeit erhoben wurden, stammten aus den Krankenakten der Patienten und aus entsprechenden Arztbriefen, dokumentiert in der internen Datenbank des Universitätsklinikums.

Die klinische Diagnose basierte auf MRT Bildern und der histologischen Untersuchung. Als Gesamtüberlebenszeit galt die Zeit zwischen dem Datum der Diagnosestellung des sekundären Glioblastoms und dem Todesdatum beziehungsweise dem Datum des letzten nachgewiesenen Überlebens. Das Todesdatum wurde durch eine Anfrage bei den Einwohnermeldeämtern der Orte, in denen die Patienten zuletzt wohnhaft waren, ermittelt (Stand 29.01.2015). Waren die Patienten zu dem Zeitpunkt der Anfrage noch am Leben, so wurde dieses Datum als letztes nachgewiesenes Überleben gewertet.

Alle histologischen Befunde von Glioblastomen waren durch das Neurologische Institut (Edinger Institut) des Klinikums der Johann-Wolfgang Goethe Universität Frankfurt am Main (Leitung: Prof. Dr. K.-H. Plate) erstellt und entsprechend der aktuellen WHO Klassifikation von Tumoren des Zentralen Nervensystems beur-

teilt worden. Die Hirnschnitte wurden im H.E. Präparat betrachtet. Gewonnen wurden die Proben nach Resektion bzw. nach Biopsie, je nach klinischer Indikation. Um eine Aussage über den IDH1 Status des Tumorgewebes zu treffen, wurde eine IDH1 Färbung des Gewebes (siehe unten) durch das Neurologische Institut durchgeführt.

Die Lokalisationen, die nicht einer reinen frontalen, temporalen, parietalen oder okzipitalen Lage entsprachen, sind in der Auswertung als „Andere“ klassifiziert. Bei manchen Patienten bestanden Tumormanifestationen zeitgleich in verschiedenen Arealen, was als Multifokalität bezeichnet wird.

Das Resektionsausmaß wurde durch Fachärzte des Instituts für Neuroradiologie, mittels Vergleich der prä- und früh postoperativen MR-Bilder, beurteilt. Eine Totalresektion bedeutete, dass kernspintomographisch kein Nachweis von Tumorgewebe im früh-postoperativen, d.h. innerhalb von 72 h post operationem angefertigten MR-Bild bestand; von einer teilweisen Resektion wurde bei einem nachweisbaren Tumorest gesprochen. Eine Re-Bestrahlung war definiert als eine Bestrahlung von sowohl der Ursprungsläsion als auch des Glioblastoms. Die Ethikkommission der Johann Wolfgang Goethe- Universität hat die Durchführung dieser Arbeit genehmigt (Projekt Nr.: SNO_06-13).

2.2 IDH1_R132H Immunhistochemie

Die Resektate wurden zunächst für die Fixierung in Blöcke der Größe 2 cm² auf 4 mm Dicke zugeschnitten. Durch eine 10 prozentige neutralgepufferte Formaldehydlösung erfolgte die Fixierung. Die optimale Fixierungszeit betrug 6-12 Stunden. Nach dieser Zeit wurde die Gewebefixierung durch Paraffin ersetzt, indem eine Serie von Inkubationen erst in einer aufsteigenden Alkoholreihe (2x 70 %, 2x 96 % und 1x 100 %) für jeweils 5 Minuten pro Alkoholkonzentration, anschließend in Xylol und abschließend in Wachs durchgeführt wurde. Nachfolgend wurden die fixierten Gewebeblöcke in Wasser gebadet und sehr feine Wachsschnitte angefertigt. Die Schnitte wurden auf positiv geladene Objektträger aufgetragen und bei 40 °C für 10 Minuten erhitzt. Durchgeführt wurden die

Arbeitsschritte von einer/einem Laborangestellten des Neurologischen Instituts (Edinger- Institut) Frankfurt am Main.

Bevor die immunhistochemische Färbung beginnen konnte, musste das Wachs wieder komplett entfernt (entparaffiniert) werden. Die Entparaffinierung beinhaltete zweimalige Xylobäder für jeweils 10 Minuten und einem abschließenden absteigenden Alkoholbad mit den Alkoholkonzentrationen 100 %, 2x 96 % und 2x 70 % für jeweils 5 Minuten zur Re-Hydrierung des Gewebes. Mit destilliertem Wasser wurde der Objektträger einmalig abgespült. Danach konnte die Vorbehandlung der Objektträger durch heat-induced epitope retrieval (HIER) beginnen. Zuvor sind die zwei benötigten Pufferlösungen angesetzt worden, nämlich eine Citratpufferlösung und eine phosphatgepufferte Salzlösung (PBS). Für den Citratpuffer wurden 1,05 g Citronensäure (AppliChem, Darmstadt, Deutschland) mit 500 ml destilliertem Wasser gemischt und auf den pH- Wert 6 mit 2 molarer Natronlauge (NaOH) titriert. Die PBS bestand aus 100 ml Stock gemischt mit 900 ml destilliertem Wasser und hatte einen pH Wert von 7,4. Mit Hilfe eines für 20 Minuten vorgeheizten Dampfgeräts sind die Objektträger in der Citratpufferlösung (als Retrieval-Lösung) für 45 Minuten gekocht worden. Nach Ablauf der Zeit ließ man die Objektträger noch 15 Minuten abkühlen und spülte sie mit destilliertem Wasser ab. Nun erfolgte die Behandlung mit dem Peroxidblock für 15 Minuten bei Raumtemperatur. Diese Blocklösung bestand aus 190 ml Micropore-Wasser und 10 ml H_2O_2 (Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland); sie wurde unter dem Abzug angesetzt. Nach dieser Inkubation wurden die Objektträger dreimalig mit destilliertem Wasser gespült und nochmals 5 Minuten bei Raumtemperatur in einer PBS gebadet.

Anschließend wurde mit der eigentlichen immunhistochemischen Färbung per Hand fortgefahren. Für die Färbung per Hand wurde zunächst eine Feuchtkammer mit in destilliertem Wasser getränktem Zellstoff vorbereitet und der primäre Antikörper anti-IDH1_R132H/clone H09 (Dianova) auf 1:50 verdünnt. Das geschah durch Zugabe von Antikörper Verdünnungspuffer (DCS Innovative Diagnostik Systeme) zu dem primären Antikörper. Auf jeden Objektträger wurden nun 100 μ l Primärantikörper pipettiert und für 60 Minuten bei Raumtempe-

ratur in der Feuchtkammer inkubiert. Nach den 60 Minuten wurde der Objektträger dreimalig mit einer PBS mit jeweilig zweiminütiger Inkubation abgewaschen und der sekundäre Antikörper appliziert. Dazu wurde ein Tropfen Polylink Sekundärantikörper (DCS Innovative Diagnostik Systeme), welcher für 20 Minuten bei Raumtemperatur in der Feuchtkammer auf dem Objektträger verblieb, auf diesen gegeben. Nun wurden nochmals die Objektträger dreimalig mit einer PBS und zweiminütiger Inkubation pro Schnitt abgewaschen und mit einem Tropfen Peroxidase Label (HRP) (DCS Innovative Diagnostik Systeme) für 20 Minuten bei Raumtemperatur in der Feuchtkammer inkubiert. Nachfolgend wurden die Objektträger noch dreimal mit PBS für 2 Minuten bei Raumtemperatur gespült und die DAB-Chromogen-Lösung (ein Tropfen DAB-Chromogen Konzentrat pro Milliliter DAB-Substrat Puffer von DCS Innovative Diagnostik Systeme) darauf gegeben. Die DAB Lösung verblieb für 5 Minuten bei Raumtemperatur auf den Objektträgern in der Feuchtkammer und wurde dann mit destilliertem Wasser gewaschen. Die DAB Lösung wurde zuvor aber noch über einem Becher mit Natriumhypochlorid abgekippt und gesondert entsorgt. Als nächstes wurde, um die Kerne sichtbar zu machen, mit Hämalaun nach Meyer (Merck, Darmstadt, Deutschland) für 3 Minuten bei Raumtemperatur gegengefärbt und mit Leitungswasser abgewaschen. Abschließend wurden die Objektträger in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70 %, 90 %, 100 %) und einem Xylolbad geschwenkt und eingedeckt mit Enthylan. Jetzt sah man sich die Objektträger unter dem Mikroskop bei 40 facher Vergrößerung an und detektierte eine IDH1 Mutation durch eine braune Färbung der Zellen, was als ein positives Ergebnis festgehalten wurde (siehe Abbildung 10).

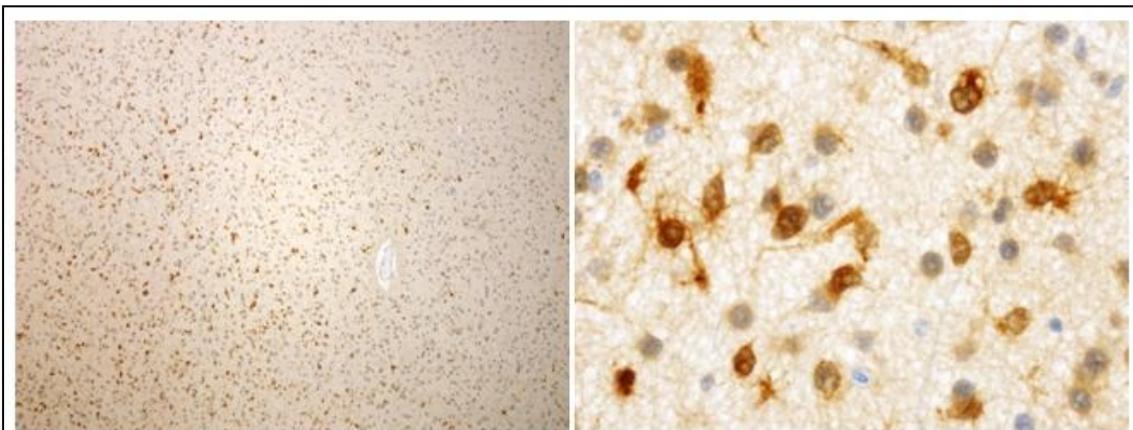


Abbildung 10: GBM (Immunhistochemie mutiertes IDH1 (R132H) Protein, 4 x und 40 x Vergrößerung).

Tumorzellen, die mutiertes IDH1 (R132H) Protein exprimieren, stellen sich braun gefärbt dar.

Alternativ zu dem oben beschriebenen manuellen Verfahren kann die gesamte immunhistochemische Färbung mit der Maschine Ventana Discovery XT (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) durchgeführt und dann nur noch unter dem Mikroskop betrachtet werden. Die Maschine übernimmt die Entparaffinierung und das HIER mit den dazugehörigen Inkubationsszeiten. Der primäre Antikörper anti-IDH1_R132H/clone H09 (Dianova, Hamburg, Deutschland) wird manuell auf den Objektträger gegeben und die Maschine führt die Zugabe des sekundären Antikörpers Polylink Sekundärantikörper (DCS Innovative Diagnostik Systeme, Hamburg, Deutschland) und das Peroxidase Label (DCS Innovative Diagnostik Systeme) automatisch durch. Zum Schluss wird die Gegenfärbung mit Hämalan durch die Maschine eingeleitet. Die ist das Verfahren, welches in der klinischen Routine Anwendung findet, und mit der die überwiegende Mehrheit der dieser Arbeit zugrunde liegenden Tumorproben bearbeitet wurden.

2.3 Statistik

Um die verschiedenen Eigenschaften der Patienten miteinander vergleichen zu können, wurden Mittelwerte, Mediane und Spannweiten (Ranges) berechnet. Quantitative Daten sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung dargestellt. 95 % Konfidenzintervalle (KIs) wurden nach der logarithmischen Transformation berechnet. Der Kaplan-Meier Schätzer diente zur Berechnung und graphischen Aufzeichnung von Überlebensraten. Bei den Variablen Alter und KPS wurden jeweils der Median bestimmt und somit die Untersuchungsgruppen aufgeteilt. Um einen univariaten Vergleich zwischen den Überlebensraten verschiedener Gruppen herzustellen wurde der log-rank-Test durchgeführt. Des Weiteren wurden der Fisher's exact-Test und der Mann-Whitney-U-Test verwendet, um Unterschiede zwischen Gruppen auf statistische Signifikanz zu untersuchen. Irrtumswahrscheinlichkeiten von $p < 0,05$ sind als signifikant angesehen wor-

den. Als statistischer Trend wurden Irrtumswahrscheinlichkeiten von $0,05 < p < 0,15$ bezeichnet.

Um prognostische Faktoren zu identifizieren, die sich auf die Überlebensrate der Patienten auswirkten, ist die multivariate Cox-Regression angewandt worden. Auch hier galt ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$. Variablen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,1$ in der univariaten Analyse sind in das Modell einbezogen worden. Diese Cox-Regressionsanalyse wurde mit dem Abbau bei $p < 0,1$ durchgeführt. Diese multivariate Analyse verglich die p-Werte der verschiedenen Einflussfaktoren und eliminierte den Einflussfaktor mit dem höchsten p-Wert.

Es wurden die Statistikprogramme „Bias für Windows“, Version 10.06 (epsilon Verlag, Darmstadt) und „R“, Version 3.1.1 (R Foundation for Statistical Computing, Wien) verwendet.

2.4 Versuch der Risikostratifizierung

Um drei Risikogruppen anhand von Einflussfaktoren zu ermitteln, sind die vier Einflussfaktoren mit den niedrigsten p-Werten in der univariaten Signifikanzanalyse im log-rank-Test ohne Berücksichtigung des therapeutischen Einflusses herausgesucht und in verschiedenen Konstellationen in Form eines Baumdiagramms über eine backwards-stepwise Regression zusammengestellt worden. Im Verlauf sind Risikogruppe 1 und Risikogruppe 2 zur „guten Prognose“ Gruppe zusammengefasst und mit dem Gesamtüberleben der Risikogruppe 3 („schlechten Prognose“ Gruppe) verglichen worden. Die Verknüpfung der Einflussfaktoren erfolgte mit dem Ziel, diese so zueinander in Beziehung zu setzen, dass die höchste Überlebensrate in den einzelnen Konstellationen ermittelt werden konnte. Welche Faktoren in welcher Konstellation zueinander in Beziehung gesetzt wurden, ergab sich durch gedankliches Experimentieren. Das Statistikprogramm „R“ wurde für die Ermittlung von Risikogruppen einbezogen, um eine rekursive Partitionsanalyse durchzuführen.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten

Es wurden insgesamt 45 erwachsene Patienten mit einem histologisch gesicherten, neu aufgetretenen sekundärem Glioblastom identifiziert, davon 29 Personen männlich und 16 weiblich, bei einem medianen Alter von 41 Jahren.

In die Datenauswertung wurden alle 45 Patienten einbezogen; kein Patient wurde im Beobachtungszeitraum (Median 445 Tage; Intervall 60-2568) verloren. Von den 45 Patienten waren bis zum 29.01.2015 noch 4 Patienten am Leben; die übrigen 41 Patienten waren verstorben.

Bei 37 Patienten wurde als Primärtumor ein Astrozytom und bei 8 Patienten ein Oligoastrozytom/ -dendrogliom diagnostiziert bzw. 17 Patienten hatten ein low grade Gliom und 28 Patienten einen WHO Grad III Tumor als Ursprungsläsion. Das mediane Zeitintervall zwischen der Diagnose der Ursprungsläsion und dem sekundärem Glioblastom betrug 159 Wochen und das mediane Gesamtüberleben 445 Tage. Eine IDH1 Mutation konnte bei 59 % der Patienten im sekundären Glioblastom nachgewiesen werden; bei 4 Patienten war kein Tumorgewebe mehr für die Bestimmung des IDH1 Status vorhanden. Das sekundäre Glioblastom von 14 Patienten wurde nach radiologischen Kriterien komplett reseziert während 31 Patienten nur subtotal reseziert oder biopsiert (5 Fälle, 11,1 %) wurden.

3.1.1 Nachweis der IDH1

Bei 24 Patienten (58,5 %) wurde in der IDH1 Färbung eine Mutation des IDH1 (R132H) Proteins im sekundären Glioblastom festgestellt. Bei 17 Patienten konnte kein mutiertes IDH1 (R132H) Protein nachgewiesen werden. Nur bei 4 Patienten konnte ein IDH1 Status nicht erhoben werden, da keine Gewebeproben, weder des Glioblastoms noch der initialen Läsion, mehr vorlagen.

3.1.1.1 IDH1 Mutation und Alter

Bei 2 von 3 unter oder gleich 29-jährigen Patienten konnte eine IDH1 Mutation gefunden werden. Von 18 der 30 bis 39-jährigen Patienten zeigten 12 Patienten eine IDH1 Mutation. In der Gruppe der 40 bis 49-jährigen Patienten fand man bei 6 von 10 Patienten eine IDH1 Mutation. 4 von 11 Patienten in der Gruppe der 50 bis 59-jährigen wiesen eine IDH1 Mutation. Keine IDH1 Mutation konnte bei 3 der über 60-jährigen Patienten nachgewiesen werden. Aus der Grafik in Abbildung 11 wird deutlich, dass jüngere Patienten (< 40 Jahre) häufiger eine IDH1 Mutation besaßen.

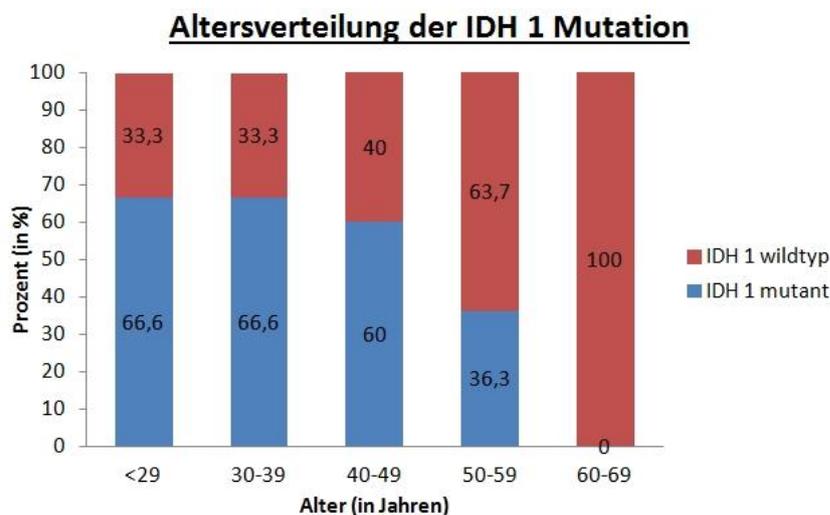


Abbildung 11: Altersverteilung des mutierten IDH1 (R132H) Proteins.

Bei 66,6 % der unter oder gleich 29-jährigen konnte eine IDH1 (R132) Mutation festgestellt werden.

3.1.1.2 IDH1 Mutation und Geschlecht

In der *Geschlechterverteilung* konnte kein signifikanter Unterschied in der Prävalenz einer IDH1 Mutation gefunden werden ($p = 0,6$, Fisher's exact test). Bei den Frauen wurden bei 73 % (11 von 15 Frauen) eine IDH1 (R132H) Mutation festgestellt. Das waren circa 23 % mehr als in der Gruppe der Männer (50 %), vergleiche Abbildung 12.

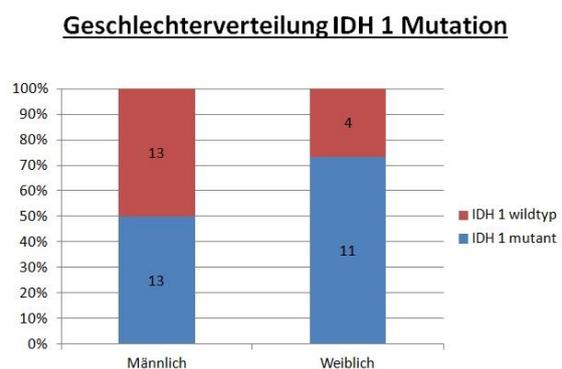


Abbildung 12: Geschlechterverteilung IDH1 (R132H) Mutation.

3.1.1.3 IDH1 Mutation und KPS

15 Patienten (48 %) mit einem KPS von größer/ gleich 70 hatten nachweislich eine Mutation im IDH1 (R132H) Protein während im Vergleich dazu bei 16 Patienten (52 %) keine IDH1 (R132H) Mutation nachweisbar war. Bei einem KPS von kleiner 70 waren bei 80 % der Patienten (8 von 10) eine IDH1 (R132H) Mutation nachweisbar. Der Unterschied war nicht statistisch signifikant ($p = 0,4$, Fisher's exact test). In Abbildung 13 sind die Ergebnisse graphisch zusammengefasst.

Präoperativer KPS Verteilung IDH 1 Mutation

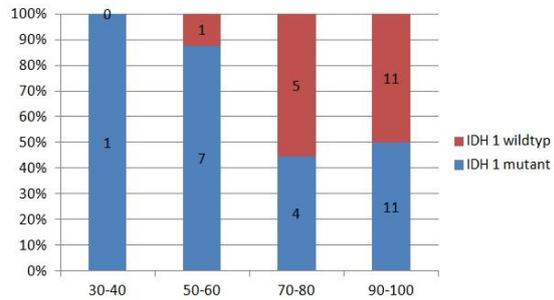


Abbildung 13: Präoperativer KPS Verteilung IDH1 Mutation

3.1.1.4 IDH1 Mutation und Lokalisation des Glioblastoms

Bei Frontallappen-Glioblastomen fand sich der Nachweis einer IDH1 Mutation bei 8 Patienten (53 %). Auffällig war, dass bei Temporallappenlokalisation 80 % der Patienten eine IDH1 (R132H) Mutation hatten, im Gegensatz zu Patienten mit Frontallappenbeteiligung (siehe Abbildung 14).

Lokalisationsverteilung IDH 1 Mutation

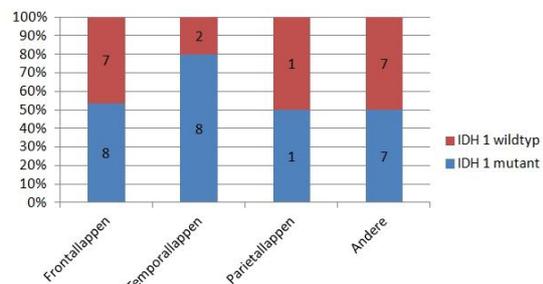


Abbildung 14: Lokalisationsverteilung IDH1 (R132H) Mutation.

3.1.1.5 IDH1 Mutation und Zeitraum zwischen Ursprungsläsion und Glioblastom

Mit zunehmendem Zeitraum zwischen der ursprünglichen Tumorerkrankung und dem Auftreten des Glioblastoms nimmt die Häufigkeit der IDH1 Mutationen bis zur 260. Woche zu (siehe Abbildung 15). Prozentual stieg die Zahl der IDH1 Mutation von rund 7 % in der Gruppe des ersten Jahres, auf über 50 % im zweiten und 67 % im dritten Jahr. Sie erreichte 100 % im vierten und fünften Jahr, was

den Höhepunkt der mutierten IDH1 (R132H) Proteine bildete. Die Prävalenz der IDH1 Mutation reduzierte sich nach dem fünften Jahr wieder, wobei man beachten muss, dass der längste, dokumentierte Zeitraum 1393 Wochen (ca. 27 Jahre) betrug.

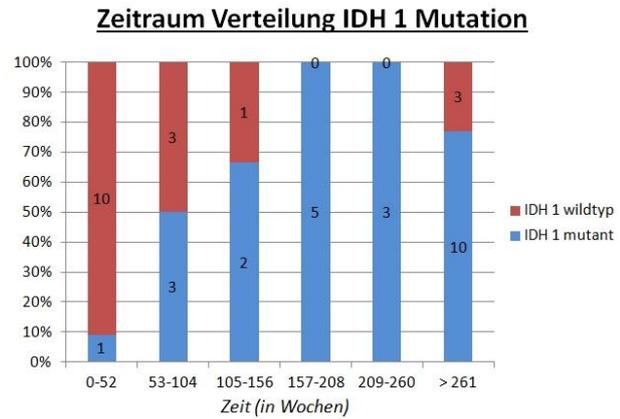


Abbildung 15: Zeitraum Verteilung IDH1 Mutation.

3.1.2 Ursprungsläsion

Bei 16 Patienten konnte ein WHO Grad II Astrozytom, bei 21 Patienten ein WHO Grad III Astrozytom, bei einem Patienten ein WHO Grad III Oligodendrogliom, bei 6 Patienten ein WHO Grad III Oligoastrozytom (Mischgliom) und bei einem weiteren Patienten ein WHO Grad II Gangliogliom als Ursprungsläsion festgestellt werden (siehe Abbildung 16).

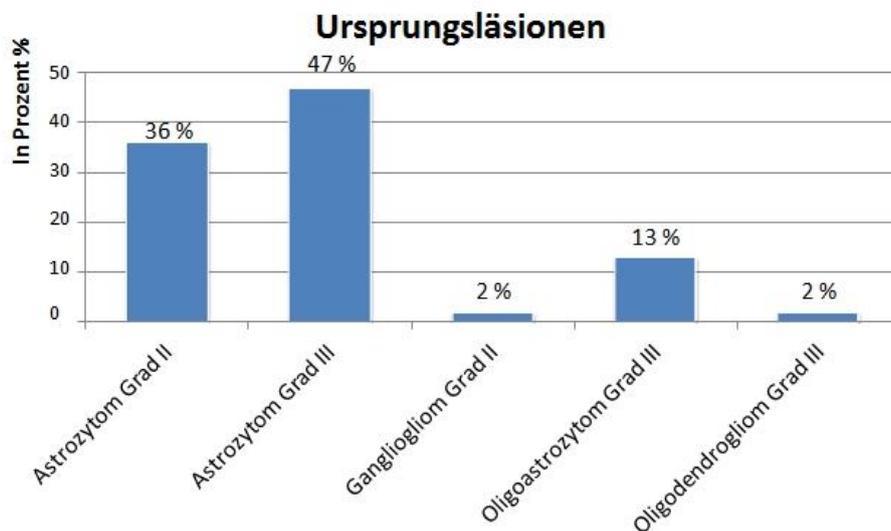


Abbildung 16: Ursprungsläsionen.

Diese niedriggradigen und anaplastischen Läsionen wurden in unterschiedlichen Kombinationen behandelt; es finden sich Möglichkeiten aus einer Resektion, Chemotherapie und Bestrahlung. Der mediane Zeitraum zwischen der Ursprungsläsion und der sekundären Glioblastomdiagnose betrug ca. 1112 Tage.

3.1.3 Alter

Die Patienten hatten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ein Alter von 25 bis 64 Jahren. Das durchschnittliche Alter der Patienten bei Diagnosestellung betrug $43,0 \pm 10,8$ Jahre. Das mediane Alter betrug 41 Jahre (Range: 25-64). Es bestand ein Altersgipfel in der dritten Lebensdekade (siehe Abbildungen 17 und 18).

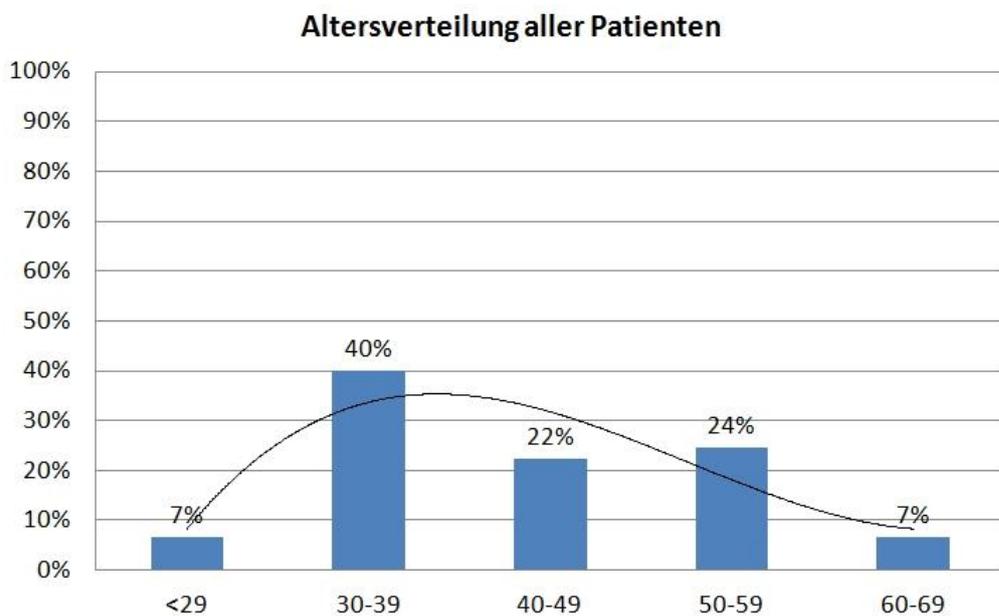


Abbildung 17: Altersverteilung aller Patienten.

Altersverteilung bei sekundärem Glioblastom

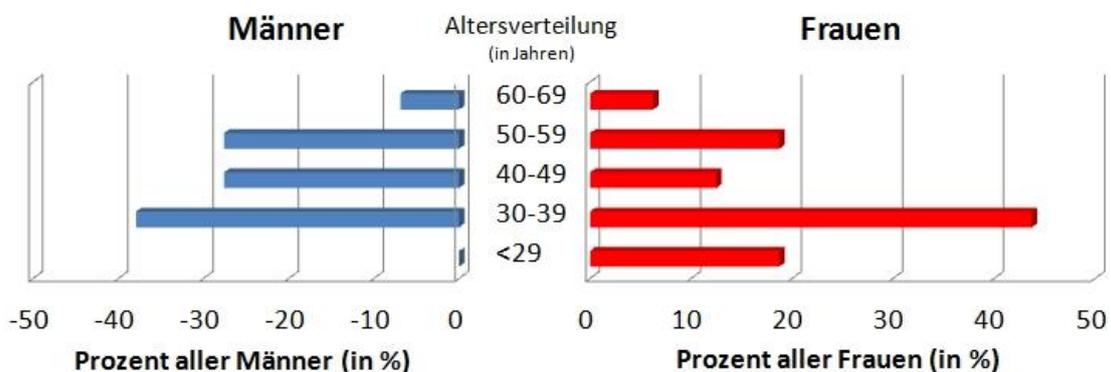
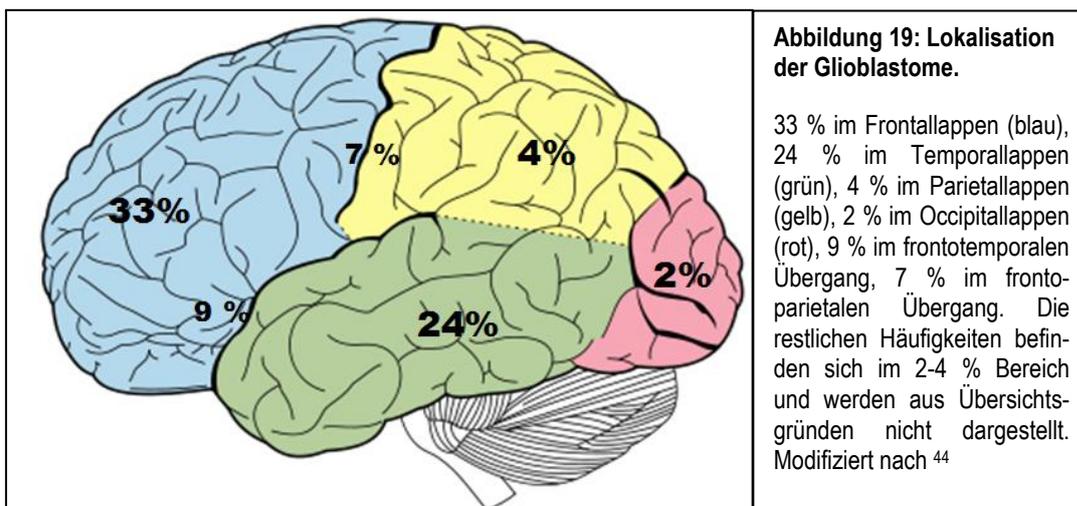


Abbildung 18: Altersverteilung bei sekundärem Glioblastom.

3.1.4 Lokalisation

Bei der Lokalisation der Glioblastome konnte ein leichtes Überwiegen der Tumorlokalisierung auf der linken Seite (25 Fälle, 56 %) gegenüber der rechten Hemisphäre (20 Fälle, 44 %) festgestellt werden.

Die anatomische Lokalisation setzte sich wie folgt zusammen: 33 % im Frontallappen, 24 % im Temporallappen, 4 % im Parietallappen, 2 % im Occipitallappen, 9 % im frontotemporalen Übergang, 7 % im frontoparietalen Übergang, 4 % im trigonalen Bereich, 4 % im temporoparietalen Übergang, 2 % im zentralen Bereich, 2 % im frontotemporoparietal Übergang, 2 % im frontozentralen Bereich, 2 % im temporooccipitalen Übergang und 2 % im parietooccipitalen Übergang (siehe Abbildung 19). Eine Multifokalität, d.h. mehrere Tumorlokalisationen im Hirn zur selben Zeit, konnte bei 8 Patienten nachgewiesen werden.



3.1.5 Karnofsky Index (KPS)

Der Karnofsky Index (KPS), der bezogen auf den Aufnahmebefund der klinischen Untersuchung vor der sekundären Glioblastom Operation erhoben wurde, reichte bei den Patienten von 30 bis 100, wobei sich die Häufigkeiten wie folgt verteilten (siehe Abbildung 20): KPS 100 bei 12 Patienten (26 %), KPS 90 bei 10 (22 %), KPS 80 bei 5 (11 %), KPS 70 bei 5 (11 %), KPS 60 bei 5 (11 %), KPS 50 bei 4 (9 %), KPS 40 bei einem (2 %) und KPS 30 bei einem weiteren

Patienten (2 %). Bei 2 Patienten lagen keine Informationen zu dem Aufnahmebefund beziehungsweise dem KPS vor. Der mediane KPS lag bei 90.

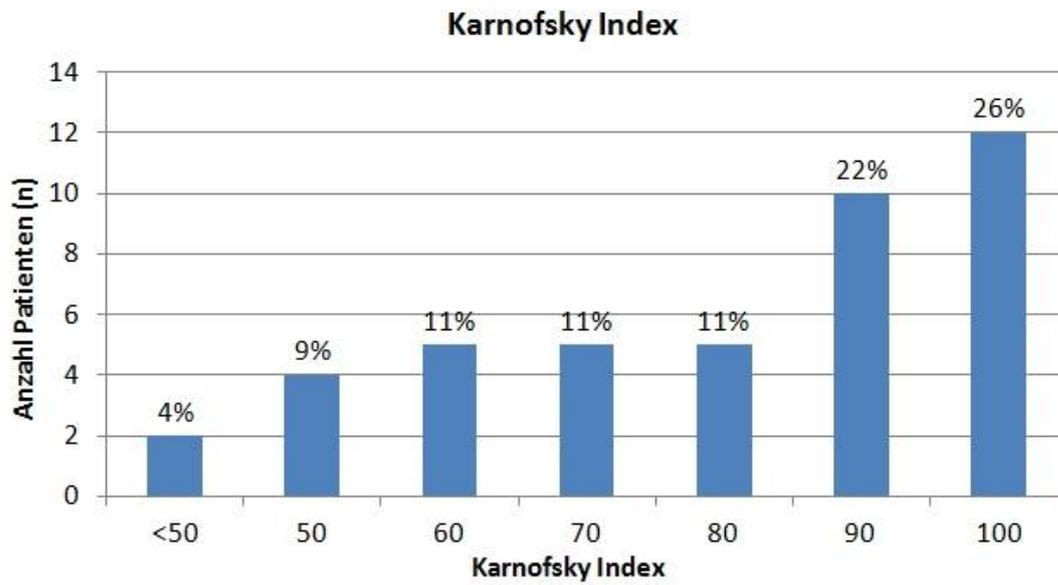


Abbildung 20: Karnofsky Index.

Eine Übersicht über das gesamte Patientenkollektiv zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1: Übersicht des Patientenkollektivs.

KPS= Präoperativer Karnofsky Index; IDH1=Isocitrat Dehydrogenase-1; TR= Komplettresektion; STR= Teilresektion; NR= keine Resektion; sGBM= sekundäres Glioblastom; sGBM Zeitraum= Zeitraum zwischen dem Auftreten der Ursprungsläsion und dem Glioblastom

Einflussfaktor		Strahlentherapie			Keine Strahlentherapie		
		Total Zahl (%)	Chemo Zahl	Keine Chemo Zahl	Total Zahl (%)	Chemo Zahl	Keine Chemo Zahl
<u>Alter bei Diagnose</u>	<30	2 (8)	2	0	1 (5)	1	0
	30≤Alter<40	11 (46)	11	0	7 (33)	6	1
	40≤Alter<50	5 (21)	5	0	5 (24)	5	0
	50≤Alter<60	5 (21)	4	1	6 (29)	6	0
	60≤Alter	1(4)	1	0	2 (9)	2	0
<u>Geschlecht</u>	Weiblich	5 (21)	5	0	11 (52)	10	1
	Männlich	19(79)	18	1	10 (48)	10	0
<u>KPS</u>	30	0 (0)	0	0	1 (5)	1	0
	40	0 (0)	0	0	1 (5)	1	0
	50	1 (4)	1	0	3 (14)	3	0
	60	5 (21)	5	0	0 (0)	0	0
	70	3 (13)	3	0	2 (9)	1	1
	80	1 (4)	0	1	4 (19)	4	0
	90	5 (21)	5	0	5 (24)	5	0
	100	7 (29)	7	0	5 (24)	5	0
	k.A.	2 (8)	2	0	0 (0)	0	0
<u>IDH1 (R132H) Mutation</u>	Mutiert	15 (63)	15	0	9 (43)	9	0
	Wildtyp	7 (29)	6	1	10 (48)	10	0
	k.A.	2 (8)	2	0	2 (9)	1	1
<u>Lokalisation</u>	Frontal	7 (29)	6	1	8 (38)	8	0
	Temporal	8 (33)	8	0	3 (14)	3	0
	Parietal	1 (4)	1	0	1 (5)	1	0
	Andere	8 (33)	8	0	9 (43)	8	1
<u>Resektions- ausmaß</u>	TR	8 (33)	8	0	6 (29)	5	1
	STR/NR	16 (67)	15	1	15 (71)	15	0
<u>Ursprungsläsion</u>	Astrozytom II	11 (46)	10	1	5 (24)	4	1
	Astrozytom III	8 (33)	8	0	13 (62)	13	0
	Andere	5 (21)	5	0	3 (14)	3	0
<u>sGBM Zeitraum</u>	≤ 104 Wochen	9 (37)	8	1	10 (48)	10	0
	> 104 Wochen	15 (63)	15	0	11 (52)	10	1

3.2 Therapie

3.2.1 Resektionsausmaß

40 Patienten wurden einer partiellen oder totalen Resektion des sekundären Glioblastoms an der Klinik für Neurochirurgie des Klinikums der Johann-Wolfgang Goethe Universität Frankfurt am Main unterzogen. Das mediane Alter dieser operierten Patienten war mit 40 Jahren (Range: 25 - 64) im Vergleich zu den Patienten, die sich keiner OP unterzogen und biopsiert wurden (n = 5, medianes Alter: 51 Jahre (Range: 34 - 59)), erheblich geringer ($p = 0,14$, Mann-Whitney-U-Test).

3.2.2 Radiotherapie

Bei 24 Patienten wurde eine adjuvante Radiotherapie nach der sekundären Glioblastom Operation durchgeführt, meistens in 2 Gy- Fraktionen und einer Gesamtdosis von circa 60 Gy. Das mediane Alter dieser bestrahlten Patienten betrug 40 Jahre (Range: 25-63) und somit waren sie jünger als die Patienten, die keine Radiotherapie erhalten haben (medianes Alter: 43 Jahre (Range: 26 - 64), $p < 0,2$, Mann-Whitney-U-Test).

9 Patienten erhielten eine Re-Bestrahlung (d.h. Bestrahlung des Ursprungstumors und des sGBMs), 13 Patienten wurden erstmalig nach dem sekundären Glioblastom bestrahlt. 21 Patienten wurden nicht nach dem sekundären Glioblastom bestrahlt, jedoch nach dem Ursprungstumor. Es gab keinen Patienten, der nicht mindestens einmalig (entweder nach Ursprungstumor oder nach sGBM) radiotherapiert wurde. Bei 2 Patienten lagen keine Informationen zu einer Bestrahlung der Ursprungsläsion vor (s. Tabelle 7 im Anhang).

3.2.3 Chemotherapie

Bei allen außer zwei Patienten schloss sich nach der sGBM Diagnose eine Chemotherapie an. 41 Jahre (Range: 25 - 64) betrug das mediane Alter der sich einer Chemotherapie unterzogenen Patienten. Bei der Chemotherapie des sekundären Glioblastoms handelte es sich in 35 Fällen (77,7 %) um eine Temozolomid- Therapie. Man muss erwähnen, dass eine TMZ- Chemotherapie erst seit 2005 verfügbar ist. 2 Patienten bekamen eine Chemotherapie mit CCNU und VM26, ein Patient eine Chemotherapie mit ACNU und VM26, 2 Patienten eine Therapie mit ACNU und VP16, ein Patient eine mit ACNU und ein Patient mit Avastin. Eine Übersicht der adjuvanten Therapie ist in Abbildung 21 dargestellt.

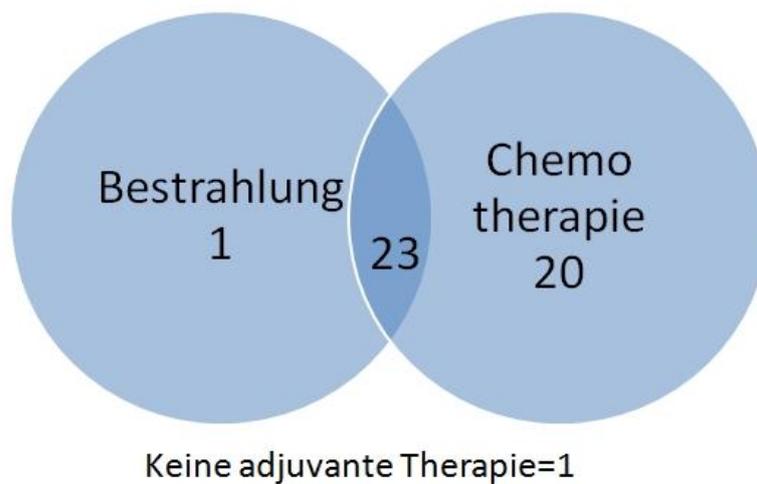


Abbildung 21: Adjuvante Therapie.

3.3 Überlebensanalysen nach Kaplan-Meier mit log-rank Test

Die mediane Überlebenszeit aller Patienten betrug 445 Tage (KI 403; 487). Die in den Abbildungen 22 bis 40 dargestellten Überlebenskurven zeigen den Einfluss der nachfolgend aufgelisteten Parameter mit Korrelation zur Gesamtüberlebenszeit. In Bezug gesetzt wurden

- eine IDH1 (R132H) Mutation des Tumorgewebes,
- Alter und Geschlecht der Patienten,
- der präoperative Karnofsky Index,
- Verteilung und Lokalisation der Tumoren im Gehirn,
- eine Multifokalität,
- die Entität der Ursprungsläsion (Astrozytom oder Andere und WHO Grad II oder Grad III),
- der Zeitraum zwischen der Diagnose des Ursprungstumors und des Glioblastoms,
- das Resektionsausmaß
- und die adjuvante Therapie (Chemotherapie und Bestrahlung).

Eine Übersicht mit allen Einflussfaktoren, Überlebenszeiten und p-Werten findet sich im Anhang in Tabelle 3. Anhand der nachfolgend aufgelisteten Parametern (Einflussfaktoren) wurde durch uni- und multivariate Analysen beurteilt.

3.3.1 IDH1 (R132H) Mutation

Patienten mit einer IDH1 Mutation (n = 24) zeigten ein medianes Überleben von 468 Tagen (95%-KI: 293 - 643), wohingegen Patienten ohne IDH1 Mutation (n = 17) ein medianes Überleben von 421 Tagen (95%-KI: 289 - 553) aufwiesen. Der Unterschied zeigte einen Trend zur statistischen Signifikanz (p = 0,096; Abbildung 22).

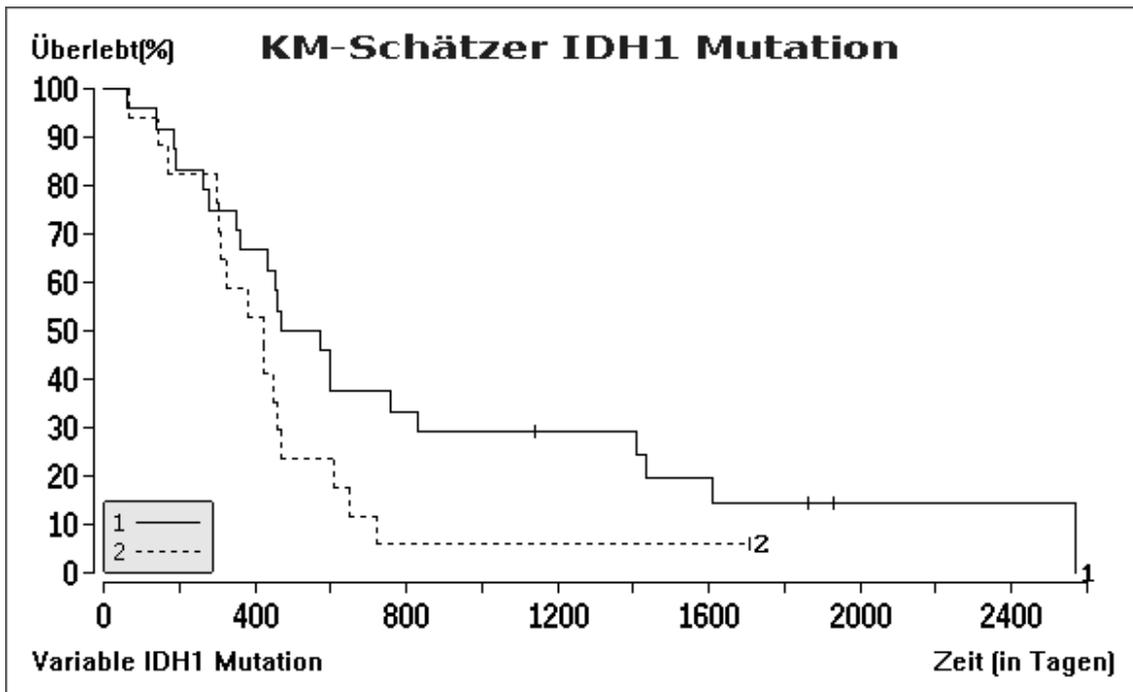


Abbildung 22: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable IDH1 Mutation.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom mit und ohne IDH1 Mutation (R132H). Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: IDH1 Mutation; 2: Keine IDH1 Mutation

3.3.1.1 IDH1 und Re-Bestrahlung

Bei 7 Patienten, welche mit vorliegender Mutation des IDH1 Gens eine Re-Bestrahlung erhielten (Gruppe 1), betrug das mediane Gesamtüberleben nach Diagnosestellung des sGBM 363 Tage (95%-KI: 335 - 391). 17 Patienten mit IDH1 Mutation wurden nicht re-bestrahlt und wiesen ein medianes Überleben

von 599 Tagen (95%-KI: 422 - 776) auf. Dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant ($p = 0,71$, log-rank Test, siehe Abbildung 23).

Bei 2 Patienten wurde kein mutiertes IDH1 (R132H) Protein nachgewiesen, aber es erfolgte eine Re-Bestrahlung (Gruppe 3). In dieser Gruppe betrug das mediane Überleben 421 Tage (95%-KI nicht berechenbar, da nur ein Patient verstorben). 14 Patienten bekamen keine Re-Bestrahlung und hatten keinen Nachweis eines mutierten IDH1 (R132H) Proteins (Gruppe 4). Bei diesen Patienten betrug die mediane Überlebenszeit 327 Tage (95%-KI: 197 - 457), was statistisch signifikant kürzer war ($p < 0,02$, log-rank Test, siehe Abbildung 24). Bei 5 Patienten konnte entweder kein IDH1 (R132H) Status erhoben oder keine Informationen zu einer Bestrahlung der niedriggradigen oder anaplastischen Läsion beschafft werden (s. Tabelle 4 im Anhang).

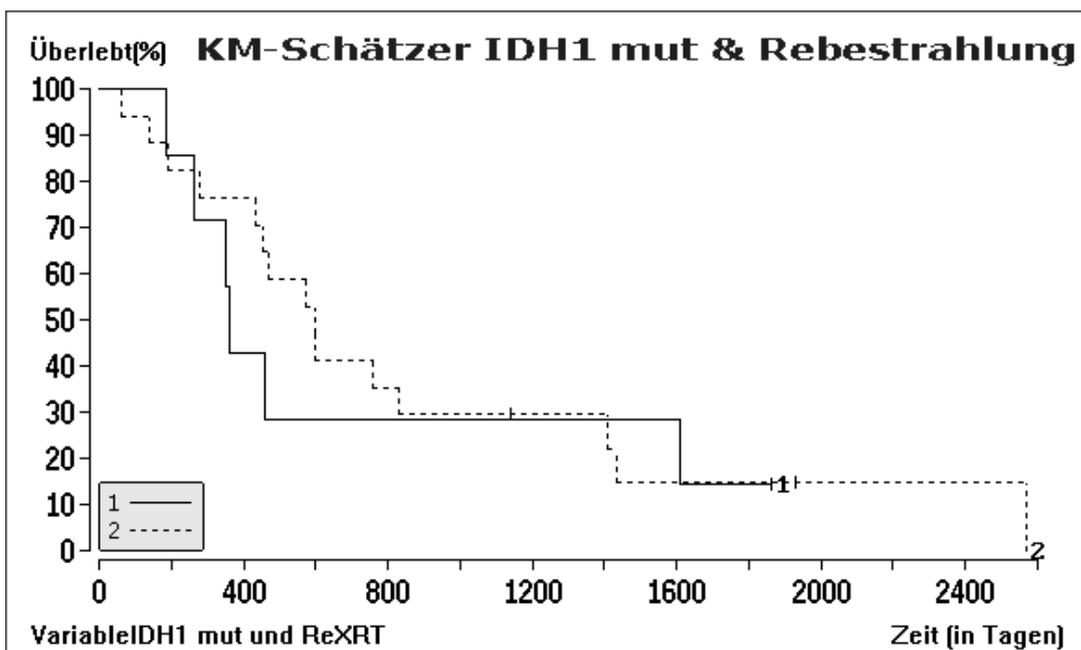
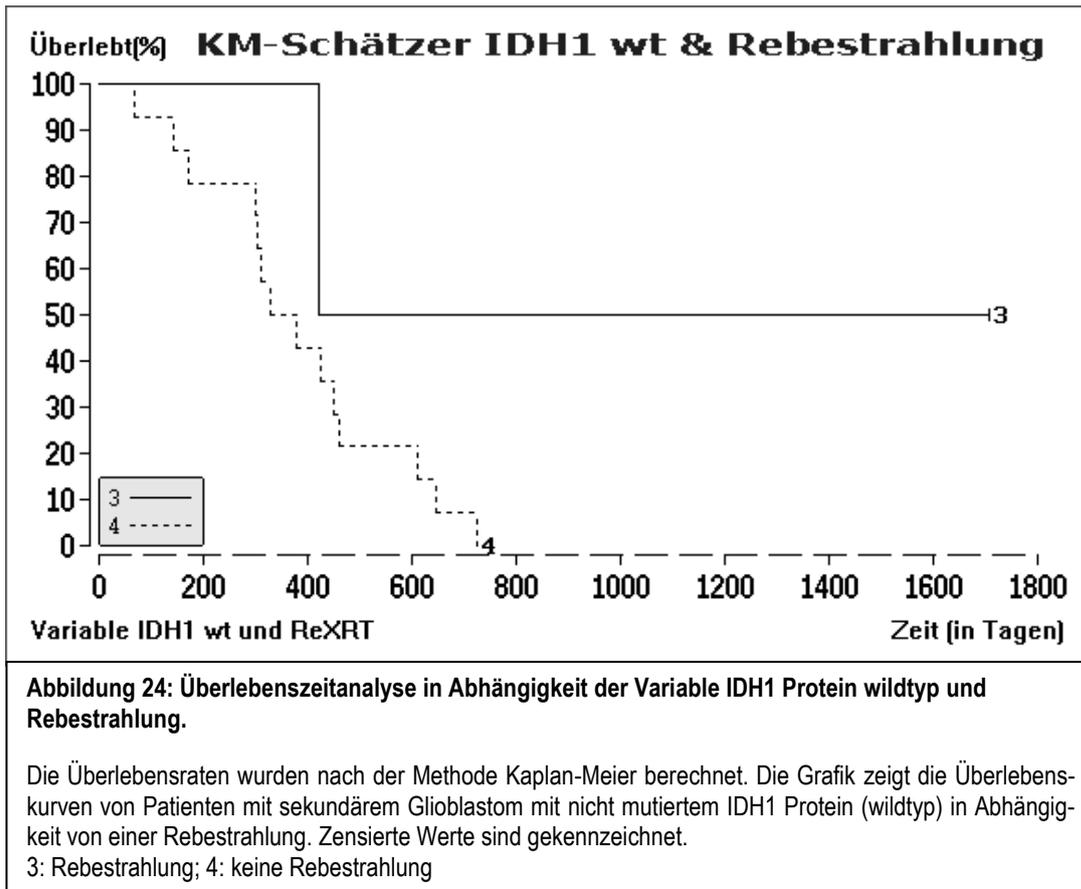


Abbildung 23: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable IDH1 Protein mutiert und Rebestrahlung.

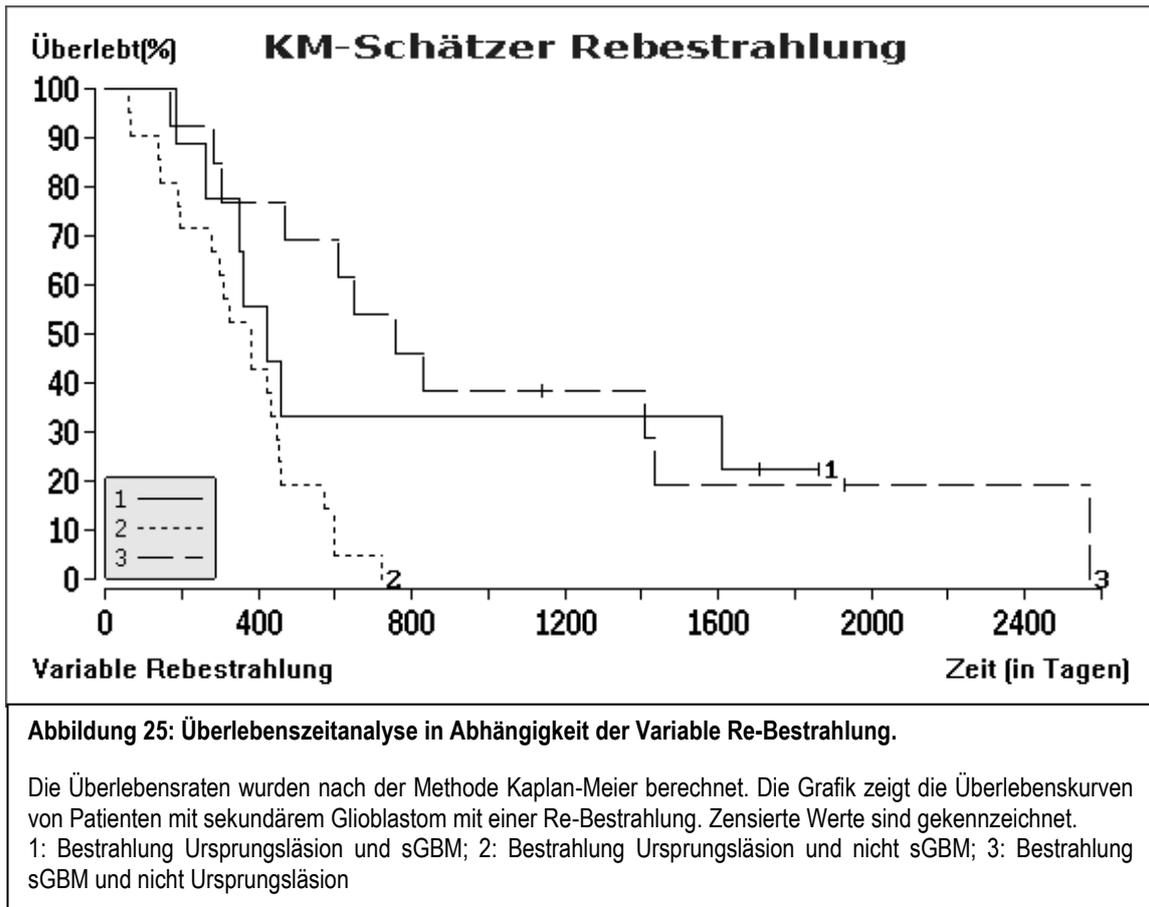
Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom mit mutiertem IDH1 Protein in Abhängigkeit von einer Rebestrahlung. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: Rebestrahlung; 2: keine Rebestrahlung

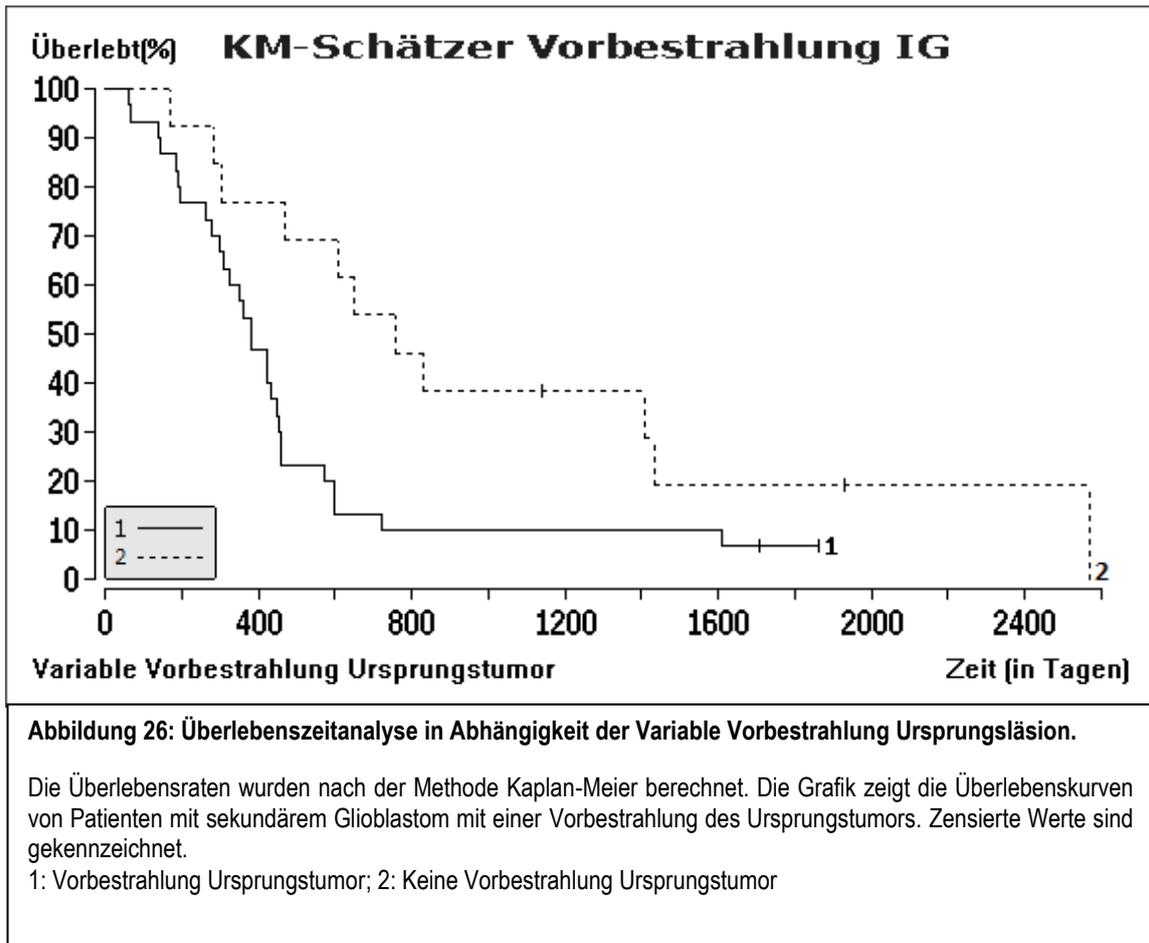


3.3.1.2 Vorbestrahlung der Ursprungsläsion

9 Patienten wurden nach der Ursprungsläsion und der Glioblastom OP bestrahlt (Gruppe 1) und das mediane Überleben betrug 421 Tage (95%-KI: 252 - 590). Die 21 Patienten, bei denen der ursprüngliche Hirntumor bestrahlt, das Glioblastom jedoch nicht strahlentherapeutisch behandelt wurde (Gruppe 2), hatten ein medianes Überleben von 380 Tagen (95%-KI: 275 - 485). Es gab 13 Patienten, welche nur nach der Glioblastom OP bestrahlt wurden (Gruppe 3) und das mediane Überleben war mit 759 Tagen (95%-KI: 503 - 1015) höher als bei Patienten, die sowohl beim Glioblastom als auch bei dem niedriggradigen beziehungsweise anaplastischen Hirntumor bestrahlt wurden (Abbildung 25, Tabelle 7 im Anhang). Bei 2 Patienten gab es keine Informationen, ob eine bzw. dass keine Bestrahlung der initialen Tumorerkrankung stattgefunden hat.



Betrachtet man die vorbestrahlten Patienten gepoolt (Gruppe 1 und 2, $n = 30$), so erkennt man, dass das mediane Überleben dieser Patienten im Vergleich zu den nicht vorbestrahlten Patienten (Gruppe 3) signifikant ($p = 0,017$, log rank Test) geringer ist (380 Tage (95%-KI: 288 - 472) vs. 759 Tage (95%-KI: 503 - 1015) (s. Abbildung 26).



3.3.2 Alter

Patienten jünger oder gleich 41 Jahre alt ($n = 23$) hatten ein medianes Überleben von 468 Tagen (95%-KI: 432 - 504) und Patienten älter als 41 Jahre ($n = 22$) ein medianes Überleben von 421 Tagen (95%-KI: 342 - 500). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p > 0,2$; Abbildung 27).

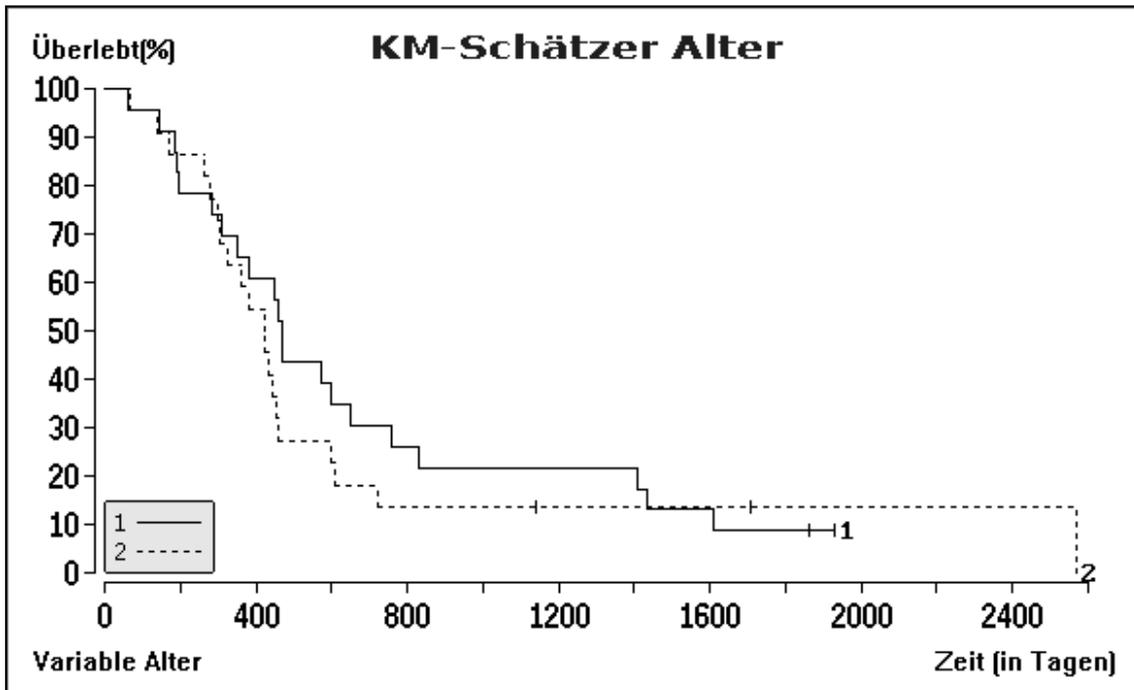


Abbildung 27: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Alter.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von dem Alter der Patienten mit sekundärem Glioblastom. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.
1: ≤ 41 Jahre; 2: > 41 Jahre

3.3.3 Geschlecht

Die Überlebenszeiten bei männlichen Patienten ($n = 29$) lag bei 432 Tagen (95%-KI: 318 - 546) und bei weiblichen Patientinnen ($n = 16$) bei 459 Tagen (95%-KI: 367 - 551). Der Unterschied war nicht statistisch signifikant ($p > 0,2$; Abbildung 28).

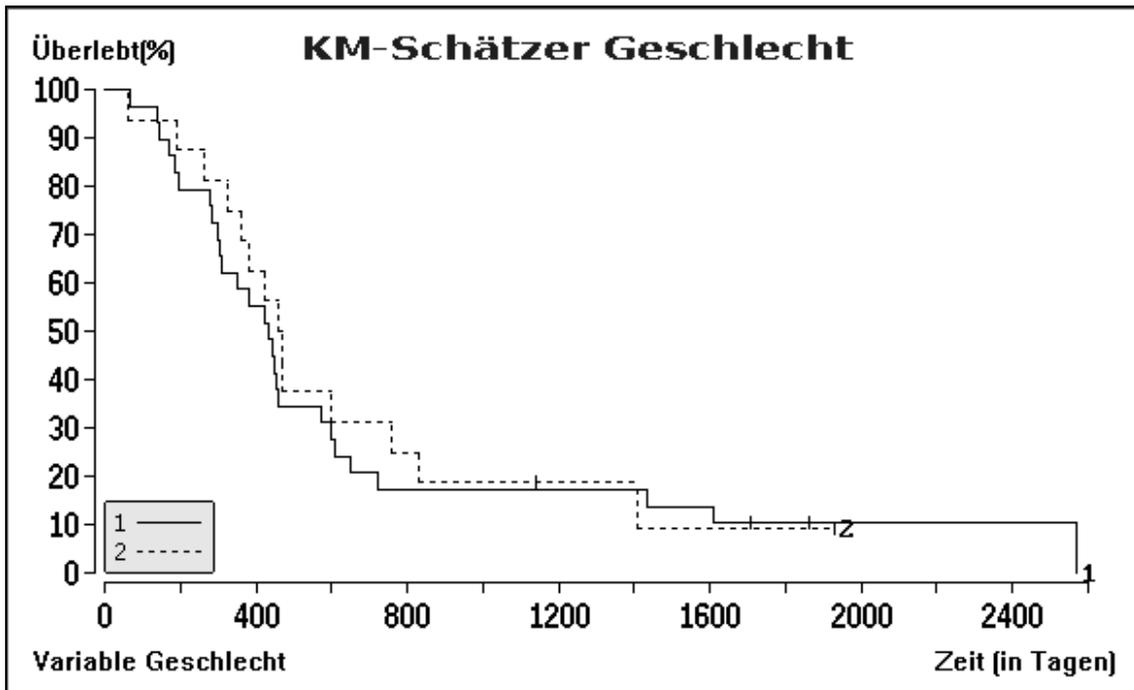


Abbildung 28: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Geschlecht.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von männlichen und weiblichen Patienten mit sekundärem Glioblastom. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.
1: männlich; 2: weiblich

3.3.4 Präoperativer KPS

Bei Patienten mit einem präoperativen KPS von kleiner 90 ($n = 21$) betrug die mediane Überlebenszeit 380 Tage (95%-KI: 156 - 604) und bei Patienten mit einem KPS von größer oder gleich 90 ($n = 22$) 432 Tage (95%-KI: 395 - 469). Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p > 0,2$; Abbildung 29).

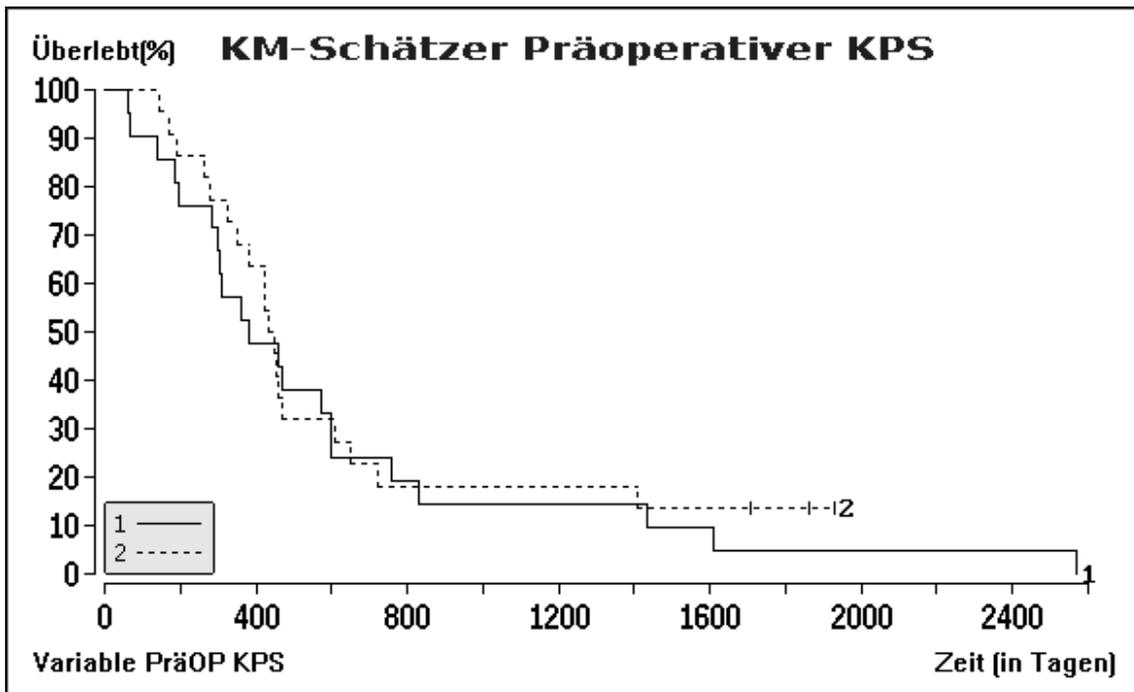


Abbildung 29: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable präoperativer KPS.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom mit präoperativen KPS von größer/ gleich 90 und kleiner 90. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: größer/ gleich 90; 2: kleiner 90

3.3.5 Lokalisation

Patienten mit einem rechtsseitigen Glioblastom ($n = 20$) zeigten ein medianes Überleben von 432 Tagen (95%-KI: 397 - 467), im Vergleich dazu Patienten mit einem linksseitigen Glioblastom ($n = 25$) eines von 459 Tagen (95%-KI: 281 - 637; $p > 0,2$; Abbildung 30).

Die mediane Überlebenszeit bei Patienten mit einem sekundären Glioblastom im Frontallappen ($n = 15$) betrug 472 Tage (95%-KI: 185 - 759) und bei Patienten mit Lokalisation in einem anderen Hirnlappen ($n = 30$) 425 Tage (95%-KI:

300 - 550). Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p = 0,031$; Abbildung 31).

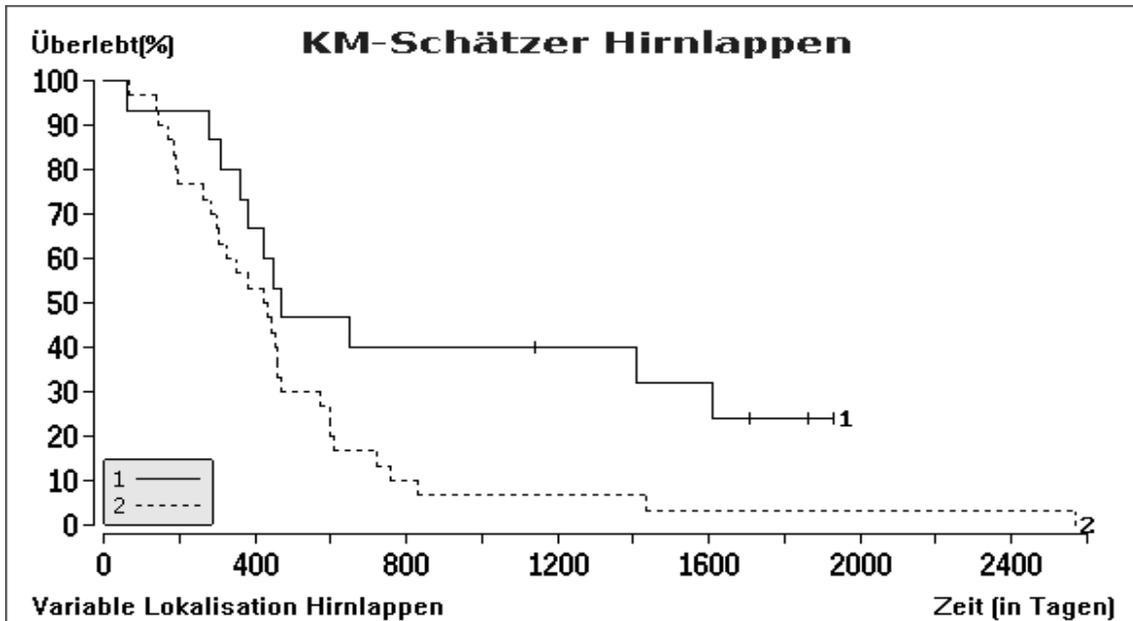


Abbildung 30: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Lokalisation Hirnlappen.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom entsprechend der Lokalisation in einem Hirnlappen. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: Frontallappen; 2: alle anderen Hirnlappen (gepoolt)

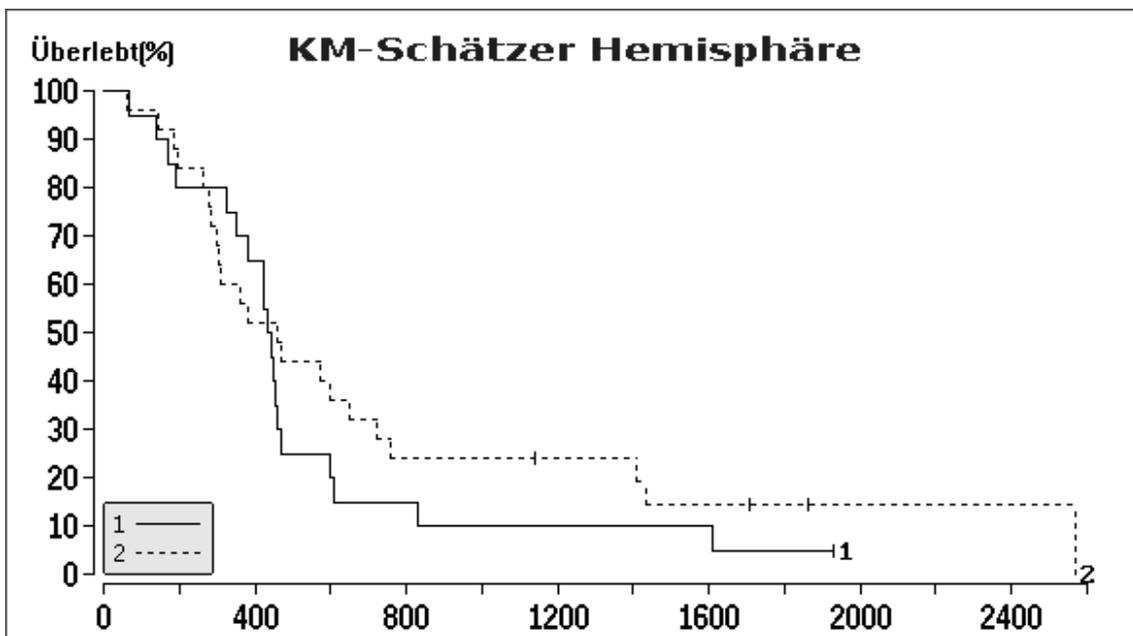


Abbildung 31: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Lokalisation Hemisphären.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom entsprechend der Lokalisation in den Hemisphären. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: Rechts; 2: Links

3.3.6 Multifokalität

Beim Vorliegen von mehreren Tumorherden in verschiedenen Hirnlappen ($n = 8$) ergab sich eine mediane Überlebenszeit von 432 Tagen (95%-KI: 0 - 1169) und bei nur einer Tumorlokalisation ($n = 37$) ein medianes Überleben von 445 Tagen (95%-KI: 358 - 532). Dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant ($p > 0,2$; Abbildung 32).

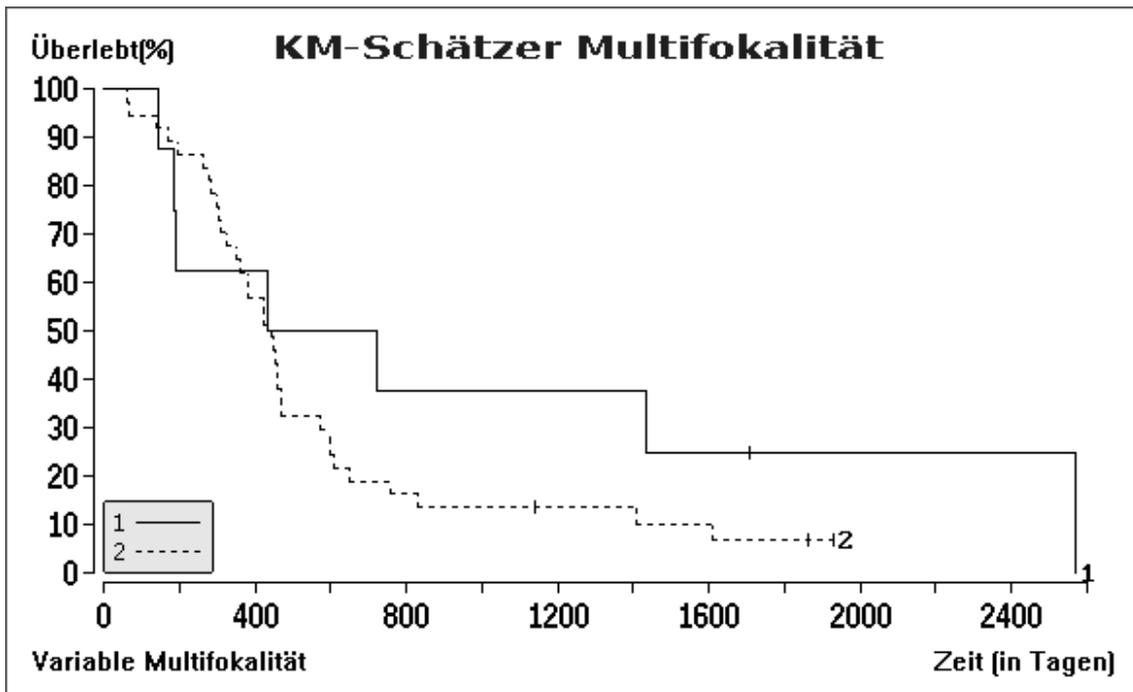


Abbildung 32: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Multifokalität.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom in Bezug auf Multifokalität. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.
1: Multifokalität; 2: Keine Multifokalität

3.3.7 Ursprungsläsion

Der Einflussfaktor Ursprungsläsion wurde nochmal unterteilt in Entität (Astrozytom oder Andere) und den WHO Grad (Grad II oder Grad III).

Das mediane Überleben für Patienten, bei denen das Glioblastom aus einem Astrozytom entstanden war ($n = 37$), betrug 445 Tage (95%-KI: 400 - 490). Bei einer anderen Entität, zusammengefasst als „Andere“ ($n = 8$), fand sich ein medianes Überleben von 352 Tagen (95%-KI: 177 - 527) bei fehlender statistischen Signifikanz ($p > 0,2$; Abbildung 33). Für Patienten mit einem WHO Grad II Tumor als Ursprungsläsion ($n = 17$) ergab sich ein medianes Überleben von

472 Tagen (95%-KI: 231 - 713), welches höher war als das der WHO Grad III Tumor Patienten (n = 28, mediane Überlebenszeit 421 Tage, 95%-KI: 301 - 541). Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p = 0,05$; Abbildung 34).

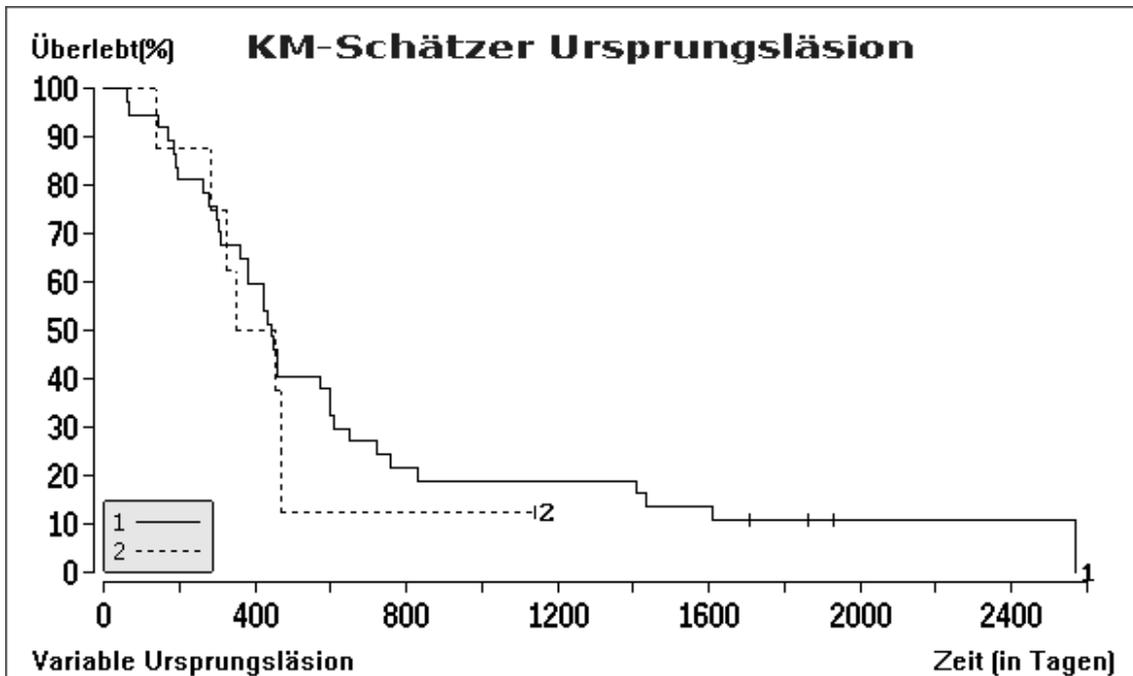


Abbildung 33: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Ursprungsläsion.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom entsprechend der Ursprungsläsion. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: Astrozytom; 2: Oligodendrogliome, gemischte Gliome

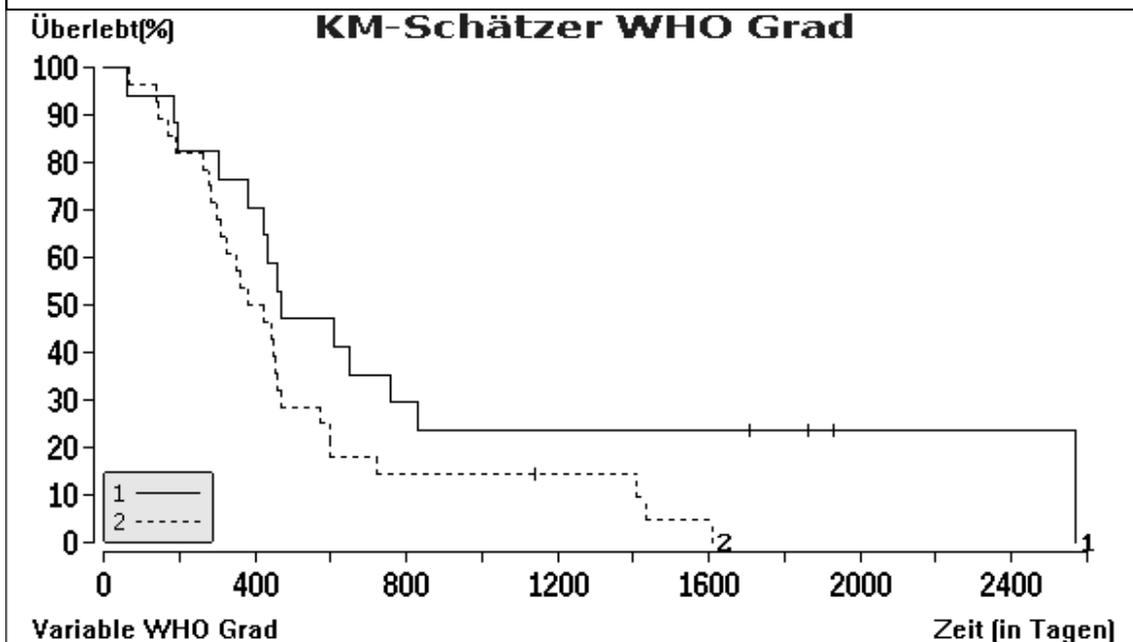


Abbildung 34: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Ursprungsläsion WHO Grad.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom entsprechend der Ursprungsläsion. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: WHO Grad II; 2: WHO Grad III

3.3.8 Zeitraum zwischen Ursprungsläsion und Glioblastom

Es wurde unterschieden zwischen dem Auftreten des sekundären Glioblastoms innerhalb eines Zeitraums größer als zwei Jahre bzw. innerhalb von zwei Jahren (104 Wochen) nach Diagnose des Primärtumors. In der ersten Gruppe (sGBM > 104 Wochen, n = 26) betrug das mediane Überleben 460 Tage (95%-KI: 311 - 609), in der zweiten Gruppe (sGBM ≤ 104 Wochen, n = 19) nur 327 Tage (95%-KI: 160 - 493). Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p = 0,011$; Abbildung 35).

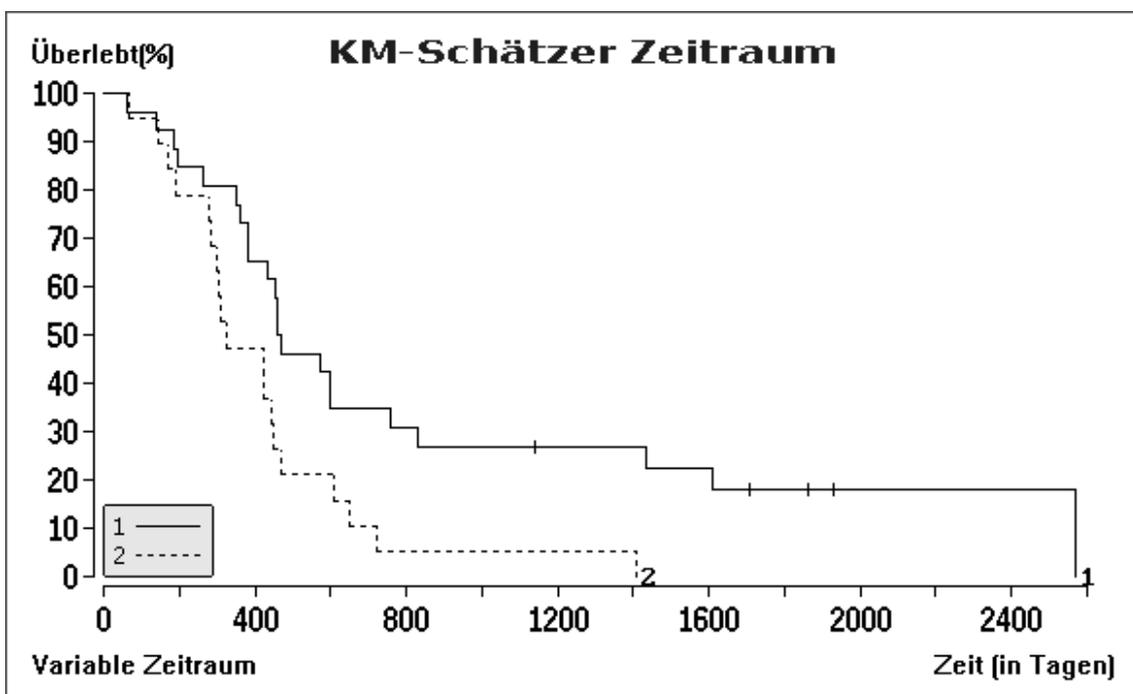


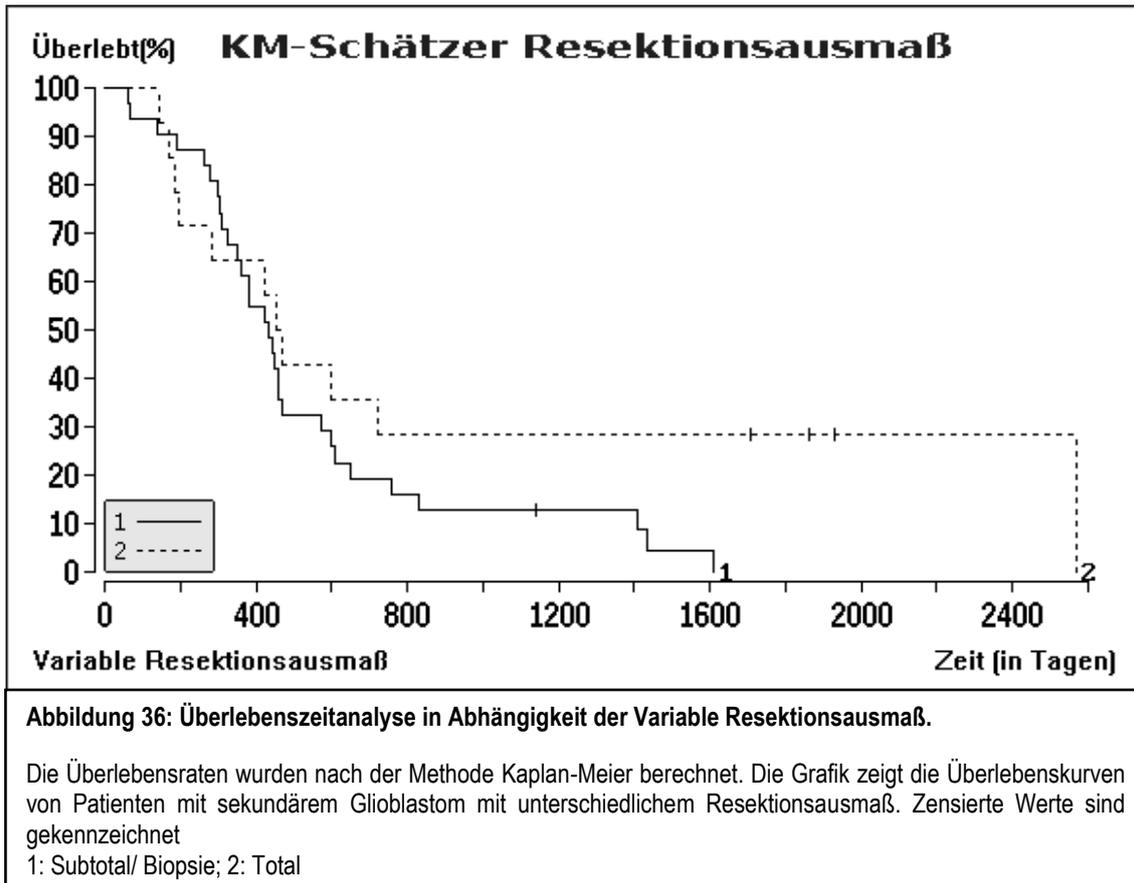
Abbildung 35: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Zeitraum zwischen Auftreten des sGBM und Ursprungsläsion.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom mit einem Zeitraum zwischen den Tumoren von kleiner/ gleich 104 Wochen und mehr als 104 Wochen. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: größer 104 Wochen; 2: kleiner/ gleich 104 Wochen

3.3.9 Resektionsausmaß

Die mediane Überlebenszeit mit dem Einflussfaktor Resektionsausmaß betrug für die Gruppe „Total“ (n = 14) 453 Tage (95%-KI: 367 - 539) und für die Gruppe „Subtotal/ Biopsie“ (n = 31) 432 Tage (95%-KI: 354 - 510); der Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p = 0,122$; Abbildung 36).



Das medianes Überleben von Patienten mit nachgewiesener IDH1 (R132H) Mutation und Komplettresektion (Gruppe 1, n = 6) betrug 599 Tage (95%-KI: 0 - 1868). Die übrigen Patienten mit einer IDH1 Mutation (Gruppe 2, n = 18) hatten ein medianes Überleben von 460 Tagen (95%-KI: 385; 535). Es bestand hier ein Trend zur statistischen Signifikanz ($p = 0,057$). Die Überlebenszeit betrug 425 Tage (95%-KI: 64 - 786) bei Patienten, bei denen der Tumor komplett reseziert aber keine IDH1 Mutation nachgewiesen wurde (Gruppe 3, n = 6). Bei den nicht komplett resezierten Patienten ohne Nachweis eines mutierten IDH1 (R132H) Proteins (Gruppe 4, n = 11) wurde ein medianes Überleben von 380 Tagen (95%-KI: 259 - 501) beobachtet. Dieser Unterschied war statistisch nicht

signifikant ($p > 0,2$, siehe Abbildung 37). Eine Übersicht der verschiedenen Patientengruppen zeigt Tabelle 5 im Anhang.

Der direkte Vergleich von Gruppe 1 und Gruppe 2 zeigte, wenngleich auch nur ein statistischer Trend zur Signifikanz vorlag, dass für die IDH1 mutierten Tumoren eine Komplettresektion eine Risikoreduktion von circa 61 % (HR: 0,3901; 95%-KI: 0,1365 - 1,1147) mit sich brachte.

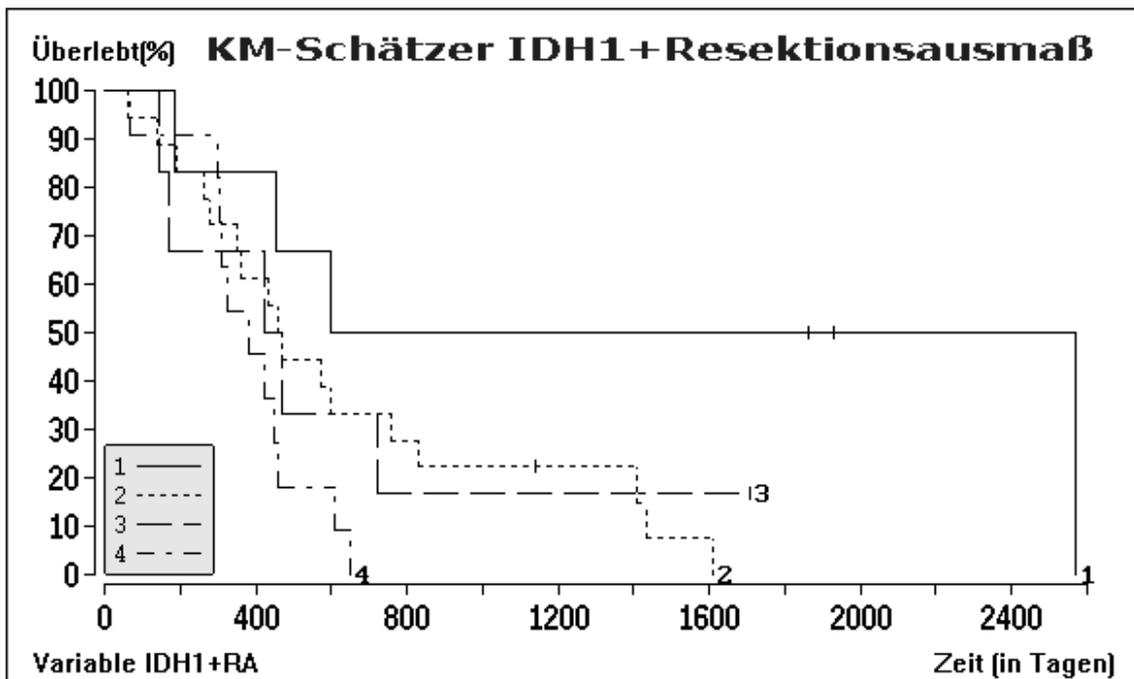


Abbildung 37: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable IDH1 Mutation und Resektionsausmaß.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom mit unterschiedlichem Resektionsausmaß und IDH1 Status. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: IDH1+/Total; 2: IDH1+/Subtotal; 3: IDH1-/Total; 4: IDH1-/Subtotal

3.3.10 Adjuvante Therapieregimen

Die verschiedenen Therapieregimen bestanden entweder aus einer alleinigen Bestrahlung (n = 1), einer alleinigen Chemotherapie (n = 20), einer Kombination aus Chemotherapie und Bestrahlung (n = 23) oder gar keiner adjuvanten Therapie (n = 1).

Bei einer alleinigen Chemotherapie ergab sich ein medianes Überleben von 380 Tagen (95%-KI: 277 - 483) und bei der Kombination aus Chemo- und Strahlentherapie ein medianes Überleben von 611 Tagen (95%-KI: 329 - 893). Der Unterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$, Abbildung 38). Die medianen Überlebenszeiten für die alleinige Bestrahlung und keiner adjuvanten Therapie konnten nicht ermittelt werden, da es sich jeweils nur um einen Patienten handelte. Der Patient, der lediglich bestrahlt wurde, hatte eine Überlebenszeit von 304 Tagen. Der Patient, der zunächst keine adjuvante Therapie erhielt, hat nach Diagnose des sGBMs 196 Tage überlebt.

Patienten, die eine Chemotherapie erhielten (n = 43), hatten ein medianes Überleben von 449 Tagen (95%-KI 405 - 493), hingegen Patienten ohne Chemotherapie ein medianes Überleben von 196 Tagen (KI nicht berechenbar, da n = 2) hatten. Dieser Vergleich war statistisch signifikant ($p = 0,039$; Abbildung 39).

Patienten, die bestrahlt wurden (n = 24), kamen auf ein medianes Überleben von 472 Tagen (95%-KI 246 - 698) im Vergleich dazu Patienten ohne Strahlentherapie (n = 21) mit einem medianen Überleben von 380 Tagen (95%-KI 275 - 485). Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p < 0,001$; Abbildung 40).

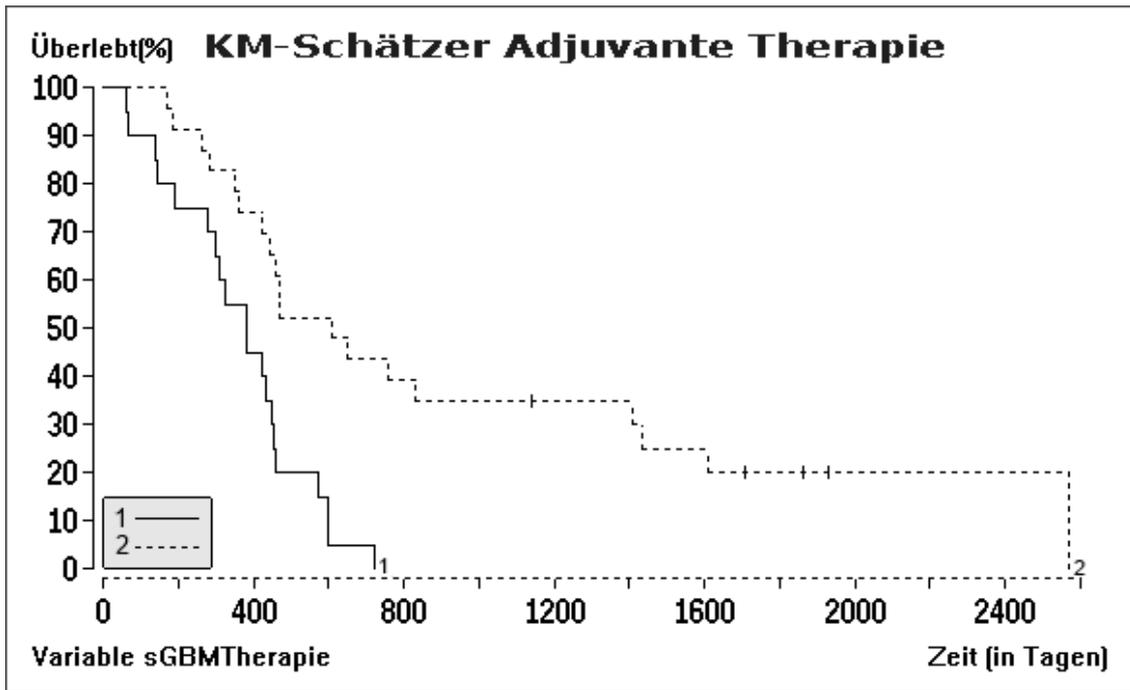


Abbildung 38: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable adjuvante Therapie.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom verschiedenen Therapieregimen. Nur Bestrahlung und keine adjuvante Therapie wurden hier nicht aufgeführt aufgrund der zu kleinen Stichprobenumfänge. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: nur Chemotherapie; 2: Chemotherapie und Bestrahlung

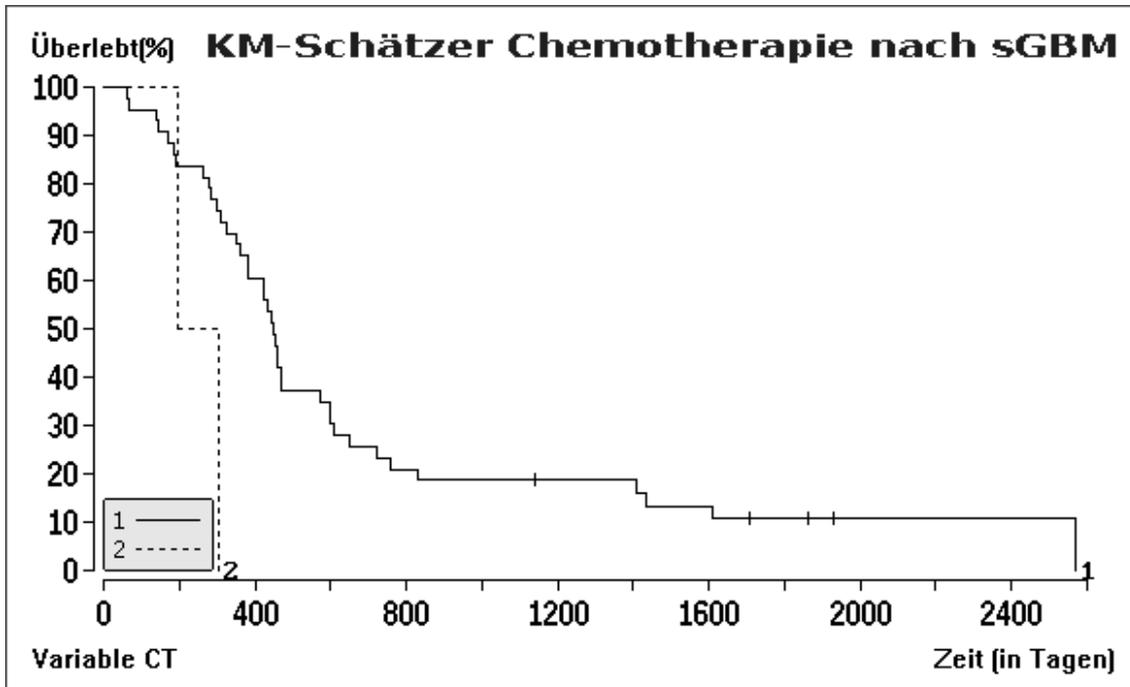


Abbildung 39: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Chemotherapie.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom behandelt mit und ohne Chemotherapie. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: Chemotherapie; 2: Keine Chemotherapie

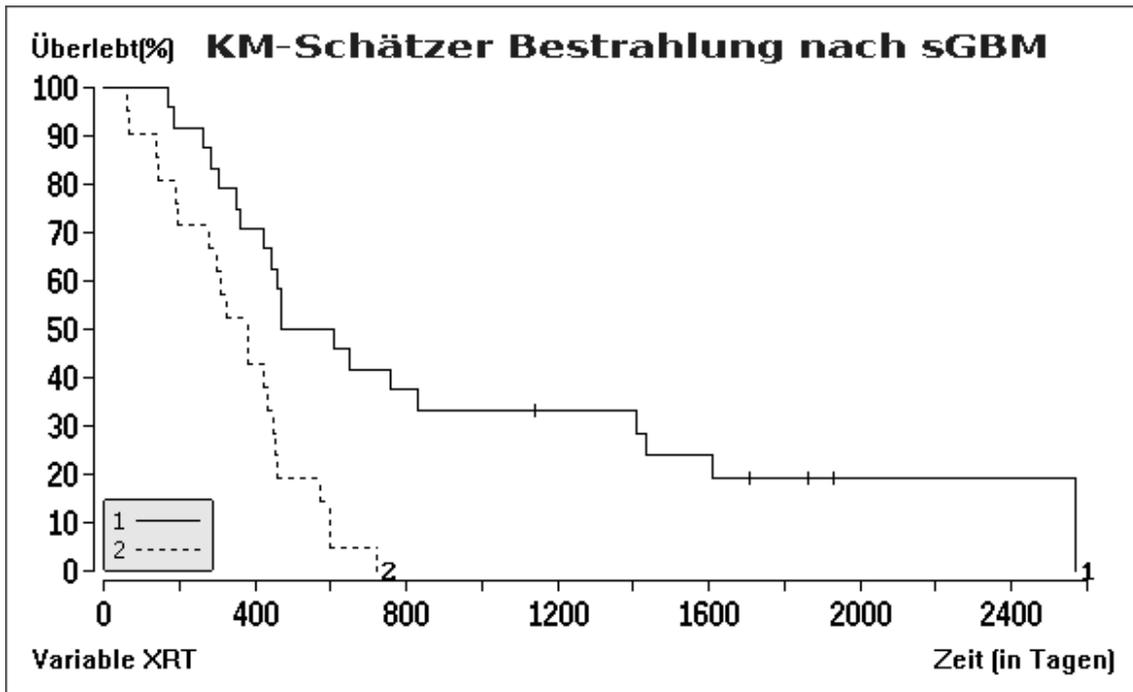


Abbildung 40: Überlebenszeitanalyse in Abhängigkeit der Variable Bestrahlung.

Die Überlebensraten wurden nach der Methode Kaplan-Meier berechnet. Die Grafik zeigt die Überlebenskurven von Patienten mit sekundärem Glioblastom behandelt mit und ohne Bestrahlung. Zensierte Werte sind gekennzeichnet.

1: Bestrahlung; 2: Keine Bestrahlung

3.4 Univariate Signifikanzanalyse im log rank Test

Zusammenfassend konnten mehrere Faktoren identifiziert werden, welche in der univariaten Analyse einen Einfluss auf das Überleben von Patienten mit sGBM haben könnten: der IDH1-Status (statistischer Trend), die Lappenlokalisierung des Glioblastoms, der WHO Grad der Ursprungsläsion und der Zeitraum zwischen Ursprungsläsion und Auftreten eines Glioblastoms. Außerdem konnte ein statistisch hoch signifikanter positiver Einfluss einer Kombinationstherapie bestehend aus einer Chemo- und Radiotherapie gegen einer alleinigen Chemo- oder Radiotherapie beobachtet werden; Patienten, die mindestens eine adjuvante Therapieform (Chemo- oder Radiotherapie) erhielten, hatten im Gegensatz zu Patienten, die nicht adjuvant therapiert wurden, signifikant längere Überlebenszeiten.

Zusammenfassend sind diese Daten in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Univariate Signifikanzanalyse im log-rank Test.

IDH1= Isocitrat Dehydrogenase-1; Zeitraum= Zeitraum zwischen dem Auftreten der Ursprungsläsion und dem Glioblastom

Einflussfaktor		Anzahl n	Medianes Über- leben (in Tagen); KI	p-Wert
IDH1 (R132H) Mutation	Mutiert	24	468 (293 - 643)	0,096
	Wildtyp	17	421 (289 - 553)	
Lokalisation	Frontal	15	472 (185 - 759)	0,031
	Andere	30	425 (300 - 550)	
Ursprungsläsion	WHO Grad II	17	472 (231 - 713)	0,050
	WHO Grad III	28	421 (301 - 541)	
Zeitraum	> 104 Wochen	26	460 (311 - 609)	0,011
	≤ 104 Wochen	19	327 (160 - 493)	
Adj. Therapie	Chemo+ Bestrahlung	23	611 (329 - 893)	<0,001
	Nur Chemo	20	380 (277 - 483)	

3.5 Cox Regressionsanalyse

Um den Einfluss der unterschiedlichen patientenspezifischen Faktoren, die vor Einleitung einer adjuvanten Therapie bekannt sind, auf die Überlebenszeit zu ermitteln, sind die vier Einflussfaktoren mit dem Signifikanzniveau von $p < 0,1$ in der univariaten Analyse herausgearbeitet und anschließend einer Cox-Regressionsanalyse mit Abbau bei $p < 0,1$ unterzogen worden. Die untersuchten Einflussfaktoren waren eine IDH1 Mutation, der WHO Grad der Ursprungsläsion, die Tumorlokalisation und der Zeitraum. In der overall- Anpassung der Cox- Regressionsanalyse wurde ein signifikantes Ergebnis erzielt ($p = 0,003$). In Abbildung 41 sind die Faktoren mit ihrem relativen Mortalitätsrisiko und den entsprechenden Konfidenzintervallen graphisch aufgezeigt.

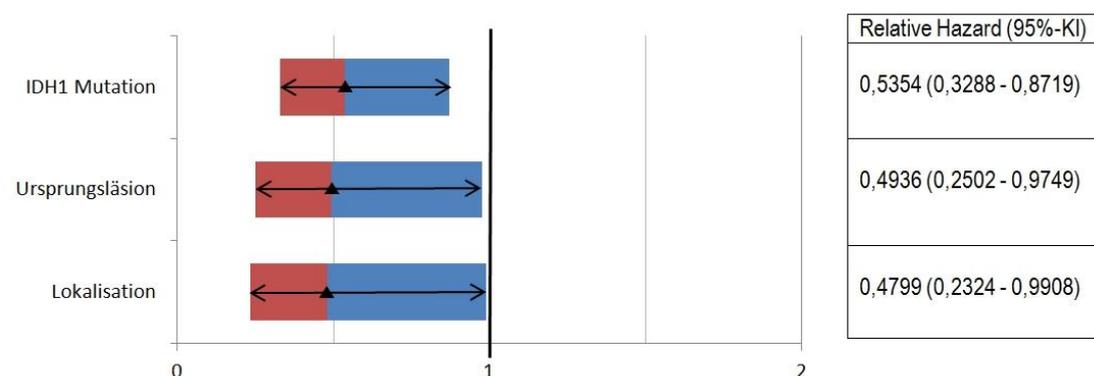


Abbildung 41: Balkendiagramm Einflussfaktoren Cox-Regression.

In der Analyse mit Abbau wurde als erstes die Variable „Zeitraum“ eliminiert als Zeitintervall zwischen niedriggradiger oder anaplastischer Tumorkläsion. Zum Schluss blieben die IDH1 Mutation ($p = 0,012$ (HR: 0,5354; KI: 0,3288 - 0,8719)), der Ursprungstumor ($p = 0,047$ (HR: 0,4936; KI: 0,2502 - 0,9749)) und die Lokalisation ($p = 0,042$ (HR: 0,4799; KI: 0,2324 - 0,9908)) als signifikante Einflussgrößen übrig.

3.6 Versuch der Risikostratifizierung

Das Baumdiagramm als Übersicht über die verschiedenen Risikogruppen ist in Abbildung 42 dargestellt. Über die Berechnung der Hazard Ratios konnte zusätzlich eine Mortalitätsrisikoreduktion in manchen Risikogruppen festgestellt werden. Es muss aber beachtet werden, dass die Vergleiche zwischen den Risikogruppen und die Bestimmung der Mortalitätsreduktion teilweise nicht signifikant waren.

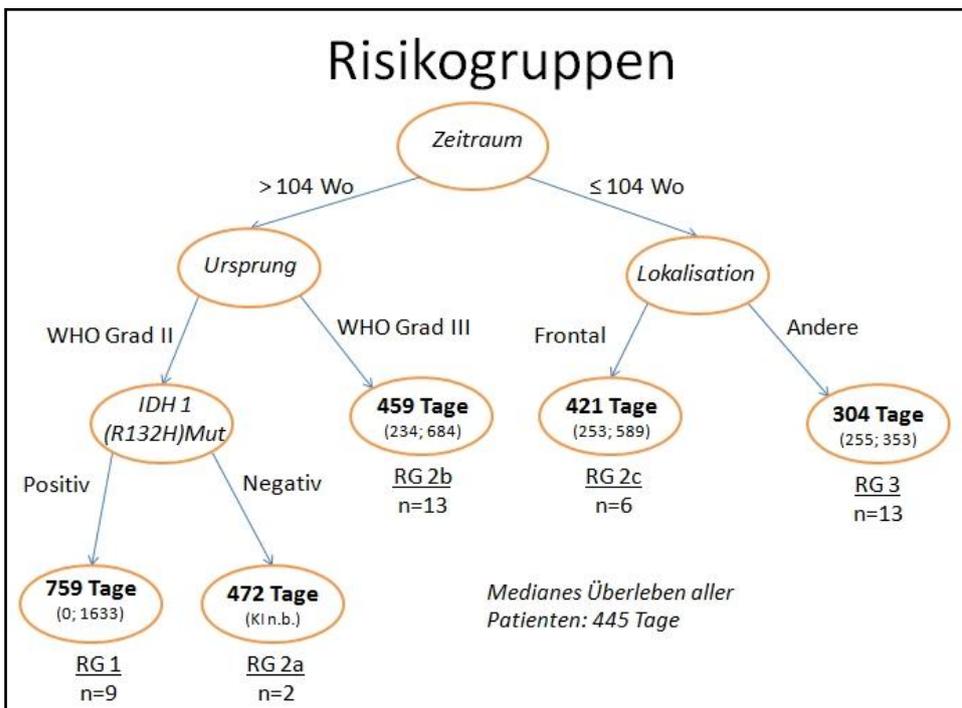


Abbildung 42: Baumdiagramm Risikogruppen.

Konfidenzintervalle in Klammer. KI n.b.=Konfidenzintervall nicht berechenbar; RG= Risikogruppe

Die Konstellation der Einflussfaktoren von Risikogruppe 1 setzte sich aus einem Zeitraum zwischen Ursprungsläsion und Glioblastom von mehr als 104 Wochen, einem WHO Grad II Ursprungstumor und einer nachgewiesenen IDH1 (R132H) Mutation zusammen. Risikogruppe 2 bestand aus drei Subgruppen (bezeichnet mit a, b und c). Die Einflussfaktoren für Risikogruppe 2a waren ein Zeitintervall von mehr als 104 Wochen, ein WHO Grad II Ursprungstumor und kein nachgewiesenes mutiertes IDH1 (R132H) Protein im Tumorgewebe. Risikogruppe 2b beschränkte sich auf einen Zeitraum von mehr als 104 Wochen

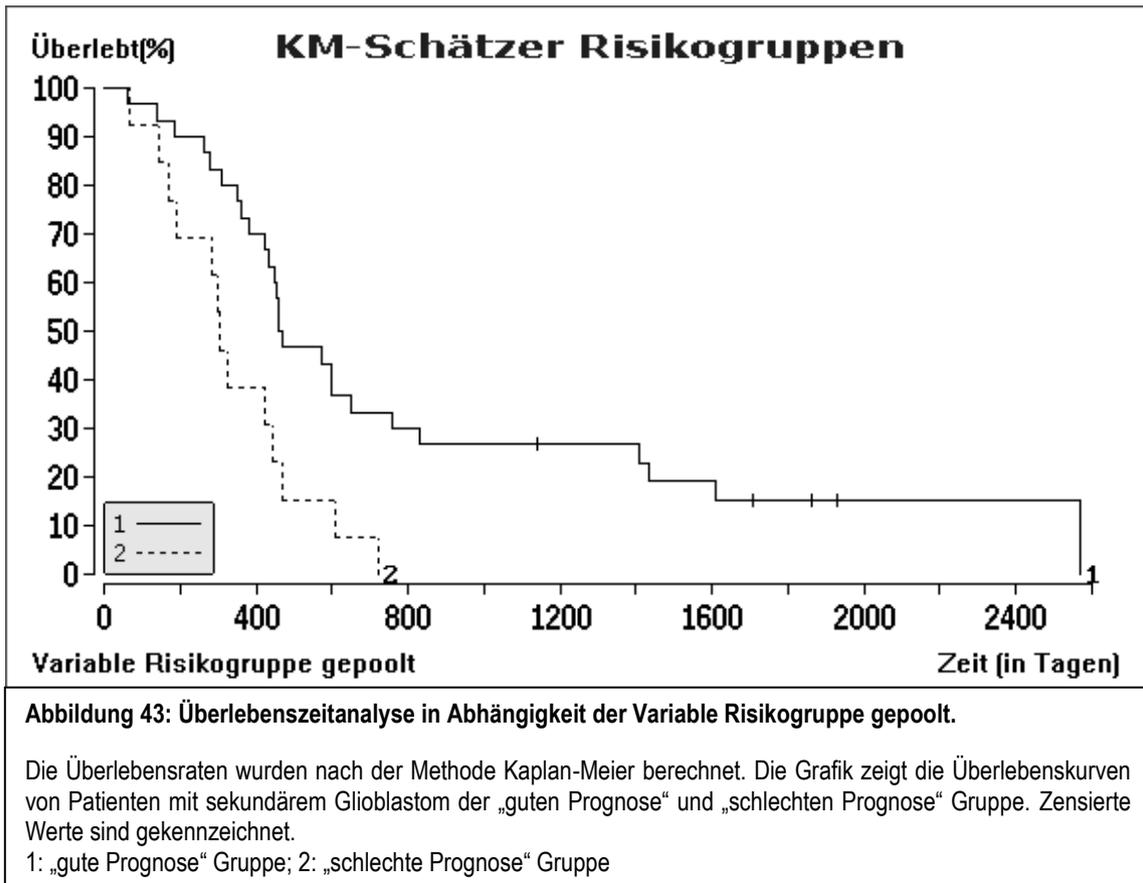
zwischen den Tumorkläsionen und einem WHO Grad III Ursprungstumor. Risikogruppe 2c etablierte sich aus einem Zeitraum von kleiner/ gleich 104 Wochen zwischen den Tumoren und einer Frontallappenlokalisation des Glioblastoms. Risikogruppe 3 setzte sich zusammen aus einem Zeitraum zwischen Ursprungsläsion und Glioblastom von weniger als 104 Wochen und keiner Frontallappenlokalisation.

Risikogruppe 1 zeigte das längste Überleben mit einem medianen Überleben von 759 Tagen (95%-KI: 0 - 1633). In Bezug auf Risikogruppen 2 und 3 (in Gruppe 2 alle drei Subgruppen zusammengefasst, gepoolt) stellten sich relative Mortalitätsreduktionen von circa 42 % ($p = 0,196$; HR: 0,5834; 95%-KI: 0,2478 - 1,3734) und circa 65 % ($p = 0,011$; HR: 0,3538; 95%-KI: 0,1469 - 0,8521) ein.

Das mediane Überleben für **Risikogruppe 2a** lag bei 472 Tagen (95%-KI: nicht berechenbar, da nur ein Patient verstorben) und zeigte im Vergleich zu Risikogruppe 3 einen statistischen Trend zur Reduktion des Sterberisikos ($p = 0,080$; HR: 0,2062; KI: 0,0328 - 1,2949). **Risikogruppe 2b** besaß ein medianes Überleben von 459 Tagen (95%-KI: 234 - 684). Gruppe 2b kam auf eine statistisch signifikante Mortalitätsreduktion ($p = 0,053$; HR: 0,4841; 95%-KI: 0,2247 - 1,0431) im Vergleich zu Risikogruppe 3. Patienten aus **Risikogruppe 2c** hatten ein medianes Überleben von 421 Tagen (95%-KI: 253 - 589) bei keiner signifikanten Reduktion der Sterberate im Vergleich zu Risikogruppe 3 ($p = 0,208$; HR: 0,5576; 95%-KI: 0,2148 - 1,4471). Für Risikogruppe 2 (gepoolt) stellte sich ein medianes Gesamtüberleben von 459 Tagen (95%-KI: 425 - 493) ein.

Risikogruppe 3 hatte ein medianes Überleben von 304 Tagen (95%-KI: 255 - 353).

In der „**guten Prognose**“ Gruppe als Zusammenschluss von Risikogruppe 1 und 2 (gepoolt) zeigte sich ein medianes Überleben von 460 Tagen (95%-KI: 300 - 620) im Vergleich zur „**schlechten Prognose**“ Gruppe (Risikogruppe 3) bei einem medianen Gesamtüberleben von 304 Tage (95%-KI: 255 - 353). Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p = 0,004$; Abbildung 43).



Für die Gesamtpopulation war der Einfluss einer chirurgischen Therapie nicht signifikant. Es wurde nachfolgend untersucht, ob eine chirurgische Behandlung sich innerhalb der gefundenen Risikogruppen positiv auf das Überleben der Patienten auswirkt.

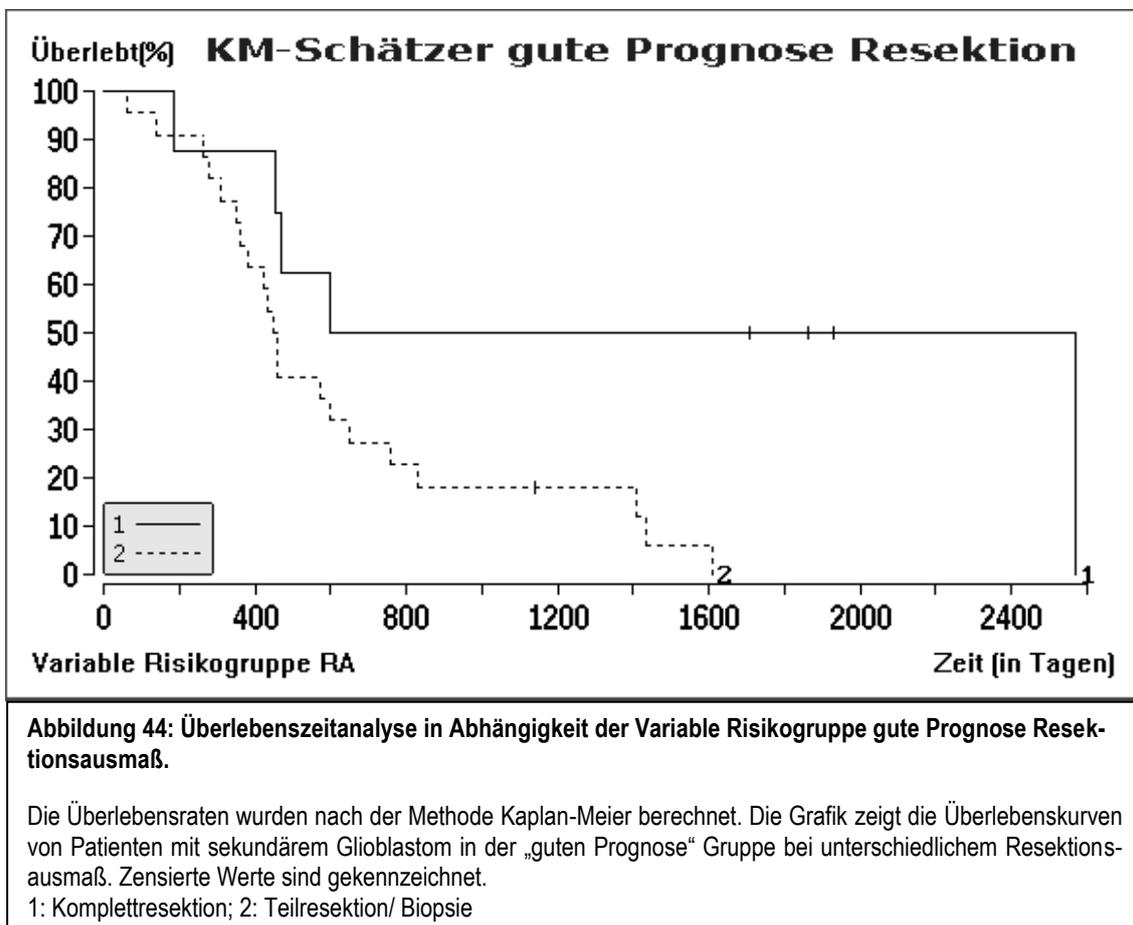
Das mediane Überleben in der Risikogruppe 1 betrug bei Komplettresektion 2568 Tage (95%-KI: 2568 - 2568). Im Vergleich dazu lag das Überleben bei einer inkompletten Resektion/ Biopsie bei 460 Tage (95%-KI: 400 - 520). Es konnte hier ein sich in der univariaten Analyse als deutlicher Trend darstellender Unterschied festgestellt ($p = 0,062$) werden.

Das mediane Überleben in der Risikogruppe 2 (gepoolt) betrug bei Komplettresektion 472 Tage (95%-KI: 329 - 615) im Gegensatz zu 449 Tagen (95%-KI: 343 - 555) bei Teilresektion. Dieser Vergleich war nicht statistisch signifikant ($p > 0,2$).

Bei einer kompletten Resektion wurde ein medianes Überleben von 285 Tagen (95%-KI: 40 - 530) und bei einer subtotalen Resektion ein Überleben von 304

Tagen (95%-KI: 267 - 341) in Risikogruppe 3 erreicht. Der Vergleich war nicht statistisch signifikant ($p > 0,2$, siehe Tabelle 6 im Anhang).

Eine Komplettresektion verbesserte das Gesamtüberleben auf 599 Tage (95%-KI: 0 - 1761) in der „guten Prognose“ Gruppe (Zusammenschluss von Risikogruppe 1 und Risikogruppe 2) von 449 Tagen (95%-KI: 404 - 494) bei subtotaler Resektion oder Biopsie. Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p = 0,02$; Abbildung 44). Es stellte sich eine Risikoreduktion bei Komplettresektion von circa 65 % (HR: 0,3548; 95%-KI: 0,1396 - 0,9020) ein.



4 Diskussion

Es existieren bislang wenig valide Daten zum Outcome von Patienten mit sekundären Glioblastomen. In der Literatur wird das mediane Überleben von Patienten mit primärem Glioblastom mit 15 Monaten beschrieben, wohingegen sekundäre Glioblastompatienten eine längere mediane Überlebenszeit von bis zu 31 Monaten hatten ($p = 0,003$).²⁸ Auch in Bezug auf das mittlere Alter der Patienten unterscheiden sich primäre und sekundäre Glioblastome. Bei primären Glioblastompatienten liegt das mittlere Alter bei 62 Jahren. Patienten mit sekundären Glioblastomen sind i.d.R. jünger.²⁸

Das mediane Überleben der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten betrug 468 Tage, was ca. 15,6 Monaten entspricht, und somit kürzer war als erwartet. Das mittlere Alter der Patienten dieses Kollektivs war mit 45 Jahren hingegen erwartet niedriger als das von Patienten mit primären Glioblastomen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit überraschen insofern, als dass die untersuchten Patienten in der Regel jünger waren, als es Patienten mit primären Glioblastomen üblicherweise sind, und bei primären Glioblastomen jüngeres Alter ein positiver prognostischer Faktor ist. Im untersuchten Kollektiv war die Überlebenszeit nach Diagnosestellung eines sekundären Glioblastoms aber nur geringfügig besser als es nach der Literatur zu erwarten gewesen wäre. Zhang et al. beschrieben für Patienten mit Glioblastom und IDH1 Mutation ($n = 16$) ein medianes Überleben von 24,4 Monaten (entspricht ca. 732 Tagen) und für Patienten ohne Nachweis einer IDH1 Mutation ($n = 78$) ein signifikant kürzeres medianes Überleben von 13,5 Monaten (entspricht ca. 405 Tage). Das mediane Alter dieses Patientenkollektivs betrug 25 Jahre (Range: 17 – 35) bei einem medianen Gesamtüberleben von 14,7 Monaten (ca. 441 Tage).⁴⁸

In der univariaten Analyse der prognostischen Faktoren zeigte sich, dass der Zeitraum zwischen Ursprungsläsion und dem malignen Progress zu einem sekundären Glioblastom einen wesentlichen Einfluss zu haben scheint. Ursächlich dafür könnte sein, dass einerseits die Entität der Ursprungsläsion oder andererseits der Nachweis einer IDH1 Mutation zu einem großen Zeitintervall zum malignen Fortschritt geführt haben. Aus der Gruppe der 26 Patienten, bei denen

ein Zeitraum von mehr als 104 Wochen zwischen Erstdiagnose und Transformation zum sGBM lag, konnte bei 20 Patienten (76,9 %) ein mutiertes IDH1 Protein nachgewiesen werden. Die Quote lag mit 4 von 19 (21 %) bei den Patienten, deren sGBM früher auftrat, deutlich niedriger. Außerdem waren bei 15 von 19 Patienten, bei denen ein Zeitraum von weniger als 104 Wochen zwischen Ursprungsläsion und Glioblastom lagen, initial ein WHO Grad III Tumor nachgewiesen worden. Diese beiden Variablen (IDH1 und WHO Grad) haben in der univariaten Testung für ein längeres Überleben gesprochen.

Der WHO Grad der Ursprungsläsion und die Lokalisation des Glioblastoms konnten auch in der univariaten Analyse als signifikante Einflussfaktoren dargelegt werden. Patienten mit einem WHO Grad II Ursprungstumor oder einer Frontallappenlokalisation hatten ein besseres Überleben als Patienten mit einem WHO Grad III Tumor oder einer anderen Hirnlappenbeteiligung. Die Frontallappenlokalisation könnte unter anderem wegen der weniger lebenswichtigen Funktion des Frontalhirns mit einem besseren Überleben in Verbindung gebracht werden. Zu diesen Frontalhirnfunktionen gehören u.a. die Steuerung von Verhalten, das Arbeitsgedächtnis, Sozialverhalten, Sprache, motorische Funktionen und die Aufmerksamkeitssteuerung.⁴⁹

Weiterhin war zu beobachten, dass Patienten, die eine kombinierte Radiochemotherapie erhielten, ein besseres Gesamtüberleben zeigten, als Patienten, die sich nur einer der beiden Therapieformen unterzogen. Eine Ursache dafür könnte sein, dass aufgrund der Malignität des Glioblastoms und damit der hohen Zellteilungsrate und höherer Aggressivität ein besseres Ansprechen auf die adjuvante Kombinationstherapie gewährleistet werden konnte und damit eine Steigerung des Überlebens. Dafür sprechen auch die Zahlen der Ursprungsläsionen dieser Arbeit, welche mehrheitlich aus WHO Grad III Tumoren mit einem maligneren Verhalten stammen.

In der multivariaten Analyse konnte zudem festgestellt werden, dass eine Mutation des IDH1 (R132H) Proteins in statistisch signifikanter Weise mit einem gesteigerten Gesamtüberleben vergesellschaftet war. Des Weiteren konnten zuvor univariat signifikante Einflussfaktoren in der multivariaten Analyse bestätigt

werden. Dazu zählen ein längeres Gesamtüberleben von Patienten mit einem WHO Grad II Ursprungstumor und einer Frontallappenlokalisation des Glioblastoms.

Dieser positive Effekt einer IDH1 Mutation auf die Dauer zur malignen Transformation und das Gesamtüberleben der Patienten unterstreicht die Bedeutung dieser vor wenigen Jahren erstmalig beschriebenen genetischen Veränderung von Gliomen.⁵ Der Großteil der klinisch klassifizierten primären Glioblastome (de novo) weist keine IDH1 Mutation auf (< 5 %), weswegen eine führende Meinung davon ausgeht, dass eine nachgewiesene IDH1 Mutation eine molekulare Signatur für sekundäre Glioblastome darstellt.

Über die Frage nach dem Grund für die verbesserte Überlebensrate von Patienten mit mutiertem IDH1 (R132H) Protein lassen sich verschiedene Thesen aufstellen. Das gesteigerte Gesamtüberleben bei Patienten mit einem mutierten IDH1 (R132H) Protein könnte daher rühren, dass diese Patienten möglicherweise eine höhere Sensibilität für eine Chemotherapie mit Temozolomid aufweisen. Diese Annahme gründet darauf, dass das Chemotherapeutikum für eine Methylierung von DNA²³ und eine IDH1 Mutation für eine verminderte Demethylierung von hypermethylierten Bereichen der DNA sorgen. Das durch die IDH1 Mutation vermehrt gebildete 2-Hydroxyglutarat sorgt für eine kompetitive Inhibierung von α -Ketoglutarat abhängigen Dioxygenasen, wodurch es zu einer verminderten Demethylierung von hypermethylierten Bereichen auf der DNA und Histonen kommt.³⁸ Es ist außerdem bekannt, dass Temozolomid eine bessere Wirksamkeit zeigt, wenn eine niedrige Aktivität der MGMT nachweisbar ist. Aus diesem Gründen könnten sich eine IDH1 Mutation und die Temozolomidtherapie synergetisch auf die Unterbindung des Tumorwachstums auswirken, da in beiden Fällen vermehrt methylierte DNA entsteht. In diesem Zusammenhang könnte dann von einem prädiktiven Wert einer nachgewiesenen IDH1 Mutation gesprochen werden, weil so eine bessere Wirksamkeit der Chemotherapie vorhergesagt werden kann.⁵⁰ Die beste Konstellation für eine effektive Chemotherapie mit Temozolomid wird dementsprechend eine IDH1 Mutation und eine verminderte MGMT Aktivität sein.

Im untersuchten Patientenkollektiv wurde eine IDH1 Mutation in circa 58,5 % der Patienten gefunden. Demgegenüber wird in der Literatur eine Mutationsfrequenz in sekundären Glioblastomen von circa 83 % beschrieben. Eine Antwort darauf könnte sein, dass sich schon keine Mutation in der ursprünglichen Läsion nachweisen ließ und es somit auch zu keinem Nachweis einer solchen Mutation in dem sekundären Glioblastom kommen konnte. Nicht jede, aber doch ein relativ hoher Prozentsatz niedriggradiger Astrozytom- oder Oligoastrozytom- bzw. Oligodendrogliomläsionen ist positiv für eine IDH1 Mutation. Bei diffusen Astrozytomen (WHO Grad II) liegt die Mutationsrate bei 74 %, bei anaplastischen Astrozytomen (WHO Grad III) bei 59 %, bei anaplastischen Oligoastrozytomen (WHO Grad III) bei 75 % und bei anaplastischen Oligodendrogliomen (WHO Grad III) bei 67 %.³⁶ Da der häufigste Ursprungstumor der in diese Untersuchungen einbezogenen Patienten ein anaplastisches Astrozytom (21 von insgesamt 45 Patienten), gefolgt von diffusen Astrozytomen (n = 16), war, erscheint es nicht abwegig, dass nur etwas mehr als die Hälfte dieser Patienten eine IDH1 Mutation aufwies.

Mit Blick auf die vorausgegangene Studie von Nobusawa, Watanabe et al.³² aus dem Jahr 2009, in der eine IDH1 Mutation als molekulare Signatur und positiver prognostischer Faktor für sekundäre Glioblastome beschrieben wurde, erscheinen die dargestellten Ergebnisse dieser Arbeit in Bezug auf eine IDH1 Mutation als sehr plausibel. Auch die Studie von Nobusawa et al. brachte den Nachweis von mutierter IDH1 (R132H) mit einem besseren Gesamtüberleben in Verbindung und identifizierte es als sehr wichtigen Einflussfaktor. Nobusawa und Kollegen beschrieben für Patienten mit einer IDH1 Mutation ein statistisch signifikant höheres Gesamtüberleben von 27,1 Monaten im Vergleich zu 11,3 Monaten bei keiner IDH1 Mutation. In der Studie wurden insgesamt 36 Glioblastome mit einer IDH1 Mutation analysiert, davon 22 sekundäre Glioblastome (8 sekundäre GBM hatten keine IDH1 Mutation). Durch die oben genannte Studie konnten auch Ergebnisse, die in dieser Arbeit nebenbefundlich erhoben wurden, wie zum Beispiel das jüngere Alter der Patienten (mittleres Alter 47,9 Jahre vs. 60,6 Jahre) bei einer IDH1 Mutation, bestätigt werden. Man muss jedoch beachten, dass Nobusawa et al. nicht nur sekundäre Glioblastome untersucht haben. Untersucht wurden insgesamt 407 Glioblastomgewebe-

proben, davon 377 primären Ursprungs. In der genannten Studie waren die meisten sekundären Glioblastome aus diffusen Astrozytomen entstanden (12 von insgesamt 30 sekundären Glioblastomen vs. 10 anaplastische Astrozytome). Dies war wahrscheinlich der Grund für die etwas höhere IDH1 Mutationsrate der sekundären Glioblastome (61,1 %) im Vergleich zu 58,5 % als Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen.

Es wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit zudem untersucht, ob sich eine IDH1 (R132H) Mutation mit anderen, eventuell sogar das Überleben positiv beeinflussenden, Faktoren korrelieren ließ.

Da das Alter der Patienten in manchen Studien ¹⁷ als wichtiger Einflussfaktor beschrieben wurde, wurde auch dieser im Zusammenhang mit einer IDH1 (R132H) Mutation untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass jüngere Patienten häufiger eine solche IDH1 Mutation aufwiesen.

Der präoperative KPS wird zum Teil in der Literatur ¹⁷ als das Überleben beeinflussend beschrieben. In dieser Analyse konnte kein Überlebensvorteil bei günstigem KPS nachgewiesen werden. Auch die Aussage, dass Patienten mit einem höheren KPS ($KPS \geq 70$) wahrscheinlicher eine IDH1 Mutation aufweisen, ließ sich nicht bestätigen.

Eine weitere Fragestellung bezüglich eines mutierten IDH1 (R132H) Proteins war, ob die Lokalisation des Tumors in einem bestimmten Hirnlappen durch eine vorliegende IDH1 (R132H) Mutation beeinflusst wurde. Die Lokalisation des Tumors im Frontallappen zeigte zuvor schon in der univariaten Analyse statistische Signifikanz zu einem besseren Überleben ($p = 0,031$). Die Annahme, dass IDH1 Mutationen hauptsächlich bei im Frontallappen lokalisierten Tumoren auftraten (siehe oben), fand keine Bestätigung. Häufiger kam eine IDH1 Mutation bei Tumoren im Temporallappen vor, jedoch ohne Überlebensvorteil. Der Grund hierfür könnte sein, dass die Lokalisation ein weniger ins Gewicht fallender Einflussfaktor war als die IDH1 Mutation im Zusammenspiel mit den anderen Einflussfaktoren.

Die adjuvante Therapie, welche entweder aus einer Chemotherapie (meistens systemisch mit Temozolomid), einer Strahlenbehandlung oder der Kombination aus beidem erfolgen kann, hatte einen wichtigen Einfluss auf das Gesamtüberleben der sekundären Glioblastompatienten.

Patienten, die keine adjuvante Therapie ($n = 1$) oder nur eine Bestrahlung ($n = 1$) bekamen, waren einer statistischen Auswertung nicht zugänglich, deshalb bezieht sich die Diskussion auf die Frage, ob eine Kombinationstherapie von Chemotherapie und Bestrahlung oder die alleinige Chemotherapie vorteilhafter in Bezug auf das Überleben der Patienten ist.

In den Studien von Stupp und Kollegen in den Jahren 2005 und 2009^{14,15} wurde beschrieben, dass sich eine kombinierte Radiochemotherapie mit Temozolomid positiv auf das Gesamtüberleben auswirkt, jedoch differenzierten sie nicht zwischen primären und sekundären Glioblastomen.

Unter einer Kombinationsbehandlung zeigte sich bei den untersuchten sekundären Glioblastompatienten eine statistisch hoch signifikante ($p < 0,001$) Steigerung des Gesamtüberlebens von 380 Tagen (95%-KI: 277 - 483) auf 611 Tage (95%-KI: 329 - 893). Die Kombinationsbehandlung war insofern deutlich effektiver als eine alleinige Chemotherapie. Einschränkend muss aber beachtet werden, dass die adjuvante Therapie von Patienten mit sGBM nicht standardisiert war oder ist, und dass verschiedene chemotherapeutische Strategien verfolgt wurden oder werden. Jüngste Studienergebnisse haben gezeigt, dass Patienten mit einer 1p/19q Codeletion besonders gut auf eine PCV-Chemotherapie ansprechen⁵¹, wohingegen Patienten mit einer MGMT-Promotormethylierung i.d.R. Temozolomid-Chemotherapie zugänglich sind.

Hinzu kommt, dass Patienten mit sekundärem Glioblastom in der Regel schon nach Diagnosestellung der initialen Läsion (niedriggradiger oder anaplastischer Hirntumor) eine adjuvante Therapie bekommen haben. Seit 2005 ist das Chemotherapeutikum Temozolomid für die Behandlung von Gliomen erste Wahl, wobei auch nicht alle in diese Untersuchung einbezogenen Patienten (77,7 %)

eine TMZ-Therapie bekamen. Ein Grund dafür ist der Beobachtungszeitraum vor 2005, in dem Patienten mit anderen Chemotherapeutika behandelt wurden. Aus diesem Grund war der Einfluss einer vorangegangenen Chemotherapie schwierig zu deuten und nicht sonderlich valide. Was aber als Einflussgröße in Bezug auf eine vorherige adjuvante Therapie berücksichtigt und diskutiert werden kann, ist die Bestrahlung. Anhand der Ergebnisse kann man konstatieren, dass eine strahlentherapeutische Vorbehandlung einen negativen Einfluss auf das Gesamtüberleben hatte im Vergleich zu Patienten, die nicht strahlentherapeutisch vorbehandelt waren (380 vs. 759 Tage, $p = 0,017$). Die Strahlentherapie stellt einen wichtigen Baustein im Konzept der adjuvanten Therapie bei sekundären Glioblastomen dar, jedoch wird ihr positiver Effekt vermindert, sofern Patienten bereits strahlentherapeutisch vorbehandelt sind. Trotzdem sollten auch Patienten, welche bereits bei der niedriggradigen oder anaplastischen Läsion bestrahlt wurden, sich einer Radiotherapie unterziehen, auch wenn der positive Effekt der Radiotherapie des sGBMs vermindert sein könnte, denn eine Strahlenbehandlung per se zeigte (statistisch signifikant) verlängerte Überlebensraten. Vor allem bei Patienten mit nicht mutierter IDH1 beschreiben die Daten einen Trend dahingehend, dass diese Patienten von einer Rebestrahlung profitieren (421 vs. 327 Tage, $p = 0,157$).

Auf der einen Seite ist bekannt, dass Gliome keine besonders hohe Strahlensensitivität besitzen, jedoch gehört andererseits die Strahlentherapie mit zu den lebensverlängernden Maßnahmen.¹² Die Strahlentherapie bewirkt eine Zerstörung der DNA (Doppelstrangbrüche) durch Erschaffung von freien Radikalen durch die Ionisierung von Wassermolekülen. Man könnte annehmen, dass durch eine Vorbestrahlung des initialen Hirntumors die Strahlensensitivität des sekundären Glioblastoms noch weiter gesenkt wird, nämlich dadurch, dass das Glioblastom, das meist genau an derselben Stelle entsteht wie die Ursprungsläsion, bessere DNA-Reparaturmechanismen für DNA-Doppelstrangbrüche etabliert hat und sich so gegenüber Strahlentherapie resistenter zeigt. Des Weiteren ist bekannt, dass eine Strahlentherapie zu einer sekundären Entartung von Zellen respektive einer beschleunigten Entstehung von Sekundärmalignomen führen kann.⁴⁵ Dies könnte erklären, warum Patienten ohne Vorbestrahlung ein längeres Überleben aufwiesen.

Entgegen vieler Daten bei primären Glioblastomen war eine Kompletresektion nicht mit einem statistisch signifikanten Überlebensvorteil vergesellschaftet. Grund dafür könnte v.a. die niedrige Fallzahl sein. Lediglich für die Subgruppe der IDH1 Mutation zeigte eine Kompletresektion einen starken statistischen Trend ($p = 0,057$) zu einer Verbesserung des Überlebens.

Einen weiteren interessanten Ansatz lieferte der Vergleich des Resektionsausmaßes in Bezug auf die zuvor ermittelten Risikogruppen (siehe Tabelle 7 im Anhang). Danach konnten die Chancen und Risiken einer Resektion bei Patienten beurteilt werden, bei denen durch die vorliegenden Einflussfaktoren (vgl. Abbildung 45 im Anhang) eine gute oder schlechte Überlebensprognose zu stellen war. Der Vergleich der Risikogruppen untereinander bei Betrachtung des Resektionsausmaßes untermauerte die Einteilung der Risikogruppen von einer guten Prognose in Risikogruppe 1 bis hin zu einer schlechten Prognose in Risikogruppe 3. Lediglich in der letzten Gruppe war kein Effekt eines chirurgischen Vorgehens in Hinblick auf das Gesamtüberleben festzustellen.

Durch eine systematische Vorauswahl der Patienten, welche am wahrscheinlichsten von einer Kompletresektion profitieren könnten, würden nur die Patienten den Risiken einer Operation ausgesetzt werden, welche augenscheinlich und statistisch nachweisbar einen Nutzen davon haben würden. Die vor jeder Operation anzustellende Risiko-Nutzen-Abwägung könnte durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützt werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit müssen aber sicherlich an einem größeren Patientenkollektiv validiert werden.

Durch Erarbeitung eines Risikodiagramms wurde schließlich versucht, Patienten mit einem neu diagnostizierten sekundären Glioblastom eine valide Prognose anhand der patientenspezifischen Einflussfaktoren vor Einleitung einer adjuvanten Therapie zu liefern. Eine solche Risikostratifizierung ist vor allem bei sekundären Glioblastomen bedeutsam, da die Prognose sehr unterschiedlich ist und, anders als bei primären Glioblastomen, (noch) keine standardisierte Therapie für diese Patienten existiert. Ein Grund dafür ist einerseits die unterschiedliche Morphologie des Ursprungstumors, aus dem das sekundäre Glioblastom entstanden ist, und zum anderen die verschiedene Vorbehandlung der Vorläu-

ferläsion. In der Literatur sind bislang der Einfluss des WHO Grades des ursprünglichen Glioms und das Zeitintervall zwischen Primärdiagnose und Nachweis eines sekundären Glioblastoms wenig beachtet worden.

Die Auswahl der Einflussfaktoren für die Risikostratifizierung war anhand der signifikantesten p-Werte in der univariaten Signifikanzanalyse getroffen worden. Zunächst entschied der Zeitraum zwischen Ursprungsläsion und sekundärem Glioblastom über die Prognose, da bei einem Zeitraum von weniger als 104 Wochen von einem aggressiveren Wachstum des Tumors ausgegangen wurde. Die getroffene Risikostratifizierung in zwei prognostische Gruppen gälte es nun an einem größeren Patientenkollektiv zu validieren.

Als Limitation dieser Arbeit ist zunächst die geringe Patientenzahl anzuführen, welche über einen längeren Beobachtungszeitraum vergrößert werden könnte. Eine Vergrößerung des Patientenkollektivs bei längerer Beobachtungszeit könnte demnach nicht nur eine statistische Tendenz vermuten lassen, sondern auch eine statistische Signifikanz bei manchen Ergebnissen ergeben. Eine retrospektive Datenanalyse birgt angesichts relativ alter Patientendaten ein potentielles Defizit in der Qualität und Quantität der herangezogenen Daten in sich, weil Daten nicht vollständig und nicht unter der spezifischen fachwissenschaftlichen Fragestellung dokumentiert worden sind. So waren zum Beispiel teilweise keine Informationen zu vorausgegangenen Therapien oder dem IDH1 Status mehr vorhanden oder ermittelbar.

Eine andere Limitation dieser Arbeit kann bei der Detektion einer IDH1 Mutation nur über die immunhistochemische Färbung mit einem spezifischen R132H Antikörper ergeben, da die übrigen IDH1 oder auch IDH2 Mutationen nicht beurteilt werden können. Eine IDH1 (R132H) Mutation kommt zwar am häufigsten, jedoch nicht ausschließlich, an dieser Position vor.

Bei der histopathologischen Untersuchung konnte in dieser Arbeit eine 1p/19q Mutation nicht mit einbezogen werden, was unter anderem auf das teilweise hohe Alter der Gewebeproben zurückzuführen war. Andererseits ist aber beschrieben, dass das Auftreten einer solchen Mutation bei sekundären

Glioblastomen relativ selten vorkommt und häufig mit Oligodendrogliomen Grad II und Grad III assoziiert ist.⁴⁷ In dem Patientenstamm, der in dieser Arbeit zugrundeliegenden Untersuchung einbezogen wurde, kam jedoch nur ein Patient mit einem in der Vorgeschichte beschriebenen anaplastischen Oligodendrogliom vor.

Eine weitere Limitation bei der Frage nach der Aussagekraft der Ergebnisse in Bezug auf das Resektionsausmaß ist, dass nicht alle Untersuchungen von einem oder der selben Gruppe von Radiologen befundet worden sind. Gleiches gilt angesichts des retrospektiven Studiendesigns für die Untersuchung des KPS Scores, der nicht vom selben Untersucher erhoben worden ist.

Um weitere wichtige Einflussfaktoren in Bezug auf das Gesamtüberleben zu ermitteln, könnte man in zukünftigen Studien einen MGMT- Status des Tumorgewebes mit in die Auswertung einfließen lassen. Dazu gibt es Quellen in der Literatur⁴¹, die konstatieren, dass das Ansprechen auf eine Temozolomid-Chemotherapie und eine IDH1 Mutation sich bei Vorliegen von MGMT-Methylierung synergistisch auf das Gesamtüberleben auswirken und somit einen wichtigen Platz in der Risiko- und Prognoseabschätzung einnehmen könnten. Außerdem könnte dadurch ein Zusammenhang zwischen dem Ansprechen einer Chemotherapie und dem IDH1 Status eruiert werden. Das gemeinsame Auftreten einer IDH1 Mutation und einer 1p/19q Deletion sollte auch in zukünftigen Arbeiten berücksichtigt und untersucht werden, da eine solche Deletion mit einem längeren Gesamtüberleben bei sekundären Glioblastompatienten beschrieben wurde.⁴¹ Des Weiteren könnte durch eine genaue Kenntnis der metabolischen Stoffwechselwege des Tumorgewebes und Wechselwirkungen der durch die IDH1 Mutation entstehenden Produkte neue Therapieansätze gefunden werden. Ein möglicher Ansatzpunkt ist in dieser Hinsicht das 2-Hydroxyglutarat, welches jetzt schon Gegenstand solcher Forschung ist.

5 Zusammenfassung

Prognostische Faktoren und das Outcome von Patienten mit einem primären Glioblastom sind in der Fachliteratur gut beschrieben. Im Gegensatz dazu gibt es wenige vergleichbare Informationen zu Patienten mit einem sekundären Glioblastom. Das Ziel dieser Arbeit war es, das Outcome von Patienten mit einem sekundären Glioblastom zu beurteilen und prognostische Faktoren in Bezug auf das Gesamtüberleben zu identifizieren.

Dazu wurde die interne Datenbank des Universitätsklinikums Frankfurt/Main von Patienten mit Hirntumoren retrospektiv nach klinischen Daten durchsucht. Alle Patienten hatten ein histologisch gesichertes WHO Grad II oder III Gliom und anschließend ein WHO Grad IV sekundäres Glioblastom. Paraffiniertes Hirntumorgewebe wurde auf Mutationen der Isocitrat Dehydrogenase-1 (IDH1) mittels einer immunhistochemischen Färbung mit einem R132H (clone H09) spezifischen Antikörper untersucht. Eine uni- und multivariate statistische Analyse wurde durchgeführt, um Faktoren zu ermitteln, die potentiell das Gesamtüberleben beeinflussen könnten.

Es wurden 45 Patienten mit einem histologisch gesicherten sekundären Glioblastom untersucht. Das mediane Alter betrug 41 Jahre. 14 Patienten unterzogen sich einer radiologisch kompletten Resektion des sekundären Glioblastoms, 31 Patienten wurden subtotal reseziert oder biopsiert. Initial ist bei 37 Patienten ein astrozytärer Tumor nachgewiesen worden und die restlichen Patienten litten an Oligodendrogliomen oder gemischten Gliomen; bei der initialen Diagnose wurden 17 WHO Grad II und 28 WHO Grad III Tumoren festgestellt. Die mediane Zeit zwischen Ursprungstumor und dem Auftreten des sekundären Glioblastoms betrug 158,9 Wochen. Das mediane Gesamtüberleben betrug 445 Tage nach der Diagnose eines sekundären Glioblastoms. Mutationen des IDH1 (R132H) Proteins wurden bei 24 Patienten festgestellt und fehlten bei 17 Patienten; bei 4 Patienten konnte keine IDH1 immunhistochemische Färbung durchgeführt werden.

In der univariaten Analyse konnte der Zeitraum zwischen initialer Läsion und dem Progress zu einem sekundären Glioblastom als statistisch signifikanter

Einflussfaktor identifiziert werden- Patienten mit einem Zeitraum von mehr als 2 Jahren hatten ein besseres Gesamtüberleben (460 vs. 327 Tage, $p = 0,011$). Außerdem konnte bei Patienten, die eine kombinierte Radiochemotherapie bekamen, ein besseres Gesamtüberleben nachgewiesen werden als bei Patienten, welche ausschließlich eine Therapieform erhielten (611 vs. 380 Tage, $p < 0,001$). Weiterhin konnten ein WHO Grad II Ursprungstumor (472 vs. 421 Tage, $p = 0,05$) und eine Frontallappenlokalisation des Glioblastoms (472 vs. 425 Tage, $p = 0,031$) das Überleben steigern.

In der multivariaten Analyse konnte gezeigt werden, dass die Mutation des IDH1 (R132H) Proteins in statistisch signifikanter Weise mit einem längeren Gesamtüberleben assoziiert war ($p = 0,012$); statistische Signifikanz für ein längeres Gesamtüberleben bei Patienten mit initial einem WHO Grad II ($p = 0,047$) und einer Frontallappenlokalisation des Glioblastoms ($p = 0,042$) stellte sich auch ein. In Bezug auf die Patienten spezifischen Daten wurden zwei Prognosegruppen erstellt; Patienten in der guten Prognosegruppe scheinen einen Benefit von einer totalen Tumoresektion zu haben ($p = 0,02$), während eine Resektion für die andere Prognosegruppe keine große Rolle spielte ($p = 0,926$).

Trotz des relativ geringen Erkrankungsalters haben sekundäre Glioblastom Patienten eine schlechte Prognose. Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstreichen die Wichtigkeit und den prognostischen Wert der IDH1 Diagnostik, die Notwendigkeit einer kombinierten Radiochemotherapie und eine Risikostratifizierung für eine Prognoseabschätzung anhand der Patienten spezifischen Einflussfaktoren.

6 Summary

Prognostic factors and outcome of patients with primary glioblastoma are well reported. In contrast, there is limited comparable information about patients with secondary glioblastoma. The goal of this work was to report on the outcome of patients with secondary glioblastoma and to identify prognostic factors in terms of the overall survival.

We retrospectively analyzed the institutional database of the university hospital Frankfurt/Main of brain tumor patients for clinical patient data. All patients had histological proof of WHO II or III glioma and subsequent WHO IV secondary glioblastoma. Using paraffin embedded tissue, we screened for mutations of the isocitrate dehydrogenase-1 (IDH1) using immunohistochemical staining with an R132H (clone H09) specific antibody. We performed uni- and multivariate analyses to identify factors potentially affecting survival.

We analyzed 45 patients with histologically proven secondary glioblastoma. The median age was 41 years. 14 patients underwent radiologically complete resection of the secondary glioblastoma, 31 underwent subtotal resection or biopsy only. Initially, 37 patients had astrocytic tumors, the other suffered from oligodendrogliomas or mixed gliomas; at first diagnosis, there were 17 WHO II and 28 were WHO III tumors. The median time between first glioma diagnosis and occurrence of a secondary glioblastoma was 158.9 weeks; median overall survival following diagnosis of a secondary glioblastoma was 445 days. IDH1 mutations were present in 24 patients and absent in 17; in 4 patients, immunohistochemical staining could not be performed.

On univariate analysis, time between first diagnosis and progression to secondary glioblastoma was a statistically significant factor – patients with an interval greater than 2 years had a better overall survival (460 vs. 327 days, $p = 0.011$). Also, patients receiving combined adjuvant radio- and chemotherapy did better than those who only had either therapy (611 vs. 380 days, $p < 0.001$). Furthermore, an initial WHO II tumor (472 vs. 421 days, $p = 0.05$) and a frontal lobe location of the glioblastoma (472 vs. 425 days, $p = 0.031$) were related to a better prognosis.

Following multivariate analysis, an IDH1 (R132H) mutation was associated with longer survival ($p = 0.012$); likewise, patients with initial WHO II tumors ($p = 0.047$) and frontal lobe involvement of the secondary glioblastoma ($p = 0.042$) showed a better prognosis. Using patient specific data, we established two prognostic groups; patients in the good prognosis group appeared to benefit from complete tumor removal ($p = 0.02$) while resection did not play a role for the other patients ($p = 0.926$).

Although of relatively young age, prognosis of patients with secondary glioblastoma is dismal. The results of this work underline the importance and the prognostic value of the IDH1 diagnostic investigation, the necessity of a combined radio- and chemotherapy and a risk stratification to evaluate the prognosis by patient specific data.

7 Literaturverzeichnis

1. Virchow Rudolf. *Cellular Pathology as Based Upon Physiological and Pathological Histology*. London, Großbritannien: John Churchill; 1860.
2. Bailey P CH. A Classification of the Tumours of the Glioma Group on a Histogenetic Basis With a Correlated Study of Prognosis. 1926.
3. SVIEN HJ, MABON RF. A simplified classification of the gliomas, based on the concept of anaplasia. *Surg. Clin. North Am.* 1949;29(4):1169-1187.
4. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol.* 2007;114(2):97-109. doi:10.1007/s00401-007-0243-4.
5. Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science.* 2008;321(5897):1807-1812. doi:10.1126/science.1164382.
6. Robert-Koch-Institut. Krebs in Deutschland 2011/2012. http://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2015/krebs_in_deutschland_2015.pdf?__blob=publicationFile. Updated December 17, 2015. Accessed July 4, 2016.
7. Ostrom QT, Gittleman H, Fulop J, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro-oncology.* 2015;17 Suppl 4: iv1-iv62 doi: 10.1093/neuonc/nov189.
8. Kelly KA, Kirkwood JM, Kapp DS. Glioblastoma multiforme: pathology, natural history and treatment. *Cancer Treat. Rev.* 1984;11(1):1-26.
9. Karnofsky DA BJH. The Clinical Evaluation of Chemotherapeutic Agents in Cancer. *MacLeod CM (Ed).* 1949:196.
10. Arthur K. Asbury GMMWIMPJGJCM. *Diseases of the nervous system: Clinical neuroscience and therapeutic principles*. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2002.
11. Faehndrich J, Weidauer S, Pilatus U, Oszvald A, Zanella FE, Hattingen E. Neuroradiological Viewpoint on the Diagnostics of Space-Occupying Brain Lesions. *Clin Neuroradiol.* 2011;21(3):123-139. doi:10.1007/s00062-011-0073-6.
12. M. Weller. Interdisziplinäre S 2 – Leitlinie für die Diagnostik und Therapie der Gliome des Erwachsenenalters. http://www.krebsgesellschaft.de/download/ebm-leitlinie_gliome.pdf. Updated March 1, 2014. Accessed February 10, 2015.
13. Böcker W, Denk H, Heitz PU, Aguzzi A. *Pathologie: Mit 164 Tabellen*. 3rd ed. München [u.a.]: Urban & Fischer; 2004.
14. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2005;352(10):987-996. doi:10.1056/NEJMoa043330.
15. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, et al. 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. *Lancet Oncol.* 2009;10(5):459-466. doi:10.1016/S1470-2045(09)70025-7.
16. Bady P, Sciuscio D, Diserens A, et al. MGMT methylation analysis of glioblastoma on the Infinium methylation BeadChip identifies two distinct CpG regions associated with gene silencing and outcome, yielding a predic-

- tion model for comparisons across datasets, tumor grades, and CIMP-status. *Acta Neuropathol.* 2012;124(4):547-560. doi:10.1007/s00401-012-1016-2.
17. Preusser M, Ribaupierre S de, Wöhrer A, et al. Current concepts and management of glioblastoma. *Ann. Neurol.* 2011;70(1):9-21. doi:10.1002/ana.22425.
 18. Sanai N, Polley M, McDermott MW, Parsa AT, Berger MS. An extent of resection threshold for newly diagnosed glioblastomas. *J. Neurosurg.* 2011;115(1):3-8. doi:10.3171/2011.2.JNS10998.
 19. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen H. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol.* 2006;7(5):392-401. doi:10.1016/S1470-2045(06)70665-9.
 20. Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC. *Biochemie und Pathobiochemie.* 8th ed. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2007.
 21. Senft C, Bink A, Franz K, Vatter H, Gasser T, Seifert V. Intraoperative MRI guidance and extent of resection in glioma surgery: a randomised, controlled trial. *Lancet Oncol.* 2011;12(11):997-1003. doi:10.1016/S1470-2045(11)70196-6.
 22. McGirt MJ, Than KD, Weingart JD, et al. Gliadel (BCNU) wafer plus concomitant temozolomide therapy after primary resection of glioblastoma multiforme. *J. Neurosurg.* 2009;110(3):583-588. doi:10.3171/2008.5.17557.
 23. Villano JL, Seery TE, Bressler LR. Temozolomide in malignant gliomas: current use and future targets. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2009;64(4):647-655. doi:10.1007/s00280-009-1050-5.
 24. European Medicines Agency. Temozolomide, INN-temozolomide. http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000229/WC500035621.pdf. Updated October 3, 2014. Accessed February 10, 2015.
 25. Peiffer J, Kleihues P. Hans-Joachim Scherer (1906-1945), pioneer in glioma research. *Brain Pathol.* 1999;9(2):241-245.
 26. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic Pathways to Primary and Secondary Glioblastoma. *The American Journal of Pathology.* 2007;170(5):1445-1453. doi:10.2353/ajpath.2007.070011.
 27. Zhu Y, Parada LF. The Molecular and Genetic Basis of Neurological Tumours. *Nat. Rev. Cancer.* 2002;2(8):616-626. doi:10.1038/nrc866.
 28. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, et al. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res.* 2004;64(19):6892-6899. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-1337.
 29. Lim S, Llaguno SRA, McKay RM, Parada LF. Glioblastoma multiforme: a perspective on recent findings in human cancer and mouse models. *BMB Reports.* 2011;44(3):158-164. doi:10.5483/BMBRep.2011.44.3.158.
 30. Benjamin R, Capparella J, Brown A. Classification of glioblastoma multiforme in adults by molecular genetics. *Cancer J.* 2003;9(2):82-90.
 31. Nakamura M, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Promoter hypermethylation of the RB1 gene in glioblastomas. *Lab. Invest.* 2001;81(1):77-82.
 32. Nobusawa S, Watanabe T, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 mutations as molecular signature and predictive factor of secondary glioblastomas. *Clin. Cancer Res.* 2009;15(19):6002-6007. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0715.
 33. Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N. Engl. J. Med.* 2009;360(8):765-773. doi:10.1056/NEJMoa0808710.

34. Ichimura K, Pearson DM, Kocialkowski S, et al. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro-oncology*. 2009;11(4):341-347. doi:10.1215/15228517-2009-025.
35. Capper D, Weissert S, Balss J, et al. Characterization of R132H mutation-specific IDH1 antibody binding in brain tumors. *Brain Pathol*. 2010;20(1):245-254. doi:10.1111/j.1750-3639.2009.00352.x.
36. Hodges TR, Choi BD, Bigner DD, Yan H, Sampson JH. Isocitrate dehydrogenase 1: what it means to the neurosurgeon: a review. *J. Neurosurg*. 2013;118(6):1176-1180. doi:10.3171/2013.3.JNS122282.
37. Frezza C, Tennant DA, Gottlieb E. IDH1 mutations in gliomas: when an enzyme loses its grip. *Cancer Cell*. 2010;17(1):7-9. doi:10.1016/j.ccr.2009.12.031.
38. Xu W, Yang H, Liu Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell*. 2011;19(1):17-30. doi:10.1016/j.ccr.2010.12.014.
39. Lee SM, Koh H, Park D, Song BJ, Huh T, Park J. Cytosolic NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase status modulates oxidative damage to cells. *Free Radic. Biol. Med*. 2002;32(11):1185-1196.
40. Ichimura K, Pearson DM, Kocialkowski S, et al. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro-oncology*. 2009;11(4):341-347. doi:10.1215/15228517-2009-025.
41. SongTao Q, Lei Y, Si G, et al. IDH mutations predict longer survival and response to temozolomide in secondary glioblastoma. *Cancer Sci*. 2012;103(2):269-273. doi:10.1111/j.1349-7006.2011.02134.x.
42. Bratthauer GL. The avidin-biotin complex (ABC) method and other avidin-biotin binding methods. *Methods Mol. Biol*. 2010;588:257-270. doi:10.1007/978-1-59745-324-0_26.
43. Ahmed H. *Principles and reactions of protein extraction, purification, and characterization*. Boca Raton: CRC Press; 2005.
44. Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM. *Gray's anatomy for students*. 3rd edition.
45. Kumar S. Second malignant neoplasms following radiotherapy. *Int J Environ Res Public Health*. 2012;9(12):4744-4759. doi:10.3390/ijerph9124744.
46. Ohgaki H, Kleihues P. The Definition of Primary and Secondary Glioblastoma. *Clinical Cancer Research*. 2013;19(4):764-772. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-3002.
47. Riemenschneider MJ, Hegi ME, Reifenberger G. MGMT promoter methylation in malignant gliomas. *Target Oncol*. 2010;5(3):161-165. doi:10.1007/s11523-010-0153-6.
48. Zhang R-Q, Shi Z, Chen H, et al. Biomarker-based prognostic stratification of young adult glioblastoma. *Oncotarget*. 2016;7(4):5030-5041. doi:10.18632/oncotarget.5456.
49. Förstl H. *Frontalhirn: Funktionen und Erkrankungen*. 2nd ed. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2005.
50. Tran AN, Lai A, Li S, et al. Increased sensitivity to radiochemotherapy in IDH1 mutant glioblastoma as demonstrated by serial quantitative MR volumetry. *Neuro-oncology*. 2014;16(3):414-420. doi:10.1093/neuonc/not198.
51. Weller M, Stupp R, Hegi ME, et al. Personalized care in neuro-oncology coming of age: why we need MGMT and 1p/19q testing for malignant glioma patients in clinical practice. *Neuro-oncology*. 2012;14 Suppl 4:iv100-8. doi:10.1093/neuonc/nos206.

8 Anhang

Risikogruppen	
• <u>Gruppe 1</u> (>104Wo, Grad II, IDH1 pos.)	Medianes Überleben: 759 Tage → gute Prognose
• <u>Gruppe 2a</u> (>104Wo, Grad II, IDH1 neg.)	Medianes Überleben: 472 Tage
<u>Gruppe 2b</u> (>104Wo, Grad III)	Medianes Überleben: 459 Tage
<u>Gruppe 2c</u> (≤104Wo, Frontal)	Medianes Überleben: 421 Tage → mittlere Prognose
• <u>Gruppe 3</u> (≤104Wo, Andere)	Medianes Überleben: 304 Tage → schlechte Prognose

Abbildung 45: Risikogruppen

Tabelle 3: Übersicht Gesamtüberleben in Bezug auf Einflussfaktoren.

KPS=Karnofsky Index; IDH1= Isocitrat Dehydrogenase-1

Einflussfaktor		Anzahl n	Medianes Über- leben (in Tagen); KI	p-Wert	Relative Hazard (KI)
Alter	≤ 41 Jahre	23	468 (432 - 504)	0,521	0,8229 (0,4465 - 1,5166)
	> 41 Jahre	22	421 (342 - 500)		
Geschlecht	Männlich	29	432 (318 - 546)	0,677	1,1445 (0,6005 - 2,1814)
	Weiblich	16	459 (367 - 551)		
Präoperativer KPS	≥ 90	22	432 (395 - 469)	0,583	0,8431 (0,4536 - 1,5670)
	< 90	21	380 (156 - 604)		
IDH1 (R132H) Mutation	Mutiert	24	468 (293 - 643)	0,096	0,5881 (0,3092 - 1,1185)
	Wildtyp	17	421 (289 - 553)		
Lokalisation 1	Rechts	20	432 (397 - 467)	0,374	1,3122 (0,7116 - 2,4198)
	Links	25	459 (281 - 637)		

8 Anhang

Lokalisation 2	Frontal	15	472 (185 - 759)	0,031	0,4878 (0,2481 - 0,9593)
	Andere	30	425 (300 - 550)		
Multifokalität	Ja	8	432 (0 - 1169)	0,262	0,6485 (0,2893 - 1,4535)
	Nein	37	445 (358 - 532)		
Resektionsausmaß	Total	14	453 (367 - 539)	0,122	0,5974 (0,8453 - 1,1830)
	Subtotal/ Biopsie	31	432 (354 - 510)		
Adj. Therapie	Chemo+ Bestrahlung	23	611 (329 - 893)	<0,001	0,3620 (0,1984 - 0,6608)
	Nur Chemo	20	380 (277 - 483)		
Chemotherapie	Ja	43	449 (405 - 493)	0,039	0,2553 (0,0684 - 0,9521)
	Nein	2	196 (k.A.)		
Bestrahlung	Ja	24	472 (246 - 698)	<0,001	0,3736 (0,2074 - 0,6727)
	Nein	21	380 (275 - 485)		
Ursprungsläsion 1	Astrozytom	37	445 (400 - 490)	0,523	0,7710 (0,3426 - 1,7353)
	Andere	8	352 (177 - 527)		
Ursprungsläsion 2	WHO Grad II	17	472 (231 - 713)	0,050	0,5409 (0,2865 - 1,0212)
	WHO Grad III	28	421 (301 - 541)		
Zeitraum	> 104 Wochen	26	460 (311 - 609)	0,011	0,4737 (0,2600 - 0,8630)
	≤ 104 Wochen	19	327 (160 - 493)		

Tabelle 4: Übersicht Rebestrahlung und IDH1 (R132H) Mutation.

ReXRT= Rebestrahlung; IDH1=Isocitrat Dehydrogenase -1; Gruppe in Klammern

	Anzahl n	Medianes Überleben (in Tagen); KI	p-Wert	Relative Hazard (KI)
IDH1 Mutation ReXRT (1)	7	363 (335 - 391)	0,712	1,1892 (0,4619 - 3,0612)
Keine ReXRT (2)	17	599 (422 - 776)		
Keine IDH1 Mutation ReXRT (3)	2	421 (KI nicht berechenbar)	0,157	0,2667 (0,0404 - 1,7625)
Keine ReXRT (4)	14	327 (197 - 457)		

Tabelle 5: Übersicht IDH1 (R132H) Mutation und Resektionsausmaß.

GTR= Totalresektion; STR= Teilresektion; NR= Keine Resektion/ Biopsie; IDH1= Isocitrat Dehydrogenase-1; Gruppe in Klammern

	Anzahl n	Medianes Überleben (in Tagen); KI	p-Wert	Relative Hazard (KI)
IDH1 Mutation GTR (1)	6	599 (0 - 1868)	0,057	0,3901 (0,1365 - 1,1147)
STR/NR (2)	18	460 (385 - 535)		
Keine IDH1 Mutation GTR (3)	6	425 (64 - 786)	0,201	0,5294 (0,1872 - 1,4971)
STR/NR (4)	11	380 (259 - 501)		

Tabelle 6: Übersicht Risikogruppen und Resektionsausmaß.

GTR= Totalresektion; STR= Teilresektion; NR= Keine Resektion/ Biopsie

		Anzahl n	Medianes Überleben (in Tagen); KI	p-Wert	Relative Hazard (KI)
Risikogruppe 1	GTR	4	2568 (2568 - 2568)	0,062	0,2630 (0,0573 - 1,2075)
	STR/NR	5	460 (400 - 520)		
Risikogruppe 2	GTR	4	472 (329 - 615)	0,303	0,5337 (0,1587 - 1,7953)
	STR/NR	17	449 (343 - 555)		
Risikogruppe 3	GTR	5	285 (40 - 530)	0,926	0,9525 (0,3116 - 2,9112)
	STR/NR	8	304 (267 - 341)		

Tabelle 7: Übersicht Rebestrahlung.

XRT= Radiotherapie; IG= Ursprungsläsion; sGBM= sekundäres Glioblastom

		Anzahl n	Medianes Überleben (in Tagen); KI
XRT IG	XRT sGBM	9	421 (252 - 590)
	Keine XRT sGBM	21	380 (275 - 485)
Keine XRT IG	XRT sGBM	13	759 (503 - 1015)
	Keine XRT sGBM	0	

9 Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle *Herrn Professor Dr. med. Dr. med. habil. Christian Senft* für die Überlassung des Themas, für die vielen fachlichen Diskussionen und weiterführenden Hinweise und nicht zuletzt für die Geduld, mit der er mich durch alle Probleme, die sich im Rahmen dieser Arbeit ergaben, geführt hat. Außerdem bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern der Neurochirurgischen Klinik Frankfurt am Main für die tatkräftige Unterstützung.

Des Weiteren möchte ich mich bei *Herrn Professor Dr. med. Michel Mittelbronn* und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Neurologischen Instituts Frankfurt am Main für die gute Zusammenarbeit bedanken. Frau *Natalie Filmann* aus dem Institut für Biostatistik und mathematische Modellierung Frankfurt am Main hat mir bei statistischen Auswertungen freundlich zur Seite gestanden, wofür ich mich herzlich bedanke.

10 Curriculum vitae

Johannes Zappi

Persönliche Daten

geboren am 25.03.1989 in Kassel
ledig, keine Kinder

Beruf

Ab 02/2016 Chirurgie, Kantonsspital Baselland Liestal (CH), Abteilung
Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie, Leitung Prof.
Dr. med. R. Rosenberg

Studium

2009-2015 Studium der Humanmedizin an der Goethe- Universität
Frankfurt/ Main

Schulbildung

2007 – 2009 Goethe-Gymnasium, Kassel
Schulabschluss: Allgemeine Hochschulreife

2005 – 2007 Northwood School, Lake Placid (USA)
Schulabschluss: American High School Diploma
Cum Laude Society
Science Award
English As Second Language Award

1999 – 2005 Goethe-Gymnasium, Kassel

1995 – 1999 Grundschule am Lindenplatz, Fuldabrück

Forschung

07/2016 Wissenschaftliche Publikation im Publikationsprozess
„Secondary Glioblastoma: molecular and clinical factors that affect outcome after malignant progression of a lower grade tumor”
Florian Gessler, **Johannes Zappi**, Jürgen Konczalla,
Joshua M. Bernstock, Marie-Therese Forster, Michel
Mittelbronn, Volker Seifert, Christian Senft

05/2014 Vortrag *„Outcome and prognostic factors of patients with secondary glioblastoma”* auf dem Deutschen Kongress für Neurochirurgie 2014 (Dresden)

Besondere Kenntnisse und Qualifikationen

Fremdsprachen	Englisch – fließend in Wort und Schrift Cambridge ESOL Certificate in Advanced English (Grade B, 2009) Latein – Großes Latinum Spanisch – Grundkenntnisse
EDV	sicherer Umgang mit dem PC (Word: sehr gut; Excel: Grundkenntnisse)

Sonstige Interessen

Bis 2009	Eishockey bei der EJ Kassel Huskies (Junioren Bundesliga, Kapitän der Mannschaft) Fußball, Fahrrad fahren und Golf
----------	--

(Ort, Datum)

(Unterschrift)

11 Schriftliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Die Bedeutung der IDH1 Mutation im Outcome von Patienten mit sekundärem Glioblastom behandelt in der Klinik für Neurochirurgie Frankfurt am Main

in der Klinik für Neurochirurgie unter Betreuung und Anleitung von Prof. Dr. Dr. Christian Senft ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Vorliegende Ergebnisse der Arbeit wurden (oder werden) in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht:

Florian Gessler, Johannes Zappi, Jürgen Konczalla, Joshua M. Bernstock, Marie-Therese Forster, Michel Mittelbronn, Volker Seifert, Christian Senft; Secondary Glioblastoma: molecular and clinical factors that affect outcome after malignant progression of a lower grade tumor; Neurosurgery, 2016.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)