

Prognostische und prädiktive Relevanz der p53-Mutation bei Glioblastom-Patient/-innen

Johanna Maria Kempter

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Medicine and Health der Technischen Universität München zur Erlangung einer Doktorin der Medizin (Dr. med.) genehmigten Dissertation.

Vorsitz: apl. Prof. Dr. Lutz Renders

Prüfende der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Friederike Schmidt-Graf
2. Priv.-Doz. Dr. Friederike Liesche-Starnecker

Die Dissertation wurde am 16.08.2023 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die TUM School of Medicine and Health am 03.01.2024 angenommen.

Meinen Eltern

4.1.2	Histologische Diagnose	25
4.1.3	MGMT-Promotormethylierung	25
4.1.4	Ki-67-Proliferationsindex	26
4.1.5	ATRX.....	27
4.2	Klinische Merkmale	27
4.2.1	Geschlechterverhältnis	27
4.2.2	Alter bei Diagnose	28
4.2.3	Karnofsky Performance Status bei Diagnose	29
4.2.4	Lokalisation der Primärtumoren	30
4.2.4.1	Hemisphäre	30
4.2.4.2	Exaktes Hirnareal mit der Haupt-Tumormasse	31
4.2.5	Anzahl und Art der MRT-Progresse	32
4.2.6	Multifokales Tumorwachstum	33
4.2.7	Resektionsausmaß und -anzahl	34
4.2.7.1	Primärtumorresektion	34
4.2.7.2	Rezidivresektionen.....	35
4.2.8	Primärtherapie.....	37
4.2.8.1	Stupp-Schema	39
4.2.8.2	Alleinige Strahlentherapie	42
4.2.8.3	Alleinige Chemotherapie	43
4.2.8.4	Best Supportive Care	44
4.2.9	Rezidivtherapie	44
4.2.10	Epileptische Anfälle im Beobachtungszeitraum	46
4.3	Analyse des Gesamtüberlebens.....	47
4.3.1	Dauer des Follow-Ups und Gründe für unvollständiges Follow-Up.....	47
4.3.2	Zensierungen.....	48
4.3.3	Univariate Überlebenszeitanalyse für das Gesamtüberleben nach p53- Status.....	49
4.3.4	Univariate Überlebenszeitanalyse für das Gesamtüberleben für andere mögliche prognostische Faktoren	50
4.3.5	Multivariate Überlebenszeitanalyse für das Gesamtüberleben.....	52
4.4	Analyse des progressionsfreien Überlebens	53
4.4.1	Zensierungen und Korrektur für zu große Follow-Up-Lücken	53
4.4.2	Univariate Überlebenszeitanalyse für das progressionsfreie Überleben nach p53-Status.....	55
4.4.3	Univariate Überlebenszeitanalyse für das progressionsfreie Überleben für andere mögliche prognostische Faktoren.....	56
4.4.4	Multivariate Überlebenszeitanalyse für das progressionsfreie Überleben	58
4.5	Analyse der Eignung des p53-Status als prädiktiver Marker.....	59
5	Diskussion	61
5.1	Diagnostische Präzision der p53-Immunhistochemie bei Gliomen.....	61

5.1.1	Mögliche Methode IRstark	63
5.1.2	Mögliche Methode IRgesamt.....	64
5.1.3	Begründung der Entscheidung für die Methode IRstark	65
5.2	Einordnung der Ergebnisse in die vorhandene Literatur	66
5.2.1	Einordnung der histopathologischen und molekulargenetischen Merkmale	66
5.2.2	Einordnung der klinischen Merkmale.....	67
5.2.3	p53 als prognostischer Marker.....	70
5.2.4	p53 als prädiktiver Marker.....	72
5.3	Stärken und Limitationen der Arbeit	72
5.4	Ausblick	73
6	Zusammenfassung	75
	Danksagung.....	77
	Literaturverzeichnis.....	79

Abkürzungsverzeichnis

ATRX	<i>Alpha thalassemia mental retardation syndrome X-linked</i>
AZ	Allgemeinzustand
BCNU	Carmustin (<i>Bis-Chlorethyl-Nitroso-Urea</i>)
BSC	Best Supportive Care
CCNU	Lomustin (<i>Chlorethyl-Cyclohexyl-Nitroso-Urea</i>)
CDKN2A	<i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A</i>
conc	konkomitant (=begleitend, von lateinisch <i>concomitare</i>)
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
FS	<i>Frameshift</i>
GBM	Glioblastom (<i>Glioblastoma multiforme</i>)
HR	Risikoverhältnis (<i>Hazard Ratio</i>)
IDH	Isocitrat-Dehydrogenase
IDHwt	Isocitrat-Dehydrogenase-Wildtyp
IHC	Immunhistochemie
IRgesamt	hier verwendete Methode, bei der eine p53-Immunreaktion $\geq 40\%$ jeglicher Intensität als Hinweis auf TP53-Mutation gewertet wird
IRstark	hier verwendete Methode, bei der eine p53-Immunreaktion $\geq 10\%$ starker Intensität als Hinweis auf TP53-Mutation gewertet wird
KI	Konfidenzintervall
KOF	Körperoberfläche
KPS	Karnofsky Performance Status
Ki-67	Proliferationsmarker (<i>Ki – Kiel</i>)
MDM2	<i>Mouse double minute 2 homolog</i>
MDM4	Synonym: MDMX; <i>Mouse double minute 4 homolog</i>
MGMT	O ⁶ -Methylguanin-DNA-Methyltransferase
mOS	medianes Gesamtüberleben (<i>median overall survival</i>)
MRT	Magnetresonanztomographie
N	Anzahl
n.a.	nicht angegeben
NW	Nebenwirkungen
OS	Gesamtüberleben (<i>overall survival</i>)
p53	Tumorsuppressorprotein p53
p53mut	p53-mutiert (Annahme auf Basis der hier verwendeten Methode IRstark)
p53wt	p53-Wildtyp (Annahme auf Basis der hier verwendeten Methode IRstark)

PCR	Polymerasekettenreaktion (<i>polymerase chain reaction</i>)
PFS	progressionsfreies Überleben (<i>progression-free survival</i>)
SD	Standardabweichung (<i>standard deviation</i>)
Seq	direkte DNA-Sequenzierung
SSCP	single strand conformation polymorphism
TERT	Telomerase-Reverse-Transkriptase
TGGE	temperature gradient gel electrophoresis
TMZ	Temozolomid
TP53	Gen, welches für das Tumorsuppressorprotein p53 kodiert
TTF	Tumortheraiefelder
WHO	Weltgesundheitsorganisation (<i>World Health Organization</i>)
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Therapiealgorithmus für IDH-Wildtyp Glioblastome (Weller et al., 2021)	4
Abbildung 2:	Der p53-Signalweg (Kanehisa, 2022; Kanehisa et al., 2012)	8
Abbildung 3:	Struktur des Proteins p53 in ungebundener (A) und an DNA und Partnerprotein gebundener (B) Form (Joerger & Fersht, 2010)	9
Abbildung 4:	Effekt der TP53-Mutation bei primären Glioblastomen, Riesenzell-Glioblastomen und Gliosarkomen (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019)	11
Abbildung 5:	Von TP53-Mutationen betroffene Codons bei primären Glioblastomen, Riesenzell-Glioblastomen und Gliosarkomen (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019)	12
Abbildung 6:	Verteilung der TP53-Mutationen bei primären Glioblastomen, Riesenzell-Glioblastomen und Gliosarkomen auf die Exons und Introns (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019)	12
Abbildung 7:	Klassierung der Primärtumoren nach p53-Status anhand der Methode IRstark	21
Abbildung 8:	Beispielbilder und Interpretation der betrachteten p53-IHC-Schnitte, welche mit dem Anti-p53-Antikörper DO-7 gefärbt sind	23
Abbildung 9:	Venn-Diagramm für die Übereinstimmung der Methoden IRstark und IRgesamt in der Bewertung von Primärtumoren als p53mut	24
Abbildung 10:	Immunreaktion gegen Ki-67 klassiert nach p53-Status	27
Abbildung 11:	Geschlechterverteilung klassiert nach p53-Status	28
Abbildung 12:	Alter klassiert nach p53-Status	29
Abbildung 13:	Prätherapeutischer KPS klassiert nach p53-Status	30
Abbildung 14:	Hirnareal mit der Haupt-Tumormasse klassiert nach p53-Status	32
Abbildung 15:	Multifokales Tumorwachstum im gesamten Beobachtungszeitraum klassiert nach p53-Status	34
Abbildung 16:	Art der Primärtumorresektion im Gesamtkollektiv (N=202)	35
Abbildung 17:	Primärtherapie klassiert nach p53-Status	37
Abbildung 18:	Gründe für nicht dem Stupp-Schema entsprechende Primärtherapie und Art der stattdessen gewählten Primärtherapie im Gesamtkollektiv (N=82)	39
Abbildung 19:	Primärtherapieverlauf für alle Patient/-innen primär unter Stupp-Schema im Gesamtkollektiv (N=112)	42
Abbildung 20:	Boxplot der Follow-Up-Dauer klassiert nach p53-Status	48
Abbildung 21:	Kaplan-Meier Kurven für das Gesamtüberleben klassiert nach p53-Status	49
Abbildung 22:	Kaplan-Meier Kurven für das progressionsfreie Überleben klassiert nach p53-Status	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Gegenüberstellung epidemiologischer Daten zum Glioblastom aus zwei aktuellen Publikationen (Quelle 1 Marenco-Hillebrand et al., 2020, Quelle 2 Ostrom et al., 2019).....	1
Tabelle 2:	Kreuztabelle für die Übereinstimmung der Methoden IRstark und IRgesamt	24
Tabelle 3:	Exaktes PCR-Ergebnis der Untersuchung auf MGMT-Promotormethylierung in Prozent.....	25
Tabelle 4:	Immunreaktion gegen Ki-67 in Prozent	26
Tabelle 5:	Alter bei Diagnose in Jahren.....	28
Tabelle 6:	KPS prätherapeutisch in Prozent	29
Tabelle 7:	Hemisphäre der Primärtumoren.....	31
Tabelle 8:	Anzahl der MRT-Progresse	33
Tabelle 9:	Art der Rezidivresektion bei Progress im MRT im Gesamtkollektiv	36
Tabelle 10:	Zyklenzahl Temozolomid nach dem 5/28-Schema für alle primär nach Stupp-Schema therapierten Patient/-innen	40
Tabelle 11:	Abstand in Tagen zwischen der ersten Operation und dem Beginn der primären konkomitanten Radiochemotherapie nach Stupp-Schema.....	40
Tabelle 12:	Dauer der Strahlentherapie als Bestandteil des primären Stupp-Schemas in Tagen	41
Tabelle 13:	Abstand in Tagen zwischen der ersten Operation und dem Beginn der primär alleinigen Strahlentherapie.....	43
Tabelle 14:	Dauer der primär alleinigen Strahlentherapie in Tagen.....	43
Tabelle 15:	Zyklenzahl Temozolomid nach dem 5/28-Schema für alle primär alleinig damit therapierten Patient/-innen.....	44
Tabelle 16:	Rezidivtherapie bei einmaligen und wiederholten MRT-Progressen im Gesamtkollektiv	46
Tabelle 17:	Medianes Gesamtüberleben in Monaten nach Kaplan-Meier klassiert nach p53-Status	50
Tabelle 18:	Univariate Analyse der möglichen prognostischen Faktoren für das Gesamtüberleben mit Kaplan-Meier-Schätzer, Log-rank-Test und Cox-Regression.....	51
Tabelle 19:	Multivariate Analyse des p53-Status und der aus der Literatur bekannten prognostischen Faktoren für das Gesamtüberleben	53
Tabelle 20:	Monate zwischen letztem klinischen Follow-Up und Tod für die Fälle, in denen der Tod dem 1. Progress entspricht.....	54
Tabelle 21:	Medianes progressionsfreies Überleben in Monaten nach Kaplan-Meier klassiert nach p53-Status	56
Tabelle 22:	Univariate Analyse der möglichen prognostischen Faktoren für das progressionsfreie Überleben mit Kaplan-Meier-Schätzer, Log-rank-Test und Cox-Regression.....	57

Tabelle 23:	Multivariate Analyse des p53-Status und der aus der Literatur bekannten prognostischen Faktoren für das progressionsfreie Überleben.....	59
Tabelle 24:	Interaktionstest zwischen p53-Status und Art der Primärtherapie bezogen auf das Gesamtüberleben	60
Tabelle 25:	Interaktionstest zwischen p53-Status und Art der Primärtherapie bezogen auf das progressionsfreie Überleben.....	60
Tabelle 26:	Komparative Studien zwischen p53-IHC und TP53-Genanalyse in Gliomen (Quellenangabe in der Spalte „Autor, Jahr“).....	63
Tabelle 27:	Ergebniszusammenfassung für einen Schwellenwert von 10 Prozent Immunreaktion starker Intensität in der p53-IHC anhand einer detaillierten Berechnung mit den bereitgestellten ergänzenden Daten (basiert auf Takami et al., 2015, Supporting Information, Table S1).....	64
Tabelle 28:	Ergebniszusammenfassung für einen Schwellenwert von 40 Prozent Immunreaktion jeglicher Intensität in der p53-IHC anhand einer detaillierten Berechnung mit den bereitgestellten ergänzenden Daten (basiert auf Takami et al., 2015, Supporting Information, Table S1).....	65
Tabelle 29:	Ergebniszusammenfassung für einen Schwellenwert von 40 Prozent Immunreaktion jeglicher Intensität in der p53-IHC (Roshandel et al., 2019, Table 3; Berechnungen zu GBM IDHwt basieren auf Roshandel et al., 2019, Supplementary Table 1).....	65
Tabelle 30:	Vergleichbare Studien zur prognostischen Relevanz der TP53-Mutation mittels Genanalyse und/oder der p53-Überexpression mittels IHC in Gliomen (Quellenangabe in der Spalte „Autor, Jahr“).....	70

1 Einleitung

1.1 Glioblastom

Das Glioblastom (GBM) ist der aggressivste hirneigene Tumor des Menschen und entspricht damit dem höchsten ZNS WHO Grad von 4, was mit einer äußerst schlechten Prognose einhergeht. Gleichzeitig ist es mit über 50 Prozent der häufigste maligne hirneigene Tumor bei Erwachsenen. (Ostrom et al., 2019)

1.1.1 Epidemiologie

Um einen Überblick über die Epidemiologie des GBM zu geben, werden in Tabelle 1 die Ergebnisse zweier aktueller epidemiologischer Studien zum Thema gegenübergestellt.

Zum einen handelt es sich um einen aktuellen Review-Artikel von Marenco-Hillebrand et al. (2020), für welchen weltweit 438 Studien über erwachsene GBM-Patient/-innen einen großen Zeitraum betreffend systematisch analysiert wurden, und zum anderen um die aktuellste Erhebung der *Central Brain Tumor Registry of the United States (CBTRUS)* von Ostrom et al. (2019) zu hirneigenen Tumoren in den Vereinigten Staaten, wofür auch Daten zu über 59.000 GBM-Patient/-innen ermittelt wurden.

Tabelle 1: Gegenüberstellung epidemiologischer Daten zum Glioblastom aus zwei aktuellen Publikationen (Quelle 1 Marenco-Hillebrand et al., 2020, Quelle 2 Ostrom et al., 2019)

	Quelle 1	Quelle 2
untersuchte Jahre	1979 – 2017	2012 – 2016
untersuchte Population	weltweit (29,6% aus USA)	USA
Anzahl der untersuchten GBM-Patienten	56.626	59.164
Inzidenz pro 100.000 Personen pro Jahr	3,19	3,22 (95%-KI: 3,19 – 3,24)
durchschnittliches Erkrankungsalter	57 Jahre	65 Jahre
M:F-Ratio	1,5:1	1,58:1
medianes Gesamtüberleben	13,5 Monate	n.a.
2-Jahres-Überleben	n.a.	18,5 Prozent (95%-KI: 18,2 – 18,7)
5-Jahres-Überleben	5,8 Prozent	6,8 Prozent (95%-KI: 6,7 – 7,0)

n.a. = nicht angegeben

Wie diese Tabelle aufzeigt, wird also bei ungefähr 3 von 100.000 Personen pro Jahr die Erkrankung neu diagnostiziert. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt bei etwa 60 Jahren und Männer sind in etwa 1,5-mal so häufig wie Frauen betroffen. Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt

bei etwa 6 Prozent und das mediane Gesamtüberleben (*median overall survival*, mOS) beträgt etwa 13,5 Monate.

Das progressionsfreie Überleben (*progression free survival*, PFS) liegt bei etwa 6,2 Monaten (Stupp et al., 2009).

1.1.2 Klinische Merkmale

1.1.2.1 Karnofsky Performance Status

Der Karnofsky Performance Status findet in der Onkologie als Messinstrument Verwendung und beschreibt die Fähigkeit eines erkrankten Menschen, trotz der Erkrankung seine normale Aktivität bzw. Arbeit fortzuführen und dient somit als Maß für die funktionelle Beeinträchtigung. Die Skala reicht von 100 Prozent – normale Aktivität, keine Beschwerden – bis hin zu 0 Prozent – Tod (Karnofsky et al., 1948). Ein höherer KPS ist ebenso wie jüngeres Alter bei Erkrankungsbeginn bei Glioblastomen mit einer besseren Prognose assoziiert (Abdullah et al., 2015; Filippini et al., 2008; Lamborn et al., 2004).

1.1.2.2 Therapie

Abbildung 1 zeigt den aktuellen Standard der Therapieentscheidungen bei Glioblastomen auf. Im Folgenden werden die Therapieempfehlungen anhand der aktuellen evidenzbasierten Richtlinie der *European Association of Neuro-Oncology* (EANO) der Autoren Weller et al. (2021) zusammengefasst.

Es bedarf stets einer individuellen Entscheidung, welche bestenfalls in interdisziplinären Tumorboards getroffen werden sollte. Es sollte, wenn möglich, immer Tumorgewebe zur histologischen und molekularen Diagnosestellung gewonnen werden. Eine Komplettresektion ist anzustreben bzw., wenn diese nicht sicher durchführbar scheint, ohne neue neurologische Defizite zu verursachen, eine stereotaktische Biopsie.

Liegt der KPS nach der Operation unter 50 Prozent, so kann in der Regel keine sinnvolle Therapie begonnen werden. Es sollte gegebenenfalls (zunächst) nur Best Supportive Care (BSC) durchgeführt und eventuell abgewartet werden, ob sich der Zustand verbessert und der/die Patient/-in einer weiterführenden Therapie zugeführt werden kann.

Bei Patient/-innen mit einem biologischen Alter unter 70 Jahren und einem KPS von mindestens 70 Prozent sollte immer eine Maximaltherapie nach dem heutigen Goldstandard, dem Stupp-Schema (nach dem Erstautor benannt) bzw. EORTC-NCIC-Protokoll (nach den studienführenden Organisationen), angestrebt werden. Diese Therapie besteht aus einer konkomitanten Radiochemotherapie – also einer fraktionierten fokalen Strahlentherapie bis zu einer

Gesamtdosis von 60 Gy in 30 Einzeldosen à 2 Gy (an 5 Tagen pro Woche) mit einer simultanen Chemotherapie mit dem DNA-Alkylans Temozolomid (TMZ) in einer Dosierung von 75 mg/m² Körperoberfläche (KOF) an 7 Tagen pro Woche über etwa 6 Wochen – welche standardmäßig nach 4 Wochen gefolgt wird von einer TMZ-Monotherapie an 5 von 28 Tagen über 6 Zyklen mit einer Dosierung von 150 mg/m² KOF im ersten Zyklus und bei guter Verträglichkeit von 200 mg/m² KOF ab dem 2. Zyklus (Stupp et al., 2005). Durch die Etablierung dieses Therapieschemas konnte das mOS signifikant von 12,1 auf 14,6 Monate gesteigert werden, wobei der Überlebensvorteil für jüngere Patient/-innen und für Patient/-innen mit methyliertem MGMT-Promotor nochmals weitaus deutlicher war (Stupp et al., 2009). Kein Überlebensvorteil wurde dagegen für Patient/-innen mit einem schlechten Performance Status nachgewiesen (Stupp et al., 2005). Patient/-innen unter 70 Jahren mit einem KPS unter 70 Prozent sollten darum eher keine Therapie nach dem Stupp-Schema, sondern eine Monotherapie (TMZ oder Strahlentherapie abhängig vom MGMT-Promotormethylierungsstatus) erhalten.

Bei der Wahl der Therapie für Patient/-innen höheren Alters kommt, auch wenn es sich weiterhin um eine individuelle Entscheidungsfindung handelt, dem MGMT-Promotormethylierungsstatus (siehe unten) eine entscheidende Rolle zu. So sollte bei Vorliegen einer solchen Methylierung eher eine TMZ-Monotherapie (oder in Einzelfällen das Stupp-Schema) gewählt werden, wohingegen bei unmethyliertem MGMT-Promotor eher eine alleinige Strahlentherapie zu bevorzugen ist, da von einem schlechten Ansprechen auf TMZ auszugehen ist.

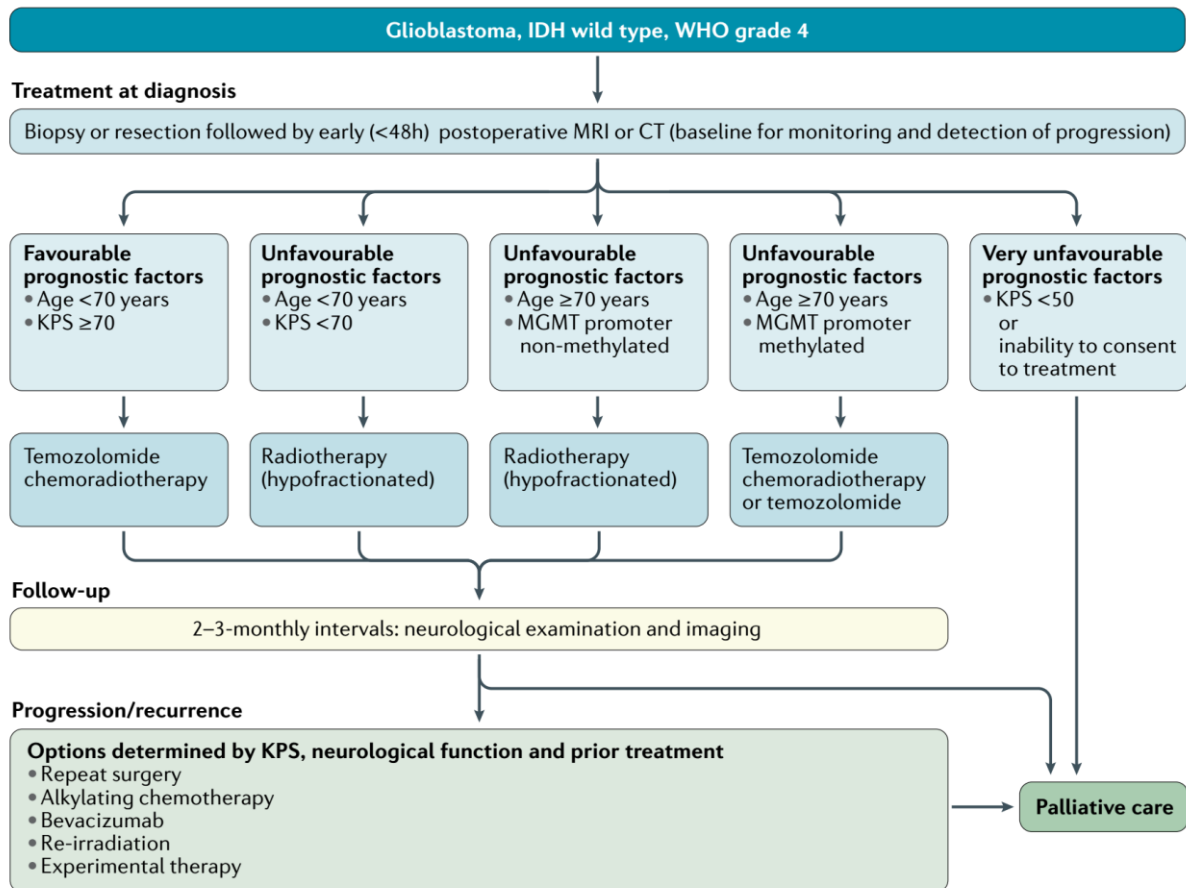


Abbildung 1: Therapiealgorithmus für IDH-Wildtyp Glioblastome (Weller et al., 2021)
Die Therapieentscheidung sollte unter Einbeziehung verschiedener prognostischer Faktoren, wie dem Alter, dem KPS und dem Status des MGMT-Promotors getroffen werden.

Als nicht-invasive Zusatztherapie haben sich inzwischen die sogenannten Tumortheraiefelder (*Tumor Treating Fields*, TTF) etabliert, die mit einer Steigerung des mOS (von 16,0 auf 20,9 Monate) und des PFS (von 4,0 auf 6,7 Monate) einhergehen (Stupp et al., 2017).

Wie in Abbildung 1 ersichtlich wird, sollte initial alle 2-3 Monate eine neurologische Untersuchung und cMRT-Kontrolle erfolgen, um einen Tumorprogress und ausbleibendes Therapieansprechen frühzeitig zu erkennen. Bei Tumorprogress bzw. -rezidiv stehen verschiedene Optionen zur Verfügung, z.B. eine erneute Operation, eine (erneute) alkylierende Chemotherapie (z.B. mit CCNU oder Temozolomid), der Anti-VEGF-Antikörper Bevacizumab (in Deutschland nur bei Radionekrose zugelassen), eine Re-Bestrahlung, experimentelle Therapien oder ein Therapieabbruch mit der Entscheidung für BSC. Alle genannten Rezidivtherapie-Optionen sind individuell zu diskutieren, und eine Verlängerung des mOS nicht immer hinreichend bewiesen, sodass hier kein allgemeingültiger Therapiestandard existiert.

1.1.3 Diagnostik gemäß der WHO-Klassifikation

Eine wichtige Erkenntnis der letzten Jahre spiegelt sich in der Änderung der WHO-Klassifikation von 2021 wider. Es wird jetzt eine integrierte Diagnosefindung angewandt, wobei wichtige histopathologische Befunde und auch molekularbiologische Parameter einfließen und neu die molekulare Diagnostik auch in der Graduierung (ZNS WHO Grad 1-4) Anwendung findet. Hierdurch erhofft man sich, biologisch homogenere Gruppen zu schaffen und die diagnostische Genauigkeit sowie letztendlich auch die klinische Entscheidungsfindung bezüglich der Wahl der Therapie zu verbessern. Das Glioblastom („Glioblastom, IDH-Wildtyp“) entspricht immer dem höchsten ZNS WHO Grad 4 und wird laut der aktuellen WHO-Klassifikation von 2021 den diffusen Gliomen des Erwachsenen zugeordnet. Es kann dann diagnostiziert werden, wenn ein diffuses astrozytäres Gliom einen IDH-Wildtyp aufweist und entweder mikrovaskuläre Proliferation oder Nekrose zeigt oder eines der folgenden molekulargenetischen Merkmale erfüllt: TERT-Promotor-Mutation, EGFR-Amplifikation oder kombinierter Gewinn von Chromosom 7 und Verlust von Chromosom 10 (+7/-10). Hierzu werden auch die Varianten Riesenzell-Glioblastom und Gliosarkom gezählt, auch wenn diese nicht mehr als Subtypen in der Klassifikation aufgelistet werden. (Louis et al., 2021)

1.1.4 Molekulare Marker

Die Beurteilung molekularbiologischer Parameter ist insbesondere auch deshalb wichtig, weil einige davon als Marker zur Abschätzung des Krankheitsverlaufs dienen können. Hinsichtlich dieser molekularen Marker muss zwischen prognostischen und prädiktiven Markern unterschieden werden. Dabei erlauben prognostische Marker eine Einschätzung des Überlebens unabhängig von der Therapie, wohingegen prädiktive Marker der Vorhersage eines günstigen Ansprechens auf spezifische Therapien dienen. (Karsy et al., 2015)

1.1.4.1 IDH-Mutation

Ein Beispiel für einen prognostischen Marker ist das Enzym Isocitratdehydrogenase (IDH). Aufgrund verschiedener betroffener Genloci werden IDH1- und IDH2-Mutationen unterschieden. Bei IDH-mutierten Gliomen handelt es sich jedoch in nahezu allen Fällen um IDH1-Mutationen und dabei am häufigsten um die R132H-Mutation (Gravendeel et al., 2010; Parsons et al., 2008; Yan et al., 2009). Das Enzym wandelt physiologisch Isocitrat in α -Ketoglutarat um, und eine Mutation führt zur reduzierten enzymatischen Aktivität und wahrscheinlich auch zum Gewinn einer neuen enzymatischen Aktivität, im Rahmen derer α -Ketoglutarat zu R(-)-2-Hydroxyglutarat reduziert wird, dessen Akkumulation wiederum zur malignen Progression von Gliomen beitragen könnte (Dang et al., 2009). Man geht davon aus, dass IDH-Mutationen ein

frühes Ereignis in der Karzinogenese von Gliomen astrozytären und oligodendrozytären Ursprungs sind (Yan et al., 2009).

Da IDH-Mutationen prognostisch gesehen sehr aussagekräftig sind, fließen sie in der aktuellen WHO-Klassifikation von 2021 stärker in die Klassifikation und neu auch in die Graduierung ein. So wurde die Nomenklatur des IDH-mutierten Glioblastoms in „Astrozytom, IDH-mutiert, ZNS WHO Grad 4“ geändert und das Fehlen einer IDH-Mutation gilt nun als Diagnosekriterium für Glioblastome (Hartmann et al., 2010; Louis et al., 2021; Stupp & Hegi, 2017).

1.1.4.2 MGMT-Promotormethylierung

Der wichtigste prädiktive Marker in Glioblastomen ist der Methylierungsstatus des Promotors der O⁶-Methylguanin-DNA-Methyltransferase (MGMT), wobei der Nachweis einer solchen Methylierung mit einem höheren Erfolg der Chemotherapie mit dem DNA-Alkylans Temozolomid (TMZ) assoziiert ist (Stupp & Hegi, 2017). Erklärbar ist dies dadurch, dass diese Promotormethylierung zur funktionellen Inaktivierung des MGMT-Gens führt, wodurch weniger als DNA-Reparaturprotein fungierendes MGMT zur Verfügung steht und somit die für die Zytotoxizität von TMZ zentrale DNA-Schädigung – genauer gesagt die Methylierung der O⁶-Position des Guanins – nicht durch MGMT rückgängig gemacht werden kann (Gerson, 2002).

Stupp et al. (2009) konnten zeigen, dass die Kombinationstherapie mit TMZ und Strahlentherapie (siehe oben) nicht nur generell gegenüber der alleinigen Strahlentherapie einen Überlebensvorteil erbrachte, sondern besonders deutlich in der Kohorte mit MGMT-Promotormethylierung (mOS 15,3 vs. 23,4 Monate). Auch bei Betrachtung des PFS zeigte der Marker seine prädiktive Bedeutung, insofern, als dass ein signifikant längeres PFS nur bei den mit Kombinationstherapie behandelten Patient/-innen mit Vorliegen dieses Merkmals auftrat ($p < 0,0001$). Der MGMT-Promotormethylierungsstatus erwies sich in der Studie darüber hinaus auch als stärkster therapieunabhängiger prognostischer Marker ($p = 0,001$; HR 0,49) und das mOS war bei Patient/-innen mit methyliertem MGMT-Promotor länger als bei allen anderen betrachteten Faktoren.

1.2 Das Tumorsuppressorprotein p53

1.2.1 Der p53-Signalweg in Glioblastomen

Physiologisch wirkt der in allen wachsenden Zellen nukleär vorliegende Transkriptionsfaktor p53 als Tumorsuppressor. Um diese Funktion auszuüben, wird p53 durch verschiedene Mechanismen – wie beispielsweise DNA-Schädigung, Hypoxie oder abnorme Wachstumssignale, die alle auch bei der Karzinogenese vorkommen – an der N-terminalen Transaktivierungsdomäne

phosphoryliert und somit aktiviert, woraufhin es einige Signalwege initiiert, an deren Ende die Vermittlung des Zellzyklusarrests (über einen Stopp entweder des Zellwachstums oder der Zellteilung), der DNA-Reparatur oder der Apoptose der betroffenen Zelle steht. Genauer sind der p53-Signalweg und seine Bestandteile in Abbildung 2 dargestellt. Teil dieses Signalweges sind auch die Protoonkogene MDM2 und MDM4 (Synonym: MDMX), welche physiologisch durch kontinuierliche Ubiquitinierung zum proteasomalen Abbau von p53 führen und so dessen Menge in unbeschädigten Zellen niedrig halten und die Tumorsuppressoraktivität hemmen. Im Rahmen einer negativen Feedback-Schleife führt das dazu, dass p53 in geringerem Maße die Transkription von MDM2 und MDM4 induziert. (S. Haupt et al., 2003; Y. Haupt et al., 1997; Moll & Petrenko, 2003; Zhang et al., 2018)

Die Halbwertszeit von p53 beträgt durch den kontinuierlichen Abbau physiologisch nur etwa 20 bis 30 Minuten und kann durch maligne Prozesse pathologisch verlängert sein (Levine et al., 1991; Reich & Levine, 1984).

Es ist anzunehmen, dass die Alteration des p53-Signalwegs eine Rolle in der Karzinogenese von Glioblastomen spielt (Brennan et al., 2013).

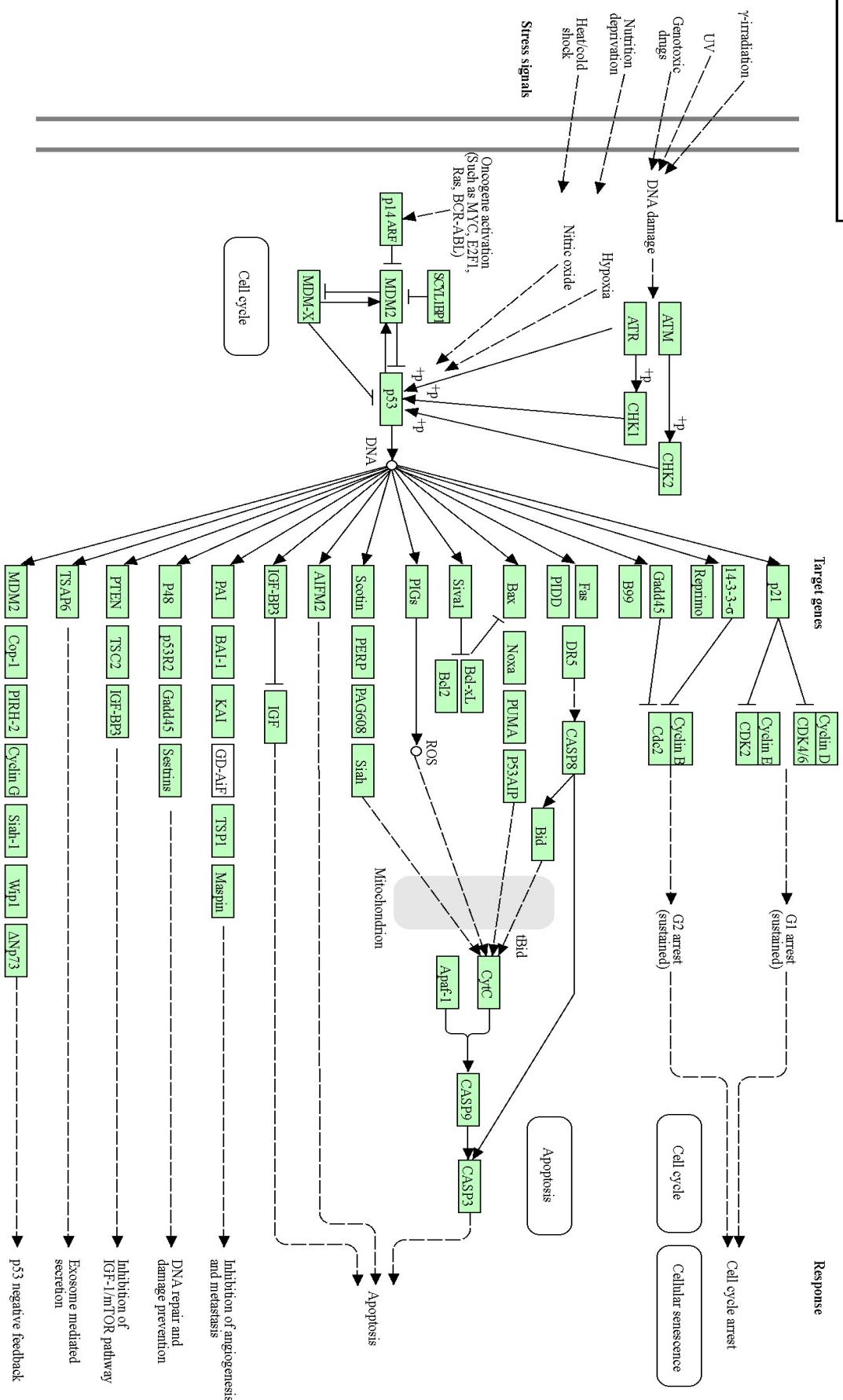


Abbildung 2: Der p53-Signalweg (Kanehisa, 2022; Kanehisa et al., 2012)
 Der p53-Signalweg kann durch unterschiedliche Stresssignale, DNA-Schädigung oder Hypoxie eingeleitet werden und führt unter anderem zu Zellzyklusarrest, Apoptose oder DNA-Reparatur.

1.2.2 Die Struktur des Proteins p53

Das Protein p53 wird durch das auf Chromosom 17p13 lokalisierte TP53-Gen kodiert (Benchimol et al., 1985; Le Beau et al., 1985). Das Gen besteht aus 11 Exons (Lamb & Crawford, 1986). Physiologisch liegt das Protein als Homo-Tetramer mit 4x393 Codons bzw. Aminosäuren vor und ändert mutmaßlich durch die Bindung von DNA seine Struktur, wodurch die Interaktion der N-terminalen Transaktivierungsdomäne mit anderen Proteinen vereinfacht wird, wie in Abbildung 3 dargestellt. Die zentrale DNA-bindende Domäne (Aminosäuren 94-292) besteht aus einem sogenannten *Loop-Sheet-Helix* Motiv und drei großen Schleifen (*loops* L1, L2 und L3). (Joerger & Fersht, 2010; Lee et al., 1994; Tidow et al., 2007; Wells et al., 2008)

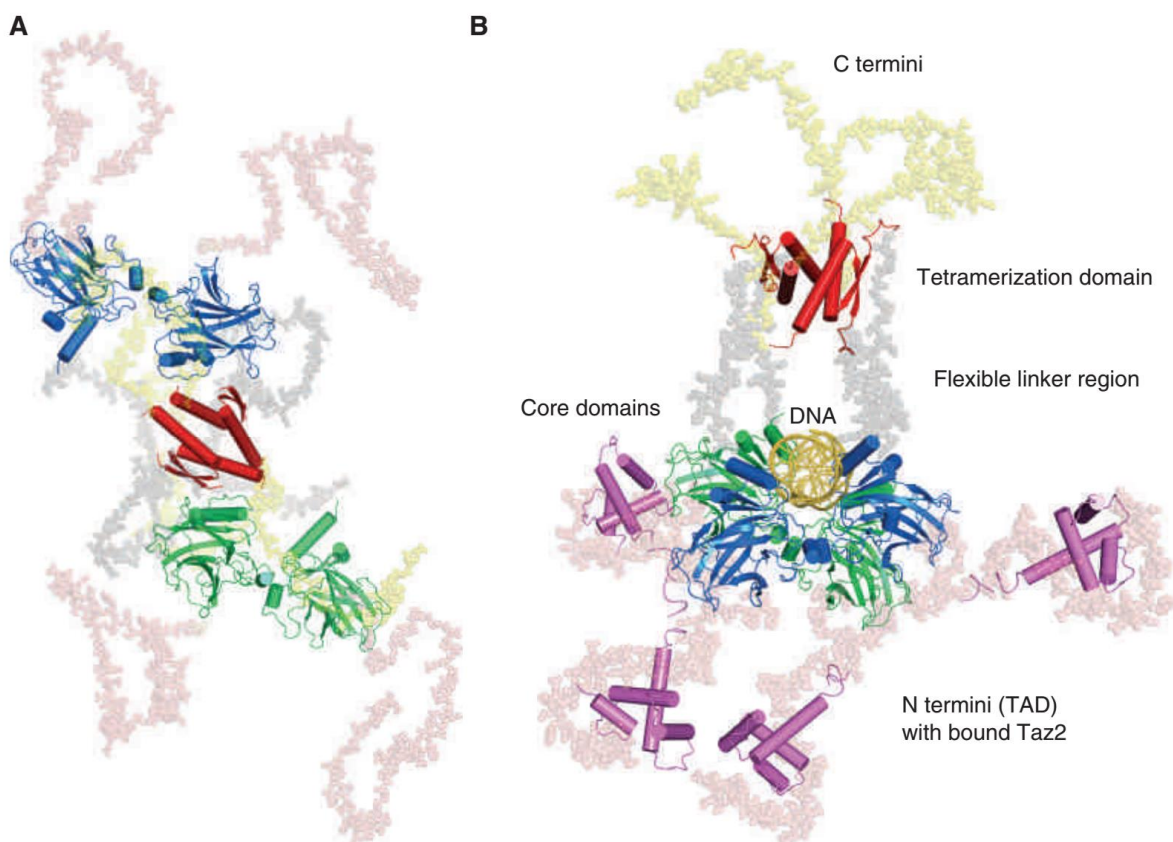


Abbildung 3: Struktur des Proteins p53 in ungebundener (A) und an DNA und Partnerprotein gebundener (B) Form (Joerger & Fersht, 2010)

Das Protein p53 ändert durch die Bindung von DNA seine Struktur.
grün und blau = DNA-bindende Domänen, rot = Tetramerisierungs-Domäne, lila = N-terminale Transaktivierungs-Domäne mit gebundenem exemplarischem Partnerprotein (hier dargestellt die Taz2 Domäne des Proteins p300)

1.2.3 Die TP53-Genmutation

Die TP53-Mutation ist mit über 40 Prozent die häufigste Genmutation allgemein in menschlichen Malignomen, wobei die Häufigkeit zwischen den unterschiedlichen Entitäten sehr variabel ist (Bouaoun et al., 2016; Kandoth et al., 2013). So weisen beispielsweise über 90 Prozent der

high-grade serösen Ovarialkarzinome eine solche Mutation auf, aber nur etwa 10-20 Prozent der Lymphome (Ahmed et al., 2010; Kandoth et al., 2013; Peller & Rotter, 2003).

Seltener kommen auch familiäre Häufungen vor, so beim Li-Fraumeni Syndrom, welches in den meisten Fällen mit einer TP53-Keimbahnmutation einhergeht, autosomal-dominant vererbt wird und typischerweise zu einer Tumormanifestation vor einem Alter von 45 Jahren führt. Neben Hirntumoren ist dieses Syndrom unter anderem auch mit Mamma-Karzinomen und Weichteilsarkomen assoziiert, welche dann teils auch nebeneinander auftreten. (Li et al., 1988; Malkin et al., 1990; Olivier et al., 2003)

Laut der TP53 Datenbank liegt die Prävalenz der TP53-Mutation bei etwa 27,2 Prozent bei primären GBM (754 von insgesamt 2773 in dieser Datenbank enthaltenen Gewebeproben von „Glioblastoma, NOS (C71.)“ unter Ausschluss der als sekundäre Fälle gekennzeichneten und der pädiatrischen Fälle). Bei Riesenzell-Glioblastomen liegt die Prävalenz mit etwa 85,7 Prozent (36 von 42 in der Datenbank enthaltenen Fällen) dagegen höher. Zu Gliosarkomen findet sich in der genannten Datenbank nur ein Fall, in der COSMIC Datenbank liegt die Prävalenz der TP53-Mutation bei dieser Entität bei rund 70 Prozent (14 von 20 in dieser Datenbank enthaltenen Gewebeproben). (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019; Tate et al., 2019; Wellcome Sanger Institute, 2022)

1.2.3.1 Auswirkungen der TP53-Mutation

In den meisten Fällen handelt es sich bei TP53-Mutationen um eine *Missense*-Mutation, am häufigsten innerhalb der DNA-bindenden Domäne des TP53-Gens, wodurch vereinfacht gesagt das Protein p53 in einer abnormen mutierten Form exprimiert wird und seine Funktion als Tumorsuppressor einbüßt (Levine et al., 1991; Vogelstein & Kinzler, 1992; Xue et al., 2019). Diese Art der Mutation ist auch bei Glioblastomen die häufigste (Zhang et al., 2018, S. 5).

Manche dieser Mutationen führen zur Änderung der Struktur des mutierten p53 und teilweise kann über die Komplexbildung im Tetramer zusätzlich ein dominant-negativer Effekt auf das Wildtyp-p53 ausgeübt werden, indem dessen Funktion unterdrückt wird (Brosh & Rotter, 2009; Joerger & Fersht, 2010; Vogelstein & Kinzler, 1992).

Teils können TP53-Mutationen in Glioblastomen auch zum *gain of function* (GOF) führen. Dann kann p53 zwar prinzipiell weiterhin durch MDM2/4 abgebaut werden, das Feedback auf die MDM2/4-Transkription fällt aber aus, wodurch proportional zu wenig MDM2/4 vorliegt und das mutierte p53 letztlich zu wenig abgebaut wird. Es konnte gezeigt werden, dass diese Art der Mutation in Glioblastomen mit vermehrter Progression und gesteigerter

Chemotherapieresistenz vergesellschaftet ist und zu onkogenen Wirkmechanismen führt, die über den Verlust der Tumorsuppressoraktivität des Wildtyp-p53 hinausgehen (daher die Bezeichnung als *gain of function*-Mutation). (Blandino et al., 2012; Dittmer et al., 1993; Zhang et al., 2018)

Zur verminderten Wildtyp-p53-Expression und dem konsekutiven Tumorsuppressoraktivitätsverlust (aber nicht zum *gain of function*) kann es ebenso durch *Nonsense*- oder *Frameshift*-Mutationen kommen (Muller & Vousden, 2014). Diese Mutationen sind in Glioblastomen deutlich seltener als die *Missense*-Mutationen (Zhang et al., 2018).

Eine Recherche in der TP53 Datenbank ergab, dass bei Glioblastomen (Suchparameter: Primärtumoren; Glioblastome, Riesenzell-Glioblastome und Gliosarkome) in über 80 Prozent der TP53-Mutationen ein *Missense*-Effekt vorliegt, in ca. 5 Prozent ein *Frameshift* und in ca. 3 Prozent ein *Nonsense*-Effekt (siehe Abbildung 4). (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019)

Variant Effect (N = 643)

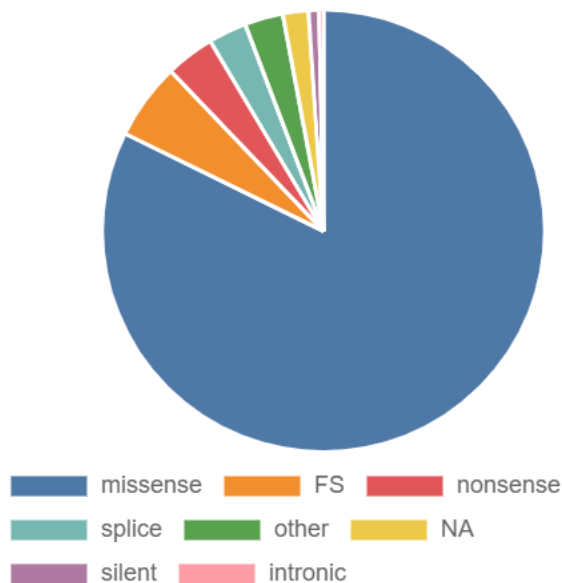


Abbildung 4: Effekt der TP53-Mutation bei primären Glioblastomen, Riesenzell-Glioblastomen und Gliosarkomen (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019)
Bei den TP53-Mutationen der genannten Tumoren handelt es sich im überwiegenden Fall um *Missense*-Mutationen.
FS = *Frameshift*, NA = nicht angegeben

Über 96 Prozent der p53-Punktmutationen in Glioblastomen liegen innerhalb der DNA-bindenden Domäne (Bouaoun et al., 2016, S. 873). In der Datenbank-Recherche kristallisierten sich die Hotspot-Codons 273, 248 und 175 (siehe Abbildung 5) heraus und als codierende Bereiche innerhalb des Gens insbesondere die Exons 5 bis 8 (siehe Abbildung 6) (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019).

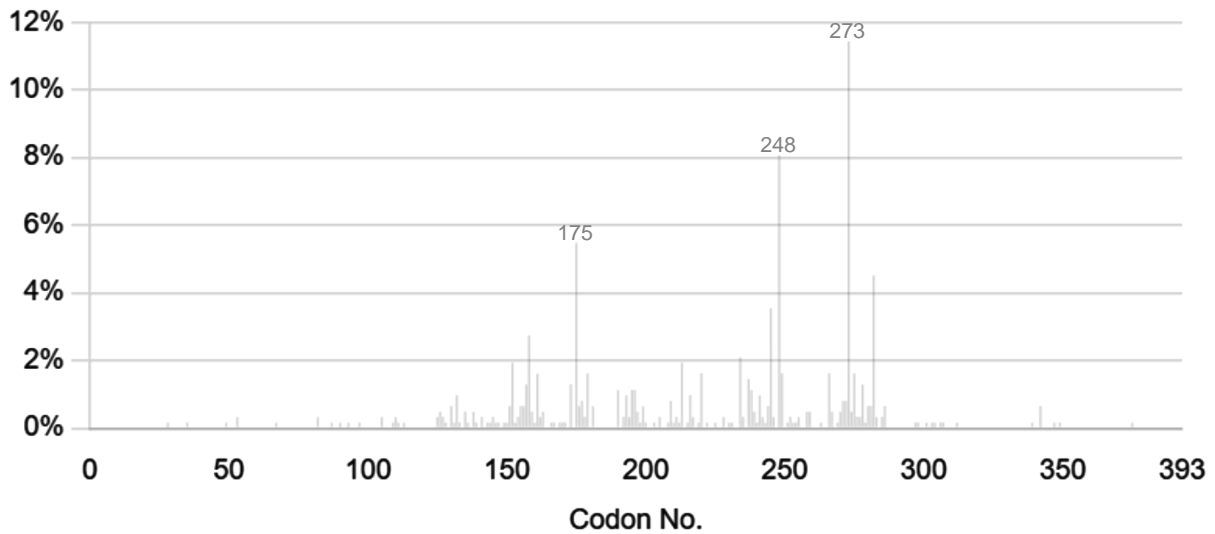
Codon Distribution (N = 621)

Abbildung 5: Von TP53-Mutationen betroffene Codons bei primären Glioblastomen, Riesenzell-Glioblastomen und Gliosarkomen (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019)

Insbesondere die Codons 273, 248 und 175 sind häufig von TP53-Mutationen bei den genannten Tumoren betroffen.

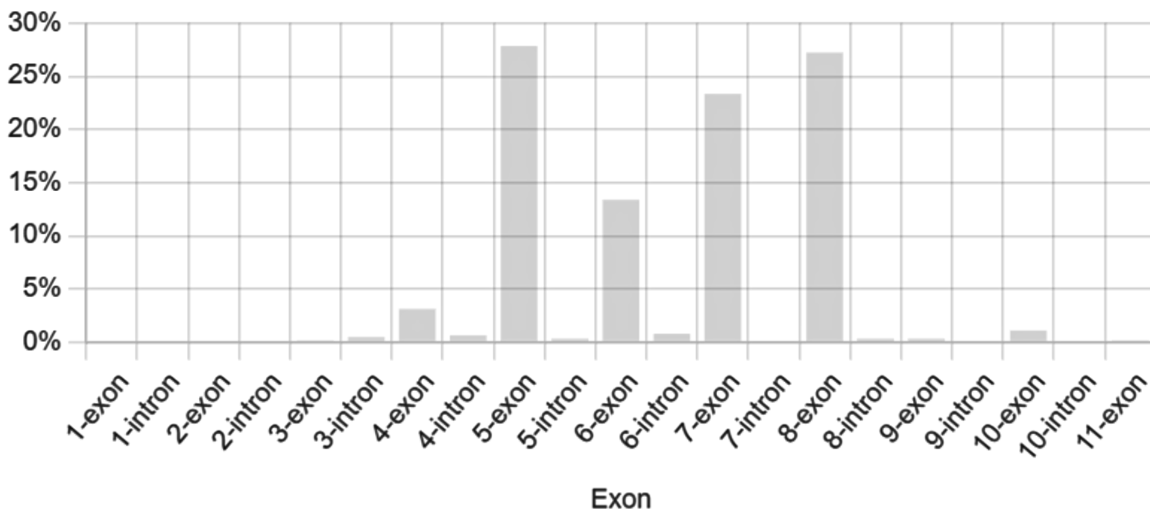
Exon/Intron Distribution (N = 643)

Abbildung 6: Verteilung der TP53-Mutationen bei primären Glioblastomen, Riesenzell-Glioblastomen und Gliosarkomen auf die Exons und Introns (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019)

TP53-Mutationen bei den genannten Tumoren sind hauptsächlich in den Exons 5 bis 8 lokalisiert.

Zu ähnlichen Effekten kann auch die Alteration anderer Bestandteile des p53-Signalwegs führen. Eine abnorme Vervielfältigung von MDM2 oder MDM4 wirkt sich beispielsweise über die Herabregulierung von p53 onkogen aus und kommt bei etwa 14 Prozent (MDM2) bzw. 7 Prozent (MDM4) der Glioblastome vor, wobei in den betroffenen Zellen ausschließlich Wildtyp-p53 vorliegt. (Zhang et al., 2018)

2 Problemstellung

Wie es sich schon in der aktuellen Fassung der WHO-Klassifikation von 2021 zu ZNS-Tumoren herauskristallisiert hat, ist anzunehmen, dass sich auch in der Therapie von Glioblastomen die Relevanz individueller molekularbiologischer Eigenschaften und weitere Erkenntnisse hierzu manifestieren werden, wodurch möglicherweise noch gezieltere und personalisierte Therapien entwickelt werden könnten (Louis et al., 2021). Es werden beispielsweise bereits – bei verschiedenen Malignomen inklusive des Glioblastoms – komplexe Therapieansätze exploriert, die zur Wiederherstellung des Wildtyp-p53 führen oder das GOF-mutierte p53 hemmen sollen. (Muller & Vousden, 2014)

Bei einigen anderen Tumorentitäten, wie beispielsweise beim Mammakarzinom, fungieren TP53-Genmutationen als prognostischer Marker (Petitjean et al., 2007). Für Glioblastome dagegen konnte ein dafür notwendiger signifikanter Zusammenhang mit dem Überleben bisher weder für p53, noch für die vorgeschalteten Bestandteile des p53-Signalwegs (ARF, MDM2 und MDM4) ausreichend nachgewiesen werden (Zhang et al., 2018).

Das Ziel dieser Arbeit ist es, herauszufinden, inwieweit die durch immunhistochemische Methoden festgestellte p53-Mutation als prognostischer oder prädiktiver Marker bei Glioblastom-Patient/-innen in Frage kommen könnte.

3 Methoden

3.1 Studiendesign

Retrospektiv wurden klinische und molekularpathologische Daten zu GBM-Patient/-innen des Klinikums rechts der Isar in München erhoben. An bereits vorhandenen oder für diese Studie neu erstellten p53-Immunhistochemie (IHC) Färbungen wurde, mittels einer zuvor durch Literaturvergleich festgelegten Methode, der Prozentanteil der Immunreaktion mit dem Anti-p53-Antikörper bestimmt und durch diesen auf eine anzunehmende vorhandene oder nicht vorhandene p53-Mutation geschlossen, was zur Klassierung der Patient/-innen in zwei Gruppen (p53wt und p53mut) diente. Es wurden im univariaten und multivariaten Modell statistisch signifikante prognostische Faktoren für das Gesamtüberleben (OS) und das progressionsfreie Überleben (PFS) ermittelt und untersucht, ob dem durch IHC anzunehmenden p53-Status im univariaten und multivariaten Modell prognostische Bedeutung zukommt. Weiterhin wurde in einer Interaktionsanalyse überprüft, ob der p53-Status statistisch signifikant mit der Primärtherapie interagiert, also ob dieser als prädiktiver Marker in Frage kommt.

Die Daten wurden stets datenschutzgemäß behandelt. Ein Ethikvotum lag vor.

3.2 Einschlusskriterien

Zunächst wurde in der Befunde-Datenbank der Neuropathologie eine Suche nach dem Begriff „Glioblastom“ und „Gliosarkom“ für den Zeitraum Januar 2014 bis April 2017 durchgeführt und Patient/-innen eingeschlossen, die den folgenden Kriterien entsprachen:

- die Untersuchung des Primärtumors ergab einen IDH-Wildtyp
- der Kritische Befundbericht des Primärtumors nannte als Diagnose Glioblastom, Riesenzell-Glioblastom oder Gliosarkom oder der Erstbefund wurde im Rezidiv-Befund anhand der neuen WHO-Klassifikation revidiert zu Glioblastom
- Befundung durch unsere Neuropathologie führte zur Erstdiagnose, fand vor einem Tumorprogress statt oder Paraffinblöcke und Schnitte des Primärtumors wurden nachträglich zur Beurteilung vorgelegt und lagen im Archiv der Pathologie vor
- die Erstresektion oder eine Rezidivresektion fand in der Neurochirurgischen Klinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar statt und klinische Daten lagen in der Datenbank vor

Anhand dieser Kriterien konnten schließlich 202 Patient/-innen in das Kollektiv eingeschlossen werden.

3.3 Datenakquirierung

Zu diesen 202 Patient/-innen wurden retrospektiv klinische und neuropathologische Daten erhoben.

Die klinischen Daten wurden aus der Datenbank der Neurologischen Klinik und Poliklinik bzw. der Neurochirurgischen Klinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar oder aus der Datenbank des Tumorregisters München extrahiert. Fand eine Weiterbehandlung bzw. vorhergehende Behandlung extern des Klinikums rechts der Isar statt und waren die jeweiligen Daten auch nicht im Tumorregister zu finden, so wurden die zuständigen weiterbehandelnden hausärztlichen, onkologischen, strahlentherapeutischen, neurologischen Praxen oder Kliniken kontaktiert, soweit diese bekannt waren. Bezüglich fehlender Überlebensdaten wurde das jeweils zuständige Einwohnermeldeamt kontaktiert.

Neben allgemeinen Daten wie dem Geburtsdatum und Geschlecht wurden folgende klinische Daten erhoben:

- die Hemisphäre, in der der Primärtumor lag: links, rechts, beidseits
- das Hirnareal, in dem die Haupttumormasse des Primärtumors lokalisiert war: frontal, temporal, parietal, okzipital, zentral (z.B. Balken oder Basalganglien), sonstige (z.B. insulär, diencephal, zerebellär oder Hirnstamm) oder multifokal (bei simultaner Lokalisation in unterschiedlichen Hirnlappen/-arealen mit deutlichem Abstand zueinander)
- der *Karnofsky Performance Status* (KPS) zum Zeitpunkt der Vorstellung vor der 1. Resektion (wie im ersten Arztbrief angegeben oder abgeleitet aus der Anamnese und klinischen Untersuchung)
- das Auftreten von epileptischen Anfällen: vor der 1. Resektion (ja oder nein), nach der Primärtumorresektion (ja, nein, nein unter Antikonvulsiva) und nach der ersten Rezidivresektion (ja, nein, nein unter Antikonvulsiva); die Anfallsart wurde notiert aber wegen zu geringer Fallzahl nicht in die Klassierung eingebunden
- die Anzahl und das jeweilige Datum der Resektionen sowie der Ort der Erstresektion (Klinikum rechts der Isar oder extern)
- die jeweilige Art der Resektion: stereotaktische Biopsie, subtotale Resektion (etwa <95% der Tumormasse), Kompletresektion (etwa $\geq 95\%$ der Tumormasse)
- der Zeitraum einer etwaigen 1. und 2. Bestrahlung und der Abstand der 1. Bestrahlung zur 1. Resektion

- Angaben zur jeweiligen Chemotherapie: Zeitraum, Chemotherapeutikum und Dosis-konzept (TMZ konkomitant, TMZ 5/28, TMZ 7/14, CCNU, Bevacizumab, Bevacizu-mab + CCNU als Kombinationstherapie, sonstige Chemotherapie)
- Tumortherapiefelder erhalten: ja oder nein; der Zeitraum war hier meist nicht genau eruierbar
- genaue Daten zur Therapie mittels Stupp-Schema: Empfehlung des hausinternen inter-disziplinären Tumorboards (Stupp-Schema ja oder nein), 6 Zyklen TMZ konkomitant (ja, nein, frühzeitiger Abbruch), konkomitante Bestrahlung an 30 Tagen mit ED 2 Gy und GD 60 Gy (ja, nein, geringere GD), Zyklenzahl TMZ 5/28, TMZ in Rezidivtherapie (erneut, erstmalig, Fortführung im selben Schema trotz Progress, kein TMZ in Rezidiv-therapie), Stupp-Schema komplettiert oder wenn nicht der jeweilige Grund (Allgemein-zustand (AZ) zu niedrig, MGMT-Promotor nicht methyliert und mindestens 65 Jahre alt, vor Beendigung verstorben, Abbruch bei Progress, abweichende Therapie extern entgegen des Tumorboard-Beschlusses, Ablehnung der Therapie durch den Patienten bzw. die Patientin, Abbruch bei Nebenwirkungen (NW))
- die Art bildgebender Progresse bzw. Rezidive: lokal (mit räumlichem Bezug zum Pri-märtumor/der Resektionshöhle), distant (bei Neuauftreten in einem anderen Hirnlap-pen/-areal mit deutlichem Abstand zum Primärtumor/der Resektionshöhle), gemischt (sowohl lokal als auch distant) und das Datum der betreffenden MRT-Untersuchung
- das Datum des letzten klinischen Follow-Ups: Datum des letzten klinischen Kontakts in domo bzw. in einer kontaktierten weiterbehandelnden Praxis/Klinik
- das Datum des letzten bekannten Überlebens: entweder dem letzten klinischen Follow-Up entsprechend, laut Einwohnermeldeamt oder laut weiterbehandelnder Praxen/Klini-ken
- der Todeszeitpunkt

Die neuropathologischen Daten zu allen Primärtumoren wurden aus den Arztbriefen der befundenen Neuropathologen des Klinikums rechts der Isar extrahiert. Von Interesse waren hier:

- die histologische Diagnose: Glioblastom, Riesenzell-Glioblastom, Gliosarkom
- der IDH-Status (durch IHC des R132H IDH 1 und teils auch durch IDH 1- und IDH 2-Sequenzierung bestimmt): Wildtyp (Mutation führte zum Ausschluss)
- der MGMT-Promotormethylierungsstatus (methyliert oder unmethyliert) inklusive des jeweiligen Prozentanteils laut der PCR

- der Prozentanteil des Proliferationsmarkers Ki-67 (IHC mit Antikörper MIB-1); war ein Gesamtanteil und ein fokaler Maximalanteil angegeben, so wurde der Maximalanteil verwendet
- die Expression von ATRX (durch IHC bestimmt): Erhalt oder Verlust

3.4 p53-Immunhistochemie

Zusätzlich wurden zu jedem Primärtumor, wenn bereits vorhanden, p53-IHC-Schnitte aus dem Archiv der Pathologie akquiriert oder, wenn nicht bei Erstbefundung durchgeführt, derjenige Paraffinblock des Primärtumors ausfindig gemacht, der von der zuständigen Neuropathologie als Tumorzentrum klassifiziert worden war. Dieser wurde dann (von der Laborleiterin Sandra Baur und dem MTLA Christian Schustetter) geschnitten und auf einen Objektträger aufgetragen und schließlich (durch das Team der Routinediagnostik des Instituts für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie in domo) mit einem Anti-p53-Antikörper immunhistochemisch gefärbt.

Bei 7 der 202 Patient/-innen war nicht mehr genügend Material im Paraffinblock vorhanden, um die Färbung durchzuführen, sodass sie für die weitere Analyse ausgeschlossen werden mussten.

3.4.1 Anti-p53-Antikörper DO-7

Sowohl für die bereits im Archiv vorhandenen als auch für die nachträglich erstellten p53-IHC-Färbungen wurde der Anti-p53-Antikörper DO-7 (Dako, 1:100) verwendet.

Bei diesem handelt es sich um einen monoklonalen Maus-Antikörper, der spezifisch mit menschlichem p53 reagiert und gegen ein N-terminal gelegenes Epitop des Proteins gerichtet ist. Er zeigt eine Immunreaktion sowohl mit Wildtyp-p53 als auch mit mutiertem p53 und wurde entwickelt, um mittels IHC aberrante Level von p53 in Tumorproben – insbesondere auch in solchen, die in Paraffin eingebettet sind – nachzuweisen. (Pillai et al., 2003; Vojtěšek et al., 1992)

3.4.2 Beurteilung der p53-Immunreaktion

Die 195 gefärbten Schnitte wurden an einem Lichtmikroskop (Olympus BX40) ausgewertet.

Für die Berechnung des Prozentsatzes der immunreaktiven Nuklei wurden nur Areale mit hoher Tumorzell-dichte, dem Tumorzentrum entsprechend, berücksichtigt.

Bei 400-facher Vergrößerung wurden in einem den genannten Kriterien entsprechenden Sichtfeld mindestens 50 Nuklei gezählt und dadurch der prozentuale Anteil der immunreaktiven

Nuklei starker Intensität (IRstark) und der Anteil immunreaktiver Nuklei jeglicher Intensität (IRgesamt) berechnet. Diese Prozentzahl wurde dann mittels Schätzung oder erneuter Zählung je nach Größe des Schnittes in insgesamt mindestens 5 ebenfalls tumorzellreichen Sichtfeldern abgeglichen. Wenn sich die Immunreaktion in den betrachteten Sichtfeldern unterschied, wurde der Gesamtdurchschnitt berechnet. Zuletzt wurde jeweils der gesamte Schnitt in 100-facher Vergrößerung durchgemustert und erneut auf Areale mit auffallender Heterogenität geachtet, um möglichst akkurate und übertragbare Prozentzahlen für die beiden Methoden zu erreichen. Die Prozentzahlen wurden bis 10 Prozent in 1 Prozent-Schritten und über 10 Prozent in 5 Prozent-Schritten angegeben.

Anschließend wurden alle 195 p53-Schnitte anhand des erhaltenen Prozentanteils von IRstark für die statistische Auswertung in 2 Klassen aufgeteilt, wobei galt, dass IRstark <10 Prozent der Klasse p53-Wildtyp (p53wt) und IRstark \geq 10 Prozent der Klasse p53-mutiert (p53mut) entsprach. Zudem wurde die Konkordanz dieser Methode zu einer Alternativmethode, bei der galt, IRgesamt <40 Prozent entspräche p53wt und IRgesamt \geq 40 Prozent entspräche p53mut, untersucht.

Die mit der Methode IRstark als grenzwertig eingeordneten Schnitte wurden (durch PD Dr. Friederike Liesche-Starnecker) zusätzlich validiert.

3.5 Statistik

Alle statistischen Analysen wurden mit SPSS (Version 27) durchgeführt. Das Signifikanzniveau α wurde auf 5 Prozent festgelegt und damit galt $p \leq 0,05$ als statistisch signifikant.

Die deskriptive Statistik wurde zum einen für das Gesamtkollektiv und zum anderen klassiert nach p53wt und p53mut durchgeführt.

Alle intervall- und ordinalskalierten Variablen wurden grafisch (durch Histogramme) auf Normalverteilung überprüft. Bei vorliegender symmetrischer Verteilung wurden zur Beschreibung der Mittelwert und die Standardabweichung (SD) verwendet, bei Verzerrung/schiefer Verteilung wurde dagegen der Median angegeben und in eckigen Klammern das 25. Perzentil (1. Quartil) und das 75. Perzentil (3. Quartil) als Maß der Streuung.

Um Unterschiede der klinischen und molekularpathologischen Merkmale zwischen den Klassen p53wt und p53mut aufzudecken, wurden ordinal- und intervallskalierte nicht normalverteilte Merkmale mit dem Mann-Whitney-U-Test untersucht, wohingegen für nominalskalierte Merkmale der Chi-Quadrat-Test (bei gültiger Gesamt-Fallzahl >20 und erwarteter Häufigkeit über 5) oder der exakte Test nach Fisher (bei verletzter Voraussetzung für den Chi-Quadrat-

Test und 2x2-Tabelle) verwendet wurde. Ergab sich im Mann-Whitney-U-Test ein signifikanter Unterschied, so wurde die Effektstärke r berechnet (Z/\sqrt{N}) und als schwach ($0,1 \leq r < 0,3$), mittel ($r \geq 0,3$) oder stark ($r \geq 0,5$) bezeichnet (Cohen, 1992).

Die beiden Methoden IRstark und IRgesamt für die Auswertung der p53-Immunreaktion wurden hinsichtlich ihrer Übereinstimmung untersucht, indem eine Kreuztabelle erstellt und Cohen's Kappa-Koeffizient berechnet wurde. Die Stärke der Übereinstimmung wurde dann als mangelhaft ($\kappa < 0$), gering ($0 \leq \kappa \leq 0,2$), mäßig ($0,2 < \kappa \leq 0,4$), moderat ($0,4 < \kappa \leq 0,6$), substanziell ($0,6 < \kappa \leq 0,8$) oder fast perfekt ($\kappa > 0,8$) bewertet (Landis & Koch, 1977).

Bei einigen Patient/-innen konnten die genauen Zeiträume der Strahlen- bzw. Chemotherapien retrospektiv nicht exakt ermittelt werden und es war lediglich bekannt, dass eine Strahlen-/Chemotherapie nach dem jeweiligen Therapieregime komplettiert wurde. Die betreffenden Patient/-innen wurden nicht für die Ermittlung der Therapiedauer und des Abstandes zwischen Operation und Strahlentherapie verwendet.

Zunächst wurde separat für alle Faktoren (univariat) das Gesamtüberleben (OS) – also die Zeit vom Diagnosezeitpunkt (Datum der ersten Resektion) bis zum Todeszeitpunkt – betrachtet und hierbei sowohl Patient/-innen berücksichtigt, bei denen das Ereignis Tod innerhalb des Beobachtungszeitraums eingetreten war, als auch solche, für die es nicht eingetreten war – die also entweder noch lebten oder in der Datenerhebung nicht weiterverfolgt werden konnten (*lost to Follow-Up*). Diejenigen, die nicht verstorben waren, wurden zum Zeitpunkt des letzten Follow-Ups zensiert. Es wurde die Kaplan-Meier-Methode angewendet und falls sich die jeweiligen Kaplan-Meier-Kurven nicht überschneiden, wurde ein Log-rank-Test auf Gleichheit der Überlebensverteilung durchgeführt. Die Faustregel von mindestens 30 Ereignissen als Voraussetzung für den Log-rank-Test wurde überprüft. Da der Mittelwert des Kaplan-Meier-Schätzers besonders für die späteren Zeitpunkte stark von der Verteilung der Zensierungszeiten abhängt, wurde nur der Median angegeben. Aus der Überlebensstabelle wurde jeweils das 5-Jahres-Überleben extrahiert im Sinne des Schätzers zum letzten Zeitpunkt unter 60 Monate. Schließlich wurde für jeden Faktor überprüft, ob die proportionale Hazards-Annahme erfüllt war, also ob das Risiko über die Zeit konstant und proportional zum Risiko der Referenzkategorie war (Schendera, 2008). Dafür wurde jeweils ein Log-Minus-log-Diagramm (LML) mit dem kumulierten Hazard auf der y-Achse und der Zeit auf der x-Achse erstellt und grafisch überprüft, ob jeder der Graphen der Faktorausprägungen einen ungefähr parallelen Verlauf ohne Überschneidungen hatte (Schendera, 2008). Anschließend wurde für den jeweiligen Faktor eine Cox-

Regression durchgeführt, kategoriale Variablen als solche definiert, eine Referenzkategorie gewählt und das Risikoverhältnis (*Hazard Ratio*, HR) samt 95%-KI sowie der p-Wert bestimmt.

Für die univariaten Analysen des progressionsfreien Überlebens (PFS) wurde ebenso vorgegangen. Das PFS war hierbei definiert als Zeit von der ersten Resektion bis Eintritt eines durch neuroradiologische Fachärzte festgestellten MRT-Progresses oder bis zum Todeszeitpunkt. Zu beachten war hier, dass eine Follow-Up-Lücke bei nicht eingetretenem MRT-Progress nicht größer als 3 Monate sein durfte, damit der Tod als Ereignis-Eintritt gewertet werden durfte. Fälle, die diese Annahme verletzen, wurden entsprechend zensiert. Eine genaue Erläuterung hierzu findet sich im Ergebnis-Teil.

Manchmal war der exakte Tag des ersten Progresses nicht bekannt, sondern nur der Monat. In diesen Fällen wurde der 15. des Monats zur Berechnung des PFS verwendet, um eine Verzerrung möglichst gering zu halten.

Weiterhin wurden für das OS und das PFS multivariate Cox-Regressionsanalysen für die Untersuchung des gleichzeitigen Einflusses verschiedener Kovariaten – und insbesondere die tatsächliche für Gruppenunterschiede korrigierte prognostische Bedeutung des p53-Status – durchgeführt. In das jeweilige Modell wurden die aus der Literatur bekannten prognostischen Faktoren aufgenommen, wobei die stetigen Variablen Alter bei Diagnose, Ki-67-Proliferationsindex und die ordinale Variable Karnofsky Performance Status (KPS) nur klassiert nach dem in der Literatur prognostisch ausschlaggebenden Schwellenwert verwendet wurden.

Sowohl das OS als auch das PFS wurden in Monaten angegeben. Der besseren Vergleichbarkeit halber wurde dafür die exakte Tageanzahl in Einheitsmonate à 30,5 Tage umgerechnet anstelle der Verwendung der exakten Kalendermonate.

Für die Untersuchung des p53-Status als prädiktiver Marker wurde eine Cox-Regressionsanalyse für die Interaktion zwischen p53-Status und der Primärtherapie mit den einzelnen Kovariaten sowie deren Produkt für das OS und für das PFS durchgeführt. Dabei wurden für die Primärtherapie die alleinige Chemotherapie, aufgrund der zu geringen Fallzahl, und Best Supportive Care, da es sich dabei nicht im eigentlichen Sinne um eine Therapie handelt, als fehlend definiert.

4 Ergebnisse

4.1 Histopathologische und molekulargenetische Merkmale

4.1.1 Klassierung der Primärtumoren nach p53-Status

Abbildung 7 stellt grafisch dar, wie die im Methodenteil beschriebene Zuordnung der Patient/-innen zu den Klassen p53wt und p53mut erfolgte, wobei die rote Linie auf der Position des Schwellenwertes – 10 Prozent Immunreaktion starker Intensität mit dem Anti-p53-Antikörper – liegt. Wie gut zu sehen ist, ist die Verteilung in beiden p53-Statusklassen nicht symmetrisch, sondern für p53wt rechtsschief und für p53mut bimodal, weshalb die Angabe von Mittelwert und Standardabweichung an dieser Stelle nicht sinnvoll ist.

Der Median der starken Immunreaktion (dargestellt durch gestrichelte Linien) lag für p53wt bei 3 Prozent [1 bis 5 Prozent] und für p53mut bei 30 Prozent [20 bis 80 Prozent]. Das Minimum von 0 Prozent starker Immunreaktion kam bei 7 und das Maximum von 95 Prozent bei 3 Primärtumoren vor.

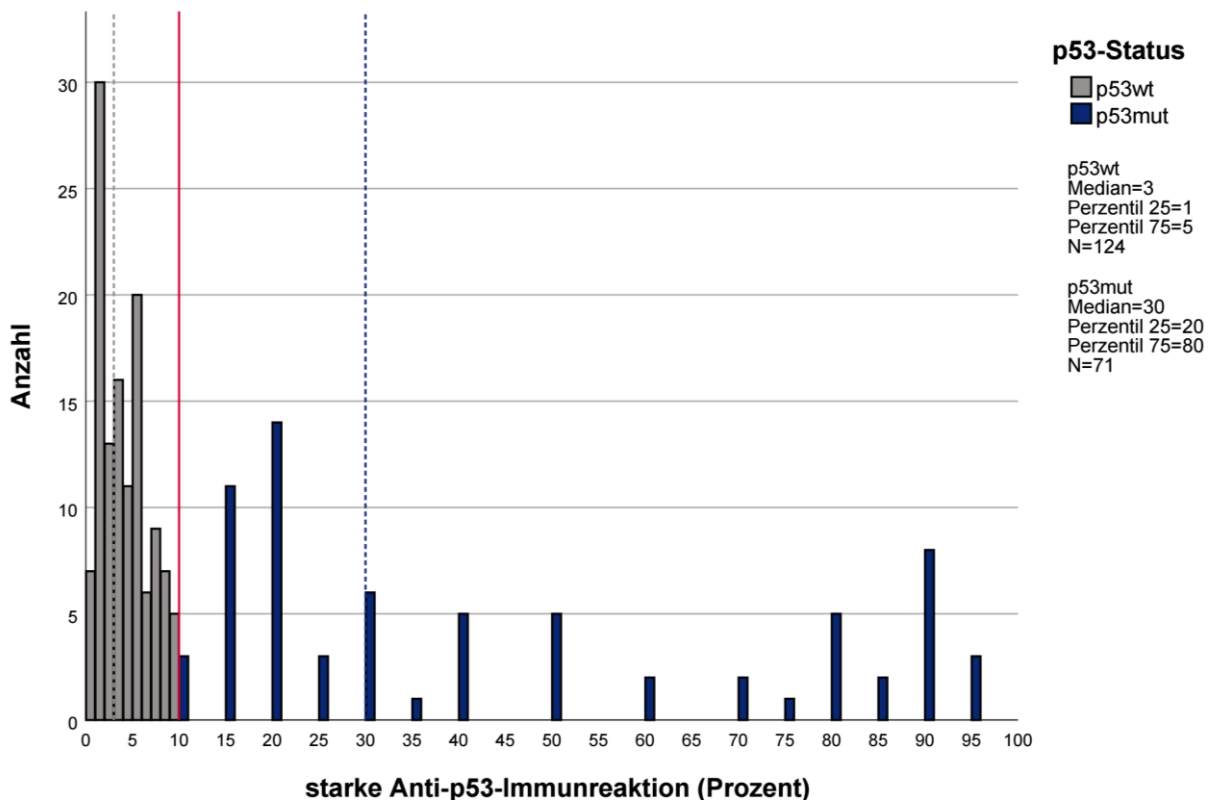


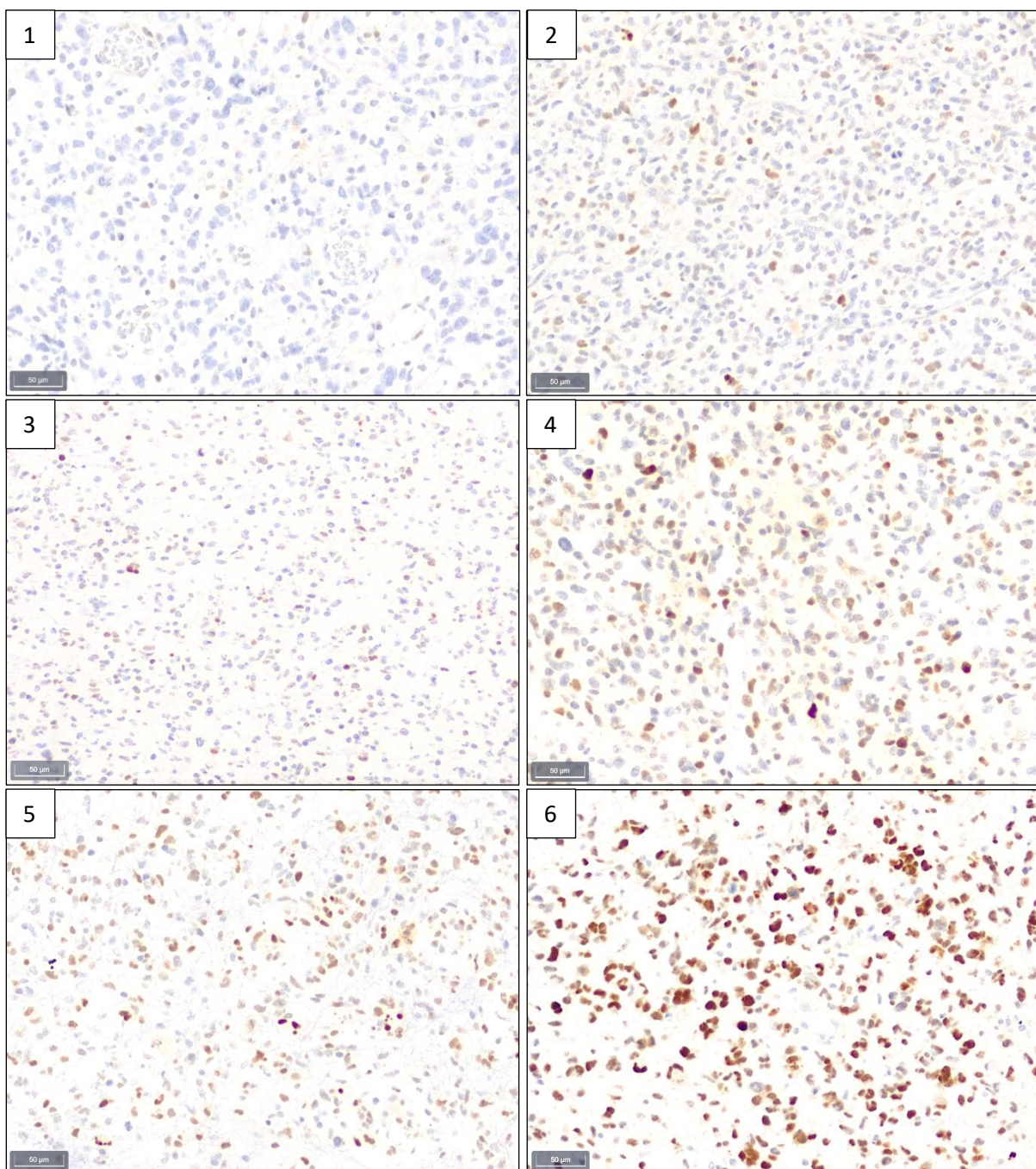
Abbildung 7: Klassierung der Primärtumoren nach p53-Status anhand der Methode IRstark

Die rote Linie stellt den Schwellenwert von 10 Prozent starker Anti-p53-Immunreaktion dar. Ab diesem Wert wurden Primärtumoren der Klasse p53mut zugeordnet, alles darunter wurde als p53wt gewertet. Die Mediane sind mit gestrichelten Linien dargestellt.

Von den insgesamt 202 Primärtumoren wurden 71 als p53mut und 124 als p53wt klassiert – somit konnten insgesamt 195 Patient/-innen in den folgenden nach p53 klassierten Analysen betrachtet werden. Von 7 der 202 Primärtumoren war nicht mehr genügend Material vorhanden, um eine p53-IHC durchzuführen und die Bestimmung des p53-Status sowie die Zuordnung zu einer der beiden Klassen war hier somit nicht möglich.

Die Frequenz der (anzunehmenden) p53-Mutation lag im Gesamtkollektiv bei 36,4 Prozent (71/195).

Im Mann-Whitney-U-Test ergab sich zwischen p53wt und p53mut ein signifikanter Unterschied der starken Immunreaktion gegen p53 ($p < 0,001$) und die Effektstärke war stark ($r = 0,83$).



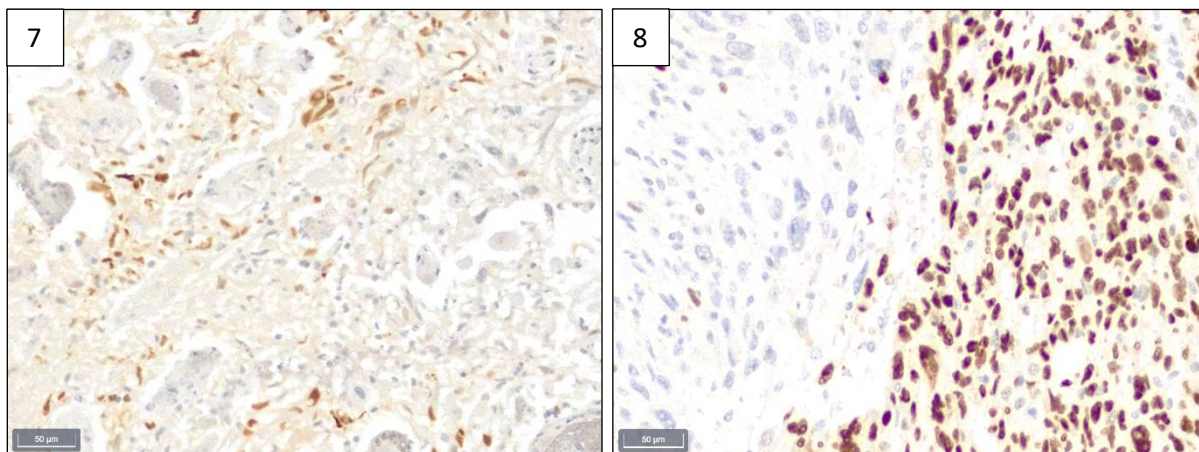


Abbildung 8: Beispielbilder und Interpretation der betrachteten p53-IHC-Schnitte, welche mit dem Anti-p53-Antikörper DO-7 gefärbt sind

Beispielhaft für eine Konkordanz beider Methoden stehen hier Bild 1 (IRstark und IRgesamt 0 Prozent) und 2 (IRstark 3 Prozent, IRgesamt 15 Prozent), jeweils als p53wt bewertet. Bei Bild 3 (IRstark 3 Prozent, IRgesamt 50 Prozent) und Bild 4 (IRstark 9 Prozent, IRgesamt 45 Prozent) divergieren dagegen die Bewertungen beider Methoden und es wäre jeweils nur bei IRgesamt eine Mutation angenommen worden. Zwei der Primärtumoren im Kollektiv waren vorab mittels Next Generation Sequencing (NGS) untersucht worden und bestätigten die Überlegenheit der Methode IRstark – bei Bild 5 (IRstark 7 Prozent, IRgesamt 40 Prozent) handelt es sich um einen bestätigten p53wt, bei Bild 6 (IRstark 90 Prozent, IRgesamt 95 Prozent) um einen bestätigten p53mut Tumor. Bei Bild 7 (IRstark 9 Prozent, IRgesamt 20 Prozent; es handelt sich um ein Gliosarkom) und Bild 8 (IRstark 60 Prozent, IRgesamt 70 Prozent) lag eine auffallende intratumorale Heterogenität vor, bei Bild 8 kamen Areale mit komplett fehlender Immunreaktion vor.

4.1.1.1 Konkordanz der Methoden zur Beurteilung der p53-Immunhistochemie

Für die Klassierung nach p53-Status und damit auch als Grundlage für alle statistischen Analysen dieser Arbeit wurde, wie bereits erwähnt, die Methode IRstark verwendet, welche zuvor für am besten geeignet befunden worden war.

Da, wie in der Diskussion beschrieben, die Methode IRgesamt in Studien fast ebenso überzeugende Ergebnisse gezeigt hatte und bei der Auswertung der p53 Schnitte für die vorliegende Arbeit sowohl die p53-Immunreaktion starker als auch die jeglicher Intensität beurteilt worden war, wurden beide Methoden hinsichtlich ihrer Übereinstimmung untersucht.

Wie in Tabelle 2 ersichtlich wird, stimmten die beiden Methoden in 93 Fällen in der Bewertung als p53wt und in 71 Fällen in der Bewertung als p53mut überein. Jedoch wären 31 Fälle mit der Methode IRgesamt als p53mut eingeordnet worden, welche mit unserer gewählten Methode IRstark einem p53wt entsprachen. Umgekehrt wurde mit der gewählten Methode IRstark kein Fall als p53mut deklariert, welcher mit der Methode IRgesamt als p53wt gewertet worden wäre. Unter Betrachtung der Gesamtzahlen fällt auf, dass in unserem Kollektiv, wenn die Methode

IRgesamt gewählt worden wäre, eine Mehrzahl der Primärtumoren (102/195 entsprechend 52,3 Prozent) als p53mut eingeordnet worden wäre, wohingegen mit der tatsächlich gewählten Methode IRstark lediglich 36,4 Prozent (71/195) so klassifiziert wurden.

Tabelle 2: Kreuztabelle für die Übereinstimmung der Methoden IRstark und IRgesamt

		IRgesamt			
		p53wt	p53mut	Gesamt	
IRstark	p53wt	Anzahl	93	31	124
		% von IRstark	75,0%	25,0%	100,0%
		% von IRgesamt	100,0%	30,4%	63,6%
	p53mut	Anzahl	0	71	71
		% von IRstark	0,0%	100,0%	100,0%
		% von IRgesamt	0,0%	69,6%	36,4%
Gesamt		Anzahl	93	102	195
		% von IRstark	47,7%	52,3%	100,0%
		% von IRgesamt	100,0%	100,0%	100,0%

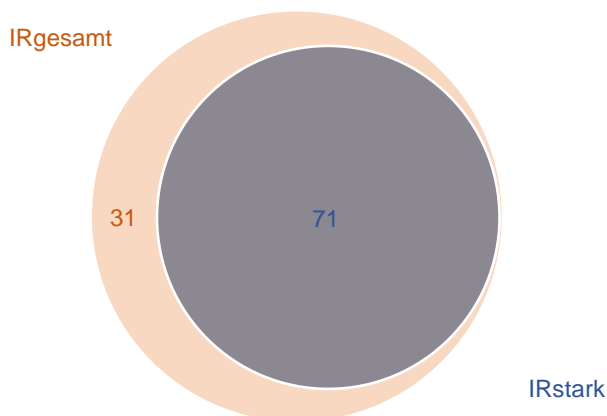


Abbildung 9: Venn-Diagramm für die Übereinstimmung der Methoden IRstark und IRgesamt in der Bewertung von Primärtumoren als p53mut

Die Methoden stimmten in 71 Fällen in der Bewertung als p53mut überein, 31 weitere Primärtumoren wurden nur mit der Methode IRgesamt als p53mut gewertet. Kein Fall wurde ausschließlich mit der Methode IRstark als p53mut eingeordnet.

Der Cohen's Kappa-Koeffizient als Maß der Übereinstimmung für die beiden Methoden erreichte statistische Signifikanz ($p < 0,001$) und ergab eine substanzielle Übereinstimmungsstärke ($\kappa = 0,686$).

4.1.2 Histologische Diagnose

Bei 193 Patient/-innen (95,5%) im Gesamtkollektiv wurde histologisch ein Glioblastom IDH-Wildtyp (IDHwt) diagnostiziert, während dessen Varianten Riesenzell-Glioblastom in lediglich 5 Fällen (2,5%) und Gliosarkom in 4 Fällen (2,0%) diagnostiziert wurden.

Die Glioblastom-Varianten unterschieden sich hinsichtlich der Frequenz einer (anzunehmenden) p53-Mutation. Während diese für das „klassische“ IDHwt Glioblastom bei 35,5 Prozent (66/186) lag, war sie für die Variante Riesenzell-Glioblastom mit 80 Prozent (4/5) deutlich höher und für die Variante Gliosarkom mit 25 Prozent (1/4) etwas niedriger.

Die Testvoraussetzungen für den Chi-Quadrat-Test waren verletzt, weil über 20 Prozent der Zellen in der Kreuztabelle eine erwartete Häufigkeit kleiner als 5 aufwiesen und der exakte Test nach Fisher war nicht durchführbar, weil es sich nicht um eine 2x2-Tabelle handelte.

4.1.3 MGMT-Promotormethylierung

Eine MGMT-Promotormethylierung lag in insgesamt 79 Fällen (46 p53wt [37,1% dieser Klasse], 28 p53mut [39,4% dieser Klasse], 5 ohne p53-Status) vor. Bei 6 Glioblastomen (5 p53wt [4,0%], 1 p53mut [1,4%]) war nicht genügend Material für die zur Bestimmung notwendige PCR vorhanden.

Der Chi-Quadrat-Test ergab für den Unterschied zwischen p53wt und p53mut bei der MGMT-Promotormethylierung klassiert als binäre Variable keine statistische Signifikanz ($p=0,855$).

Das genaue PCR-Ergebnis als metrisch skaliertes Merkmal war für das Gesamtkollektiv und auch für p53wt und p53mut einzeln betrachtet deutlich rechtsschief verteilt. Tabelle 3 zeigt, dass der Median für p53wt bei 1,4 [0,1 bis 30,9] und für p53mut bei 3,4 [0,1 bis 34,2] Prozent lag. Die Minima waren für beide p53-Statusklassen bei 0,0 Prozent und die Maxima lagen bei 115,2 (p53wt) bzw. 197,3 (p53mut) Prozent.

Tabelle 3: Exaktes PCR-Ergebnis der Untersuchung auf MGMT-Promotormethylierung in Prozent

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	119	5	1,4	,1	30,9	,0	115,2
p53mut	70	1	3,4	,1	34,2	,0	197,3
ohne p53-Status	7	0	100,0	6,5	110,0	,0	148,2
Gesamt	196	6	3,3	,1	33,8	,0	197,3

Für dieses exakte PCR-Ergebnis war der Unterschied zwischen p53wt und p53mut im Mann-Whitney-U-Test ebenfalls nicht statistisch signifikant ($p=0,480$).

4.1.4 Ki-67-Proliferationsindex

Die maximale Immunreaktion mit dem Anti-Ki-67-Antikörper MIB-1 war sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für p53wt und p53mut jeweils einzeln betrachtet rechtsschief verteilt. Die statistischen Lagemaße und Streuungsparameter werden aus Tabelle 4 ersichtlich. Für p53wt lag die Immunreaktion im Median bei 25 [20 bis 40] Prozent und für p53mut etwas höher bei 33 [25 bis 40] Prozent. Das Minimum lag bei 3 (p53wt) bzw. 12 (p53mut) Prozent und die Maxima bei 90 Prozent.

Leider gab es in beiden p53-Statusklassen relativ viele fehlende Werte, sodass Daten zu Ki-67 nur für insgesamt 146 Primärtumoren (90 p53wt [72,6% dieser Klasse], 50 p53mut [70,4% dieser Klasse], 6 ohne p53-Status) vorlagen.

Tabelle 4: Immunreaktion gegen Ki-67 in Prozent

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	90	34	25	20	40	3	90
p53mut	50	21	33	25	40	12	90
ohne p53-Status	6	1	25	18	50	10	90
Gesamt	146	56	30	20	40	3	90

Der beschriebene Unterschied der Ki-67-Immunreaktion zwischen den p53-Statusklassen erreichte im Mann-Whitney-U-Test deutlich statistische Signifikanz ($p=0,005$).

Zusätzlich wurde eine Klassierung mit Schwellenwert 30 Prozent für Ki-67 durchgeführt. Bei 65 Primärtumoren (48 p53wt [53,3% der gültigen Ki-67 Schnitte dieser Klasse], 14 p53mut [28,0% der gültigen Ki-67 Schnitte dieser Klasse], 3 ohne p53-Status) lag die Immunreaktion unter 30 Prozent und bei 81 Primärtumoren (42 p53wt [46,7%], 36 p53mut [72,0%], 3 ohne p53-Status) bei 30 Prozent oder höher. Für die p53-Statusklassen ist dies grafisch in Abbildung 10 dargestellt und es wird sichtbar, dass ein deutlich größerer Anteil der Primärtumoren mit (anzunehmender) p53-Mutation eine Immunreaktion gegen Ki-67 über 30 Prozent aufwies als derjenigen mit (anzunehmendem) p53-Wildtyp.

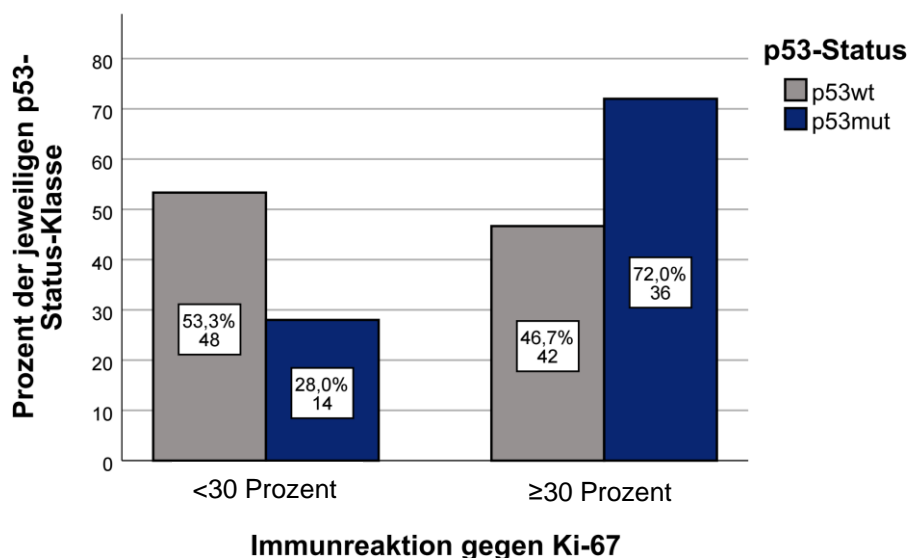


Abbildung 10: Immunreaktion gegen Ki-67 klassiert nach p53-Status

Bei p53mut schien die Immunreaktion gegen Ki-67 häufiger bei mindestens 30 Prozent zu liegen als bei p53wt.

Auch nach Klassierung der Ki-67-Immunreaktion wies p53mut signifikant häufiger einen höheren Ki-67-Proliferationsindex auf als p53wt (Chi-Quadrat-Test; $p=0,004$).

4.1.5 ATRX

Die ATRX-IHC wurde bei lediglich 62 Patient/-innen (30,7% des Gesamtkollektivs) durchgeführt. Davon lag bei 5 Tumorproben (3 p53wt [2,4% dieser Klasse], 2 p53mut [2,8% dieser Klasse]) ein ATRX-Verlust vor, dagegen war bei 57 (35 p53wt [28,2% dieser Klasse], 21 p53mut [29,6% dieser Klasse], 1 ohne p53-Status) die Immunreaktion in den Tumorzellen erhalten. Dies entspricht einem Anteil von 8,1 Prozent mit ATRX-Verlust bezogen auf die darauf untersuchten Proben im Gesamtkollektiv.

Der exakte Test nach Fisher ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied für den ATRX-Status zwischen den p53-Klassen ($p=1,000$).

4.2 Klinische Merkmale

4.2.1 Geschlechterverhältnis

Das Gesamtkollektiv bestand aus 111 Männern (55,0%) und 91 Frauen (45,0%). Daraus errechnete sich ein Geschlechterverhältnis (M:F) von 1,22:1.

Abbildung 11 zeigt die Geschlechterverteilung nach p53-Status. In p53wt waren 69 Männer und 55 Frauen, was einem Geschlechterverhältnis (M:F) von 1,25:1 entsprach, während sich für p53mut mit 38 Männern und 33 Frauen das Verhältnis 1,15:1 ergab.

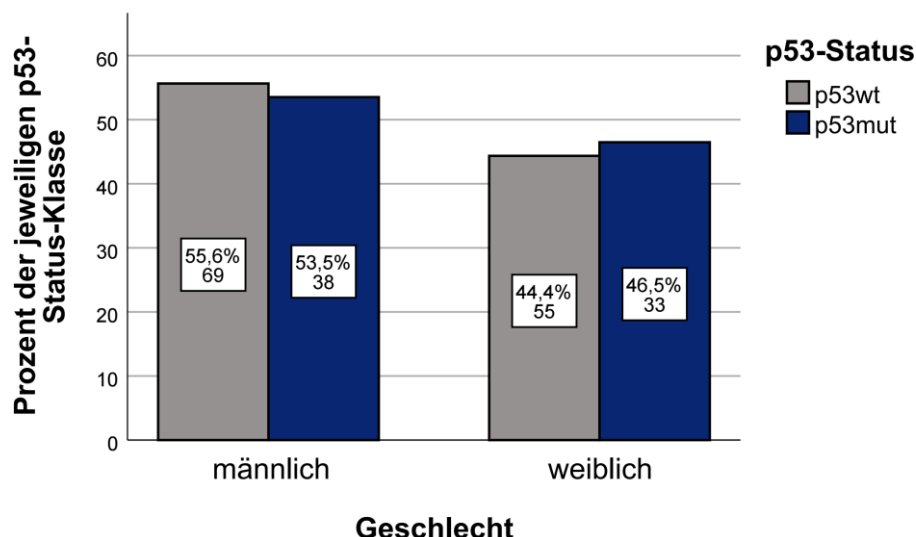


Abbildung 11: Geschlechterverteilung klassiert nach p53-Status

In der Geschlechterverteilung stellte sich grafisch kein deutlicher Unterschied zwischen p53mut und p53wt dar.

Im Chi-Quadrat-Test ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Geschlechterverteilung zwischen den p53-Statusklassen ($p=0,774$).

4.2.2 Alter bei Diagnose

Die statistischen Lagemaße und Streuungsparameter für die Altersverteilung im Gesamtkollektiv und nach p53-Status werden in Tabelle 5 dargestellt. Da sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für p53wt und p53mut einzeln betrachtet eine linksschiefe Verteilung (negative Verzerrung) vorlag, wurden hier der Median und das 25. und 75. Quartil verwendet.

Für p53wt lag das Alter bei Diagnose bei 65,69 [56,37 bis 75,71] und für p53mut etwas höher bei 69,02 [57,75 bis 75,62]. Der jüngste Patient war zum Diagnosezeitpunkt 25,12 Jahre und der älteste 90,84 Jahre alt, beide p53wt zugeordnet.

Tabelle 5: Alter bei Diagnose in Jahren

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	124	0	65,69	56,37	75,71	25,12	90,84
p53mut	71	0	69,02	57,75	75,62	30,35	86,20
ohne p53-Status	7	0	66,34	53,66	72,30	27,27	83,47
Gesamt	202	0	66,32	56,55	75,58	25,12	90,84

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte, dass der Altersunterschied zwischen p53wt und p53mut nicht statistisch signifikant war ($p=0,468$).

Zusätzlich wurden zwei Altersklassen definiert, wobei Patient/-innen unter 65 Jahre von denjenigen unterschieden wurden, die 65 Jahre oder älter waren. Insgesamt bestand die jüngere Altersklasse aus 86 Personen (42,6%) und die ältere aus 116 Personen (57,4%). Für p53mut war das Verhältnis noch etwas mehr zugunsten der älteren Altersklasse ausgeprägt (62,0% [44/71]) als für p53wt (54,8% [68/124]).

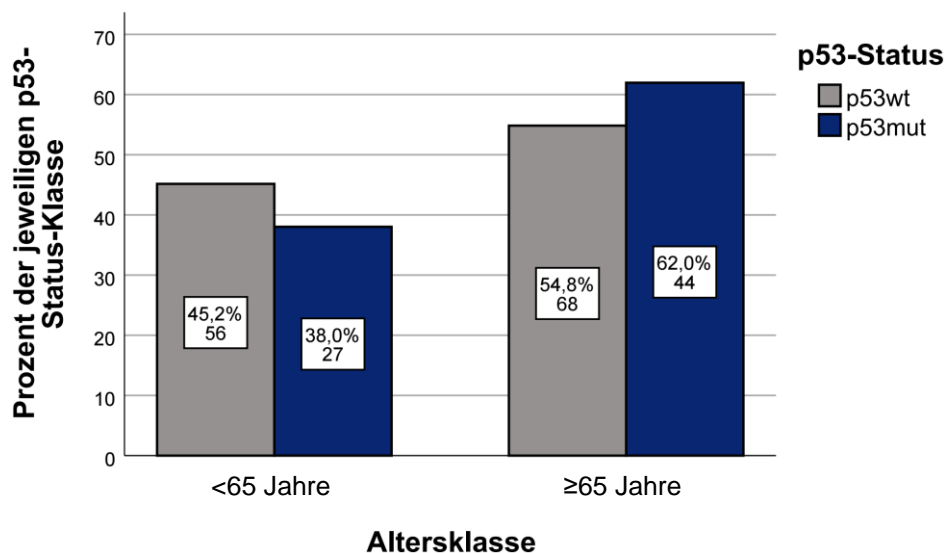


Abbildung 12: Alter klassiert nach p53-Status

Bei p53mut schien häufiger ein Alter von mindestens 65 Jahren bei Diagnose vorzuliegen als bei p53wt.

Auch dieser Unterschied war im Chi-Quadrat-Test nicht signifikant ($p=0,332$).

4.2.3 Karnofsky Performance Status bei Diagnose

Der prätherapeutische KPS war für das Gesamtkollektiv und auch für p53wt und p53mut einzeln betrachtet linksschief verteilt (negative Verzerrung). Auch hier (Tabelle 6) wurden somit als Lagemaße und Streuungsparameter der Median und das 25. und 75. Quartil verwendet.

Sowohl für p53wt als auch für p53mut und das Gesamtkollektiv lag der prätherapeutische KPS im Median bei 80 Prozent [70 bis 90]. Auch die Minima und Maxima waren mit 20 bzw. 100 Prozent zwischen den Klassen gleich.

Tabelle 6: KPS prätherapeutisch in Prozent

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	120	4	80	70	90	20	100
p53mut	69	2	80	70	90	20	100
ohne p53-Status	7	0	80	70	90	70	100
Gesamt	196	6	80	70	90	20	100

Im Mann-Whitney-U-Test ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen p53wt und p53mut ($p=0,437$).

Weiterhin wurden zwei Klassen des prätherapeutischen KPS definiert, unter 70 und größer gleich 70 Prozent. Die Klasse mit KPS unter 70 Prozent bestand insgesamt aus 41 Personen (21,7%), die mit dem höheren aus 148 Personen (78,3%). Wie in Abbildung 13 sichtbar ist, war das Verhältnis in p53mut etwas mehr zu Gunsten der Klasse des höheren KPS ausgeprägt (80,3% dieser Klasse [57/71]).

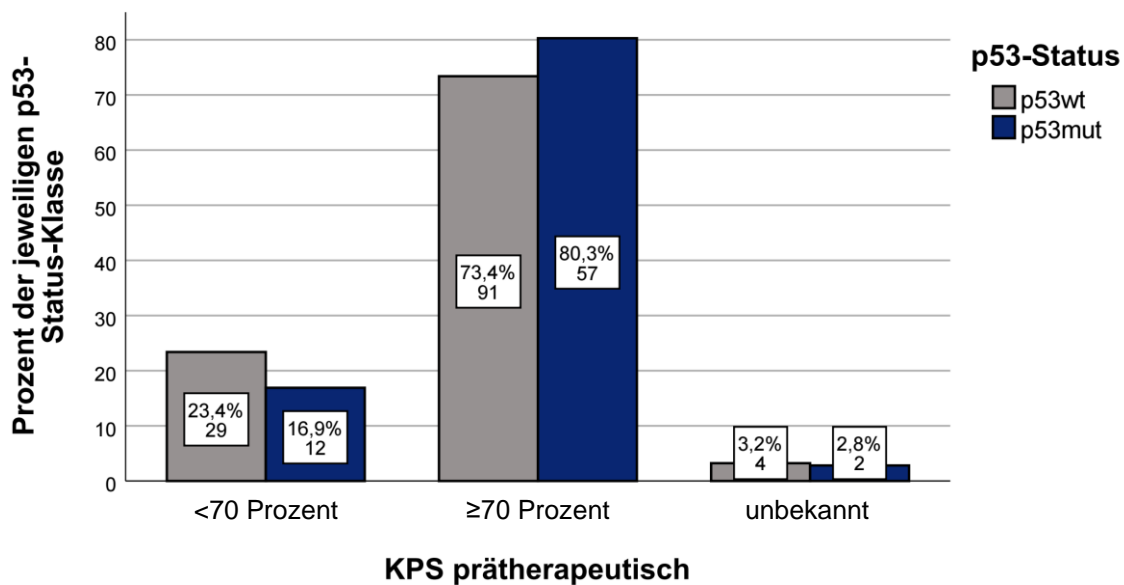


Abbildung 13: Prätherapeutischer KPS klassiert nach p53-Status

Bei p53mut schien häufiger ein KPS von mindestens 70 Prozent vor Therapiebeginn vorzuliegen als bei p53wt.

Auch nach Klassierung des KPS ergab sich im Chi-Quadrat-Test kein signifikanter Unterschied zwischen den p53-Statusklassen ($p=0,277$).

4.2.4 Lokalisation der Primärtumoren

4.2.4.1 Hemisphäre

Es fiel auf, dass sich knapp die Hälfte (48,0%) aller Primärtumoren in der rechten Hemisphäre befand, während ca. 37 Prozent links und ca. 15 Prozent beidseitig wuchsen. Ein größerer Anteil der Primärtumoren mit (anzunehmendem) p53-Wildtyp war in beiden Hemisphären lokalisiert (17,7% vs. 8,5%), während diejenigen mit (anzunehmender) p53-Mutation etwas häufiger in der linken Hemisphäre auftraten (40,8% vs. 34,7%). Die vollständigen Angaben können Tabelle 7 entnommen werden.

Tabelle 7: Hemisphäre der Primärtumoren

	links		rechts		beidseits		Gesamt	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
p53wt	43	34,7%	59	47,6%	22	17,7%	124	100,0%
p53mut	29	40,8%	36	50,7%	6	8,5%	71	100,0%
ohne p53-Status	3	42,9%	2	28,6%	2	28,6%	7	100,0%
Gesamt	75	37,1%	97	48,0%	30	14,9%	202	100,0%

Im Chi-Quadrat-Test zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Hemisphären-Zuordnung der Primärtumoren zwischen p53wt und p53mut ($p=0,195$).

Da es für die prognostische Bedeutung vor allem wichtig erschien, ob ein Primärtumor auf eine Hemisphäre – egal ob links oder rechts – begrenzt war oder nicht, wurde zusätzlich die binäre Variable „Primärtumor beidseits“ (ja oder nein) definiert. Wiederum war hierfür der Unterschied zwischen den p53-Statusklassen im Chi-Quadrat-Test nicht statistisch signifikant ($p=0,075$), jedoch war die Irrtumswahrscheinlichkeit für die Annahme dieser Alternativhypothese geringer als ohne Zusammenfassung der linken und rechten Hemisphäre.

4.2.4.2 Exaktes Hirnareal mit der Haupt-Tumormasse

Abbildung 14 zeigt die Zuordnung der Primärtumoren nach p53-Status zum jeweiligen Hirnareal mit der Haupt-Tumormasse. Wie sichtbar wird, war der Anteil multifokaler Primärtumoren für p53wt höher als für p53mut (12,9% vs. 5,6%). Bei p53mut lag dagegen die Haupt-Tumormasse bei Erstdiagnose häufiger im Parietallappen (23,9% vs. 10,5%). Für die übrigen Hirnareale ergab sich zwischen den beiden p53-Klassen kein deutlicher Unterschied.

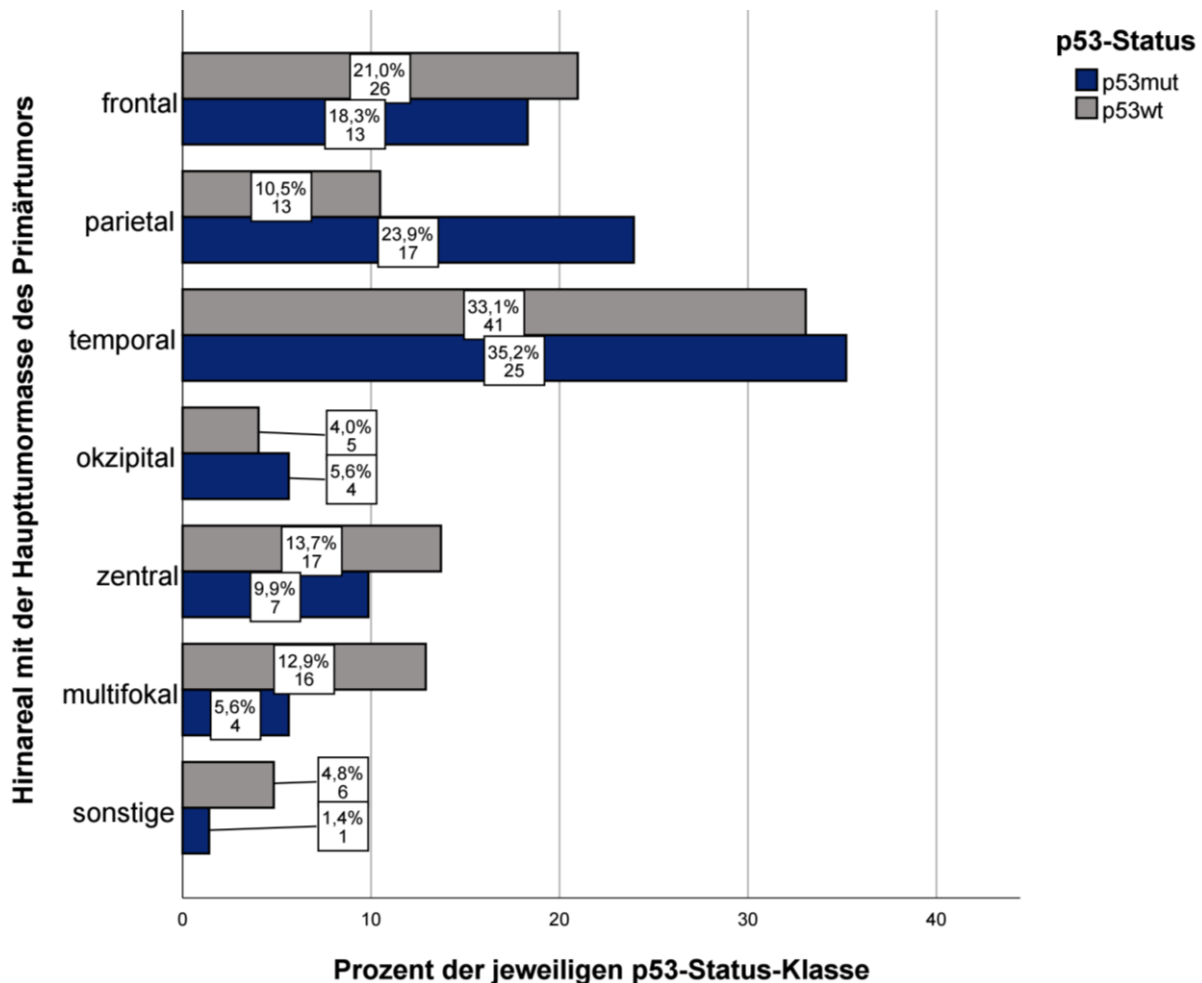


Abbildung 14: Hirnareal mit der Haupt-Tumormasse klassiert nach p53-Status

Die meisten Primärtumoren waren mit ihrer Haupt-Tumormasse dem Temporallappen zuzuordnen. Bei p53mut schien eine Lokalisation im Parietallappen häufiger vorzukommen, dagegen schienen p53wt Tumoren häufiger multifokal zu wachsen.

Die Testvoraussetzungen für den Chi-Quadrat-Test waren verletzt, weil knapp über 20 Prozent der Zellen in der Kreuztabelle eine erwartete Häufigkeit kleiner als 5 aufwiesen und der exakte Test nach Fisher war nicht durchführbar, weil es sich nicht um eine 2x2-Tabelle handelte.

4.2.5 Anzahl und Art der MRT-Progressse

Bei 108 Patient/-innen (65 p53wt [52,4% dieser Klasse], 39 p53mut [54,9% dieser Klasse], 4 ohne p53-Status) trat im Beobachtungszeitraum mindestens ein MRT-Progress auf. Der erste MRT-Progress wurde bei 68 Patient/-innen (46 p53wt [37,1%], 19 p53mut [26,8%], 3 ohne p53-Status) und damit bei der Mehrzahl als lokal, in 23 Fällen (11 p53wt [8,9%], 12 p53mut [16,9%]) als gemischt und in 13 Fällen als distant (6 p53wt [4,8%], 6 p53mut [8,5%], 1 ohne p53-Status) klassifiziert. In 4 Fällen (2 p53wt [1,6%], 2 p53mut [2,8%]) war die Art des 1.

Progresses nicht herauszufinden, da die Diagnose jeweils nicht in domo gestellt wurde und uns die jeweiligen genauen Befunde oder Bilder nicht vorlagen.

Ein zweiter Progress ereignete sich bei insgesamt 55 (36 p53wt [29,0%], 17 p53mut [23,9%], 2 ohne p53-Status), ein dritter Progress bei 24 (15 p53wt [12,1%], 7 p53mut [9,9%], 2 ohne p53-Status), ein vierter Progress bei 8 (5 p53wt [4,0%], 3 p53mut [4,2%]) und ein fünfter Progress bei 2 (1 p53wt [0,8%], 1 p53mut [1,4%]) Patient/-innen. Auch bei diesen weiteren MRT-Progressen machten lokale Progresse jeweils den größten Anteil aus (65,5% der zweiten, 58,3% der dritten, 75% der vierten und 50% der fünften MRT-Progresse).

Die Anzahl der MRT-Progresse war sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für p53wt und p53mut jeweils einzeln betrachtet rechtsschief verteilt. Wie Tabelle 8 zeigt, lag der Median für p53wt bei 2 [1 bis 2] Progressen und für p53mut bei einem [1 bis 2] Progress. Die Minima lagen jeweils bei 0 und die Maxima bei 5.

Tabelle 8: Anzahl der MRT-Progresse

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	70	54	2	1	2	0	5
p53mut	40	31	1	1	2	0	5
ohne p53-Status	4	3	2	1	3	1	3
Gesamt	114	88	1	1	2	0	5

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte keinen signifikanten Unterschied der Anzahl der MRT-Progresse zwischen p53wt und p53mut ($p=0,595$).

4.2.6 Multifokales Tumorwachstum

Bei denjenigen Tumoren, bei denen es im Verlauf zu einem distanten oder gemischten (also lokal und distant gleichzeitigen) Progress kam, lag im Verlauf gemäß unserer Definition ein multifokales Tumorwachstum vor. So kamen zu den bereits primär multifokal lokalisierten Tumoren 45 weitere dazu (24 p53wt [19,4% dieser Klasse], 20 p53mut [28,2% dieser Klasse], 1 ohne p53-Status) und insgesamt entwickelten während des gesamten Beobachtungszeitraum mit 66 Tumoren (40 p53wt [32,3%], 24 p53mut [33,8%], 2 ohne p53-Status) etwa ein Drittel aller Tumoren ein multifokales Wachstum.

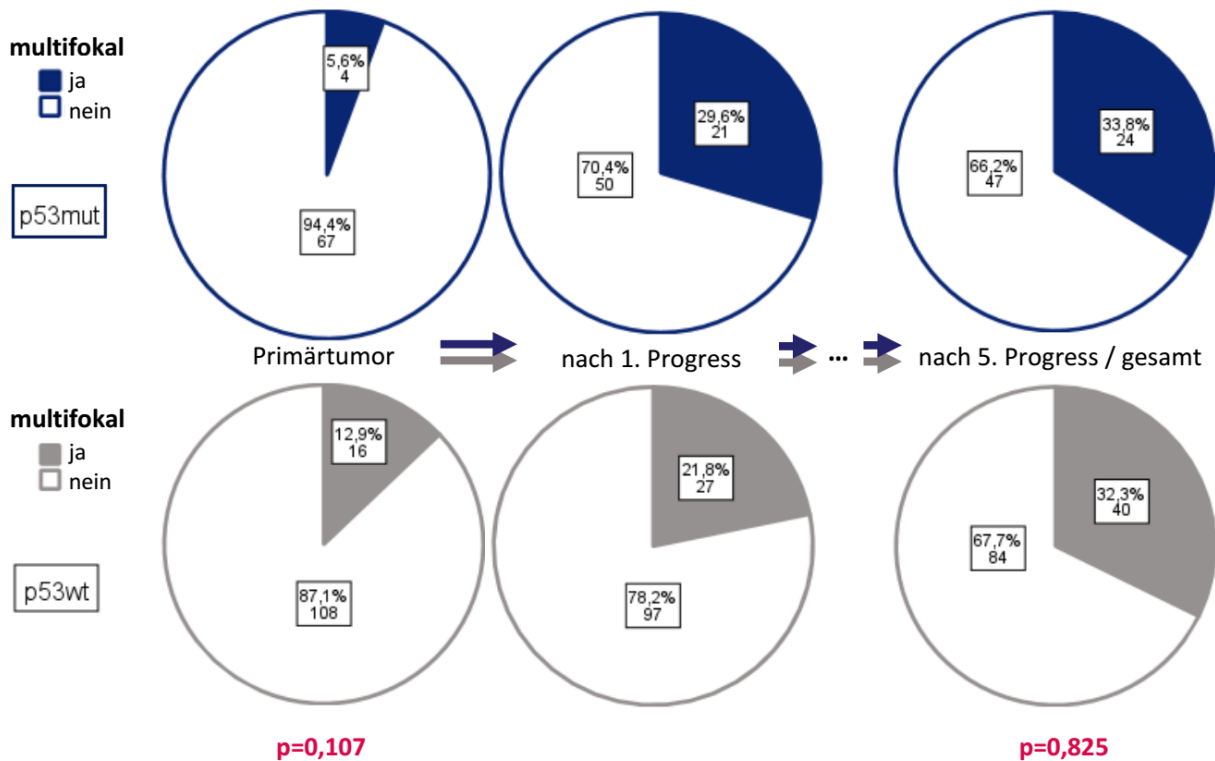


Abbildung 15: Multifokales Tumorwachstum im gesamten Beobachtungszeitraum klassiert nach p53-Status

Multifokale Primärtumoren schienen eher mit p53wt einherzugehen als mit p53mut. Diese Tendenz drehte sich nach dem ersten Progress um und war schließlich in der Betrachtung des gesamten Beobachtungszeitraums nicht mehr festzustellen.

Es zeigte sich eine Tendenz dahingehend, dass ein primär multifokales Tumorwachstum mit p53wt assoziiert zu sein schien, im Chi-Quadrat-Test ergab sich jedoch keine statistische Signifikanz ($p=0,107$). Über den weiteren Verlauf des Beobachtungszeitraums relativierte sich der Unterschied zwischen p53wt und p53mut weiter, wie in Abbildung 15 ersichtlich wird (Chi-Quadrat-Test gesamter Beobachtungszeitraum: $p=0,825$).

4.2.7 Resektionsausmaß und -anzahl

4.2.7.1 Primärtumorresektion

Eine Kompletresektion nach neuroradiologischen Gesichtspunkten gelang bei 113 Patient/-innen (66 p53wt [53,2% dieser Klasse], 43 p53mut [60,6% dieser Klasse], 4 ohne p53-Status) im Rahmen der ersten Operation, während 29 (19 p53wt [15,3%], 10 p53mut [14,1%]) zuerst eine subtotale Resektion und 59 (39 p53wt [31,5%], 17 p53mut [23,9%], 3 ohne p53-Status) eine Biopsie erhielten. Für weitere 20 Personen (11 p53wt [8,9%], 8 p53mut [11,3%], 1 ohne p53-Status) wurde bei zuerst inkompletter Resektion eine Nachresektion angeschlossen, welche in zusätzlichen 12 Fällen zum gewünschten Ergebnis der bildgebenden Kompletresektion führte (7 p53wt [5,6%], 4 p53mut [5,6%], 1 ohne p53-Status), sodass die Primärtumorresektion (also

vor Tumorprogress) für insgesamt 125 Patient/-innen (73 p53wt [58,9%], 47 p53mut [66,2%], 5 ohne p53-Status) als Komplettresektion gewertet werden konnte (siehe Abbildung 16).

Für die restlichen 76 Patient/-innen (51 p53wt [41,1%], 23 p53mut [32,4%], 2 ohne p53-Status) wurde die Primärtumorresektion als inkomplett bezeichnet, wobei hier Biopsie (gesamt 47; 32 p53wt [25,8%], 13 p53mut [18,3%], 2 ohne p53-Status) und subtotale Resektion (gesamt 29; 19 p53wt [15,3%], 10 p53mut [14,1%]) zusammengefasst wurden.

Für einen Patienten (p53mut [1,4%]) war die Art der Primärtumorresektion unbekannt, weil postoperativ nur ein CCT durchgeführt wurde, in welchem der Resttumor nicht beurteilbar war und der Patient am Folgetag verstarb.

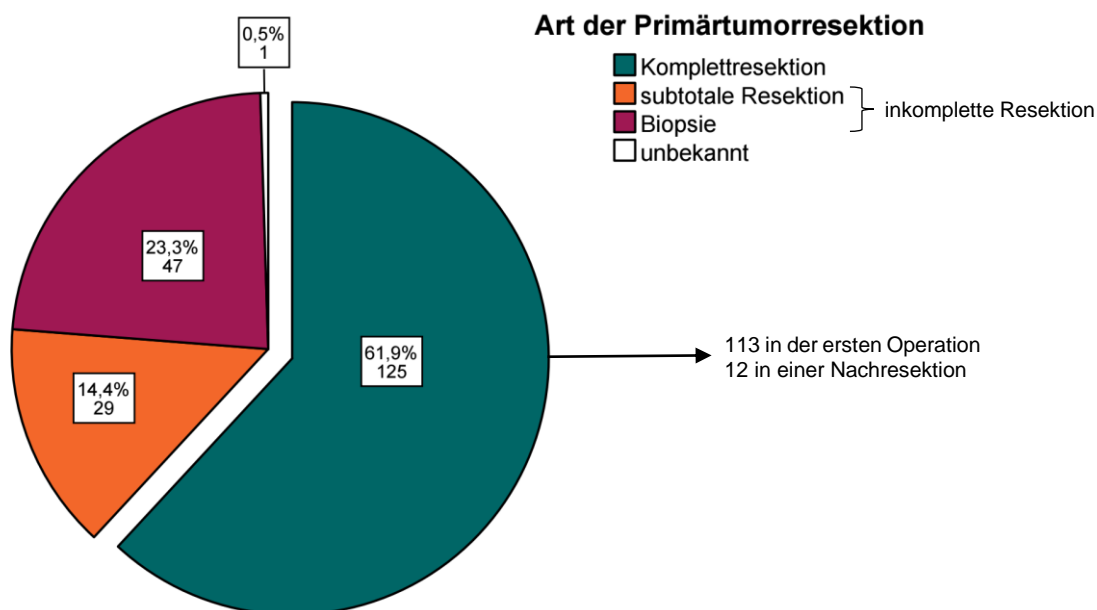


Abbildung 16: Art der Primärtumorresektion im Gesamtkollektiv (N=202)

Bei 61,9 Prozent aller Patient/-innen konnte eine Komplettresektion des Primärtumors erreicht werden.

Der Unterschied der Art der Primärtumorresektion zwischen den p53-Statusklassen zeigte sich im Chi-Quadrat-Test weder nach der exakten Art (Biopsie vs. subtotale Resektion vs. Komplettresektion; $p=0,464$) noch zusammengefasst (inkomplette Resektion vs. Komplettresektion; $p=0,255$) statistisch signifikant.

4.2.7.2 Rezidivresektionen

Zunächst wurde die absolute Anzahl der Resektionen betrachtet. Neben den genannten 20 Nachresektionen des Primärtumors erhielten weitere 52 Personen (37 p53wt [29,8%], 13 p53mut [18,3%], 2 ohne p53-Status) eine zweite Resektion bei Verdacht auf Tumorprogress bzw. -rezidiv, wobei in 3 Fällen davon (eine Biopsie und 2 ausführlichere Resektionen; alle

p53wt [2,4%]) der Verdacht in der histopathologischen Untersuchung des Resektionsmaterials nicht bestätigt wurde und somit doch kein Rezidiv vorlag. 13 Patient/-innen (8 p53wt [6,5%], 4 p53mut [5,6%], 1 ohne p53-Status) erhielten eine dritte Resektion, darunter wiederum eine Biopsie (p53wt [0,8%]), die ohne Nachweis von Tumorgewebe blieb und zwei Nachresektionen (beide p53mut [2,8%]). Eine vierte Resektion erhielten lediglich 4 Personen (2 p53wt [1,6%], 2 p53mut [2,8%]) und eine fünfte und sechste Resektion erfolgte sogar nur noch bei einer Person (p53mut [1,4%]).

Bei gesonderter Betrachtung der Gründe für die jeweiligen Resektionen fiel auf, dass bei insgesamt 53 Patient/-innen (38 p53wt [30,6%], 14 p53mut [19,7%], 2 ohne p53-Status) irgendwann im Krankheitsverlauf mindestens ein Progress reseziert wurde – bei 7 Personen (4 p53wt [3,2%], 2 p53mut [2,8%], 1 ohne p53-Status) war dies für 2 Progresse und bei 2 Personen (1 p53wt [0,8%], 1 p53mut [1,4%]) sogar für 3 der Progresse der Fall.

Wie Tabelle 9 aufzeigt, wurde der erste Progress bei 44 Patient/-innen (29 p53wt [23,4%], 13 p53mut [18,3%], 2 ohne p53-Status) operativ angegangen und zwar im Rahmen von 4 Biopsien (2 p53wt [1,6%], 2 p53mut [2,8%]), 5 subtotalen Resektionen (4 p53wt [3,2%], 1 p53mut [1,4%]), 33 Komplettresektionen (22 p53wt [17,7%], 9 p53mut [12,7%], 2 ohne p53-Status; davon 2 erst in einer Nachresektion komplett) und 2 Resektionen unbekannter Art (1 p53wt [0,8%], 1 p53mut [1,4%]).

Der zweite Progress wurde bei insgesamt 15 Personen (11 p53wt [8,9%], 4 p53mut [5,6%]) operiert im Sinne von 3 Biopsien (1 p53wt [0,8%], 2 p53mut [2,8%]), 3 subtotalen Resektionen (alle p53wt [2,4%]) und 9 Komplettresektionen (7 p53wt [5,6%], 2 p53mut [2,8%]).

Der dritte Progress wurde nur noch bei 3 Personen (1 p53wt [0,8%], 1 p53mut [1,4%], 1 ohne p53-Status) jeweils komplett reseziert und der 4. Progress bei lediglich 2 Personen (beide p53wt [1,6%]) im Rahmen einer Biopsie und einer Komplettresektion. Der fünfte Progress wurde in keinem Fall reseziert.

Tabelle 9: Art der Rezidivresektion bei Progress im MRT im Gesamtkollektiv

	Progress 1		Progress 2		Progress 3		Progress 4	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
Biopsie	4	9,1%	3	20,0%	0		1	50,0%
Subtotale Resektion	5	11,4%	3	20,0%	0		0	
Komplettresektion	33	75,0%	9	60,0%	3	100,0%	1	50,0%
unbekannt	2	4,5%	0		0		0	
Gesamt	44	100,0%	15	100,0%	3	100,0%	2	100,0%

4.2.8 Primärtherapie

Die erhaltene Primärtherapie nach p53-Status ist in Abbildung 17 dargestellt. Ein größerer Anteil der Patient/-innen mit (anzunehmender) p53-Mutation (25,4% [18/71]) erhielt primär Best Supportive Care (BSC) als mit p53-Wildtyp (18,5% [23/124]). Die Primärtherapie nach Stupp-Schema (56,5% [70/124] vs. 53,5% [38/71]) und die primäre Strahlentherapie (19,4% [24/124] vs. 15,5% [11/71]) waren dagegen bei Patient/-innen mit p53-Wildtyp anteilig etwas häufiger vertreten.

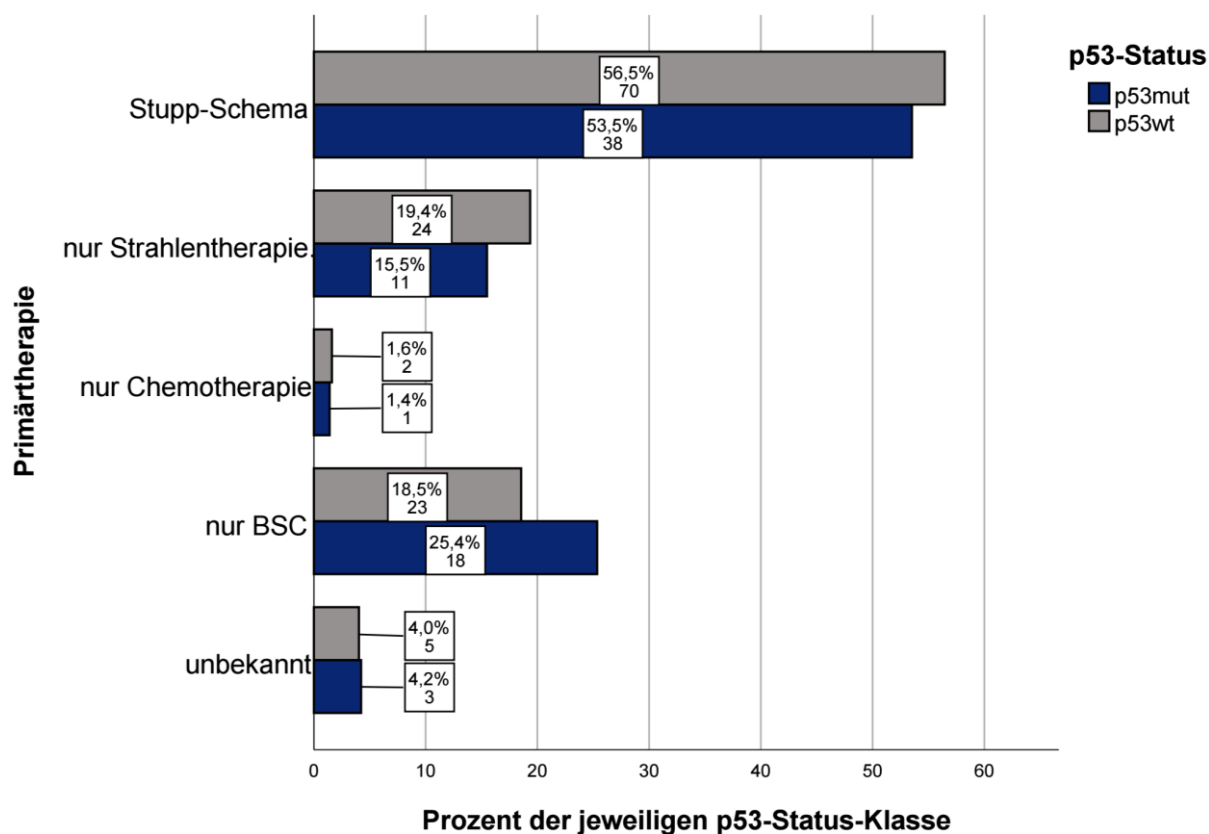


Abbildung 17: Primärtherapie klassiert nach p53-Status

Knapp über die Hälfte der Patient/-innen erhielten eine Primärtherapie nach dem Stupp-Schema. Eine alleinige Chemotherapie wurde sehr selten als Primärtherapie durchgeführt. Bei p53mut schien häufiger BSC als Primärtherapie gewählt worden zu sein.

Für den Unterschied zwischen p53wt und p53mut in der Wahl der Primärtherapie ergab sich im Chi-Quadrat-Test keine statistische Signifikanz ($p=0,487$).

In Abbildung 18 wird grafisch dargestellt, aus welchen Gründen insgesamt 82 Patient/-innen primär nicht nach dem als Goldstandard geltenden Stupp-Schema therapiert wurden und welche Primärtherapie stattdessen durchgeführt wurde.

Bei 30 Personen (16 p53wt [12,9% dieser Klasse], 13 p53mut [18,3%], 1 ohne p53-Status) lag ein unmethylierter MGMT-Promotor in Kombination mit höherem Lebensalter (mindestens 65 Jahre) vor. Hiervon erhielten 25 (15 p53wt [12,1%], 9 p53mut [12,7%], 1 ohne p53-Status) primär eine Strahlentherapie und 5 (1 p53wt [0,8%], 4 p53mut [5,6%]) BSC. Von denjenigen, welche primär BSC erhielten, lehnten 4 (1 p53wt [0,8%], 3 p53mut [4,2%]) eine empfohlene Strahlentherapie ab und bei einer Patientin (p53mut [1,4%]) kam es zu einem frühen Rezidiv vor Beginn einer Therapie, und die danach begonnene Strahlentherapie wurde darum als Rezidivtherapie, nicht als Primärtherapie, gewertet.

Der 38 Patient/-innen (24 p53wt [19,4%], 12 p53mut [16,9%], 2 ohne p53-Status) betreffende und damit häufigste Grund war ein zu schlechter Allgemeinzustand für die aggressive Kombinationstherapie. Beim Großteil dieser Gruppe war bereits präoperativ der KPS kleiner als 70 Prozent gewesen, nur bei 14 Personen (5 p53wt [4,0%], 7 p53mut [9,9%], 2 ohne p53-Status) war die Allgemeinzustandsverschlechterung erst im postoperativen Verlauf aufgetreten. Als Therapie erhielten 7 (6 p53wt [4,8%], 1 p53mut [1,4%]) in der Gruppe eine alleinige Strahlentherapie, 3 (1 p53wt [0,8%], 1 p53mut [1,4%], 1 ohne p53-Status) eine alleinige Chemotherapie und 28 (17 p53wt [13,7%], 10 p53mut [14,1%], 1 ohne p53-Status) BSC.

6 Patient/-innen (4 p53wt [3,2%], 2 p53mut [2,8%]) lehnten die empfohlene Therapie nach Stupp-Schema ab – 2 (1 p53wt [0,8%], 1 p53mut [1,4%]) davon erhielten auf eigenen Wunsch primär BSC, 3 (2 p53wt [1,6%], 1 p53mut [1,4%]) eine Strahlentherapie und einer (p53wt [0,8%]) eine alleinige Chemotherapie.

Ein Patient (p53wt [0,8%]) erhielt extern abweichend vom im Tumorboard-Beschluss empfohlenen Stupp-Schema eine Strahlentherapie.

Bei 6 Patient/-innen (3 p53wt [2,4%], 3 p53mut [4,2%]) war zwar die Therapie nach Stupp-Schema geplant, sie verstarben aber noch vor Therapiebeginn und wurden darum zur BSC-Gruppe gezählt.

Ein Patient (p53wt [0,8%]) erhielt aus unbekanntem Grund primär BSC.

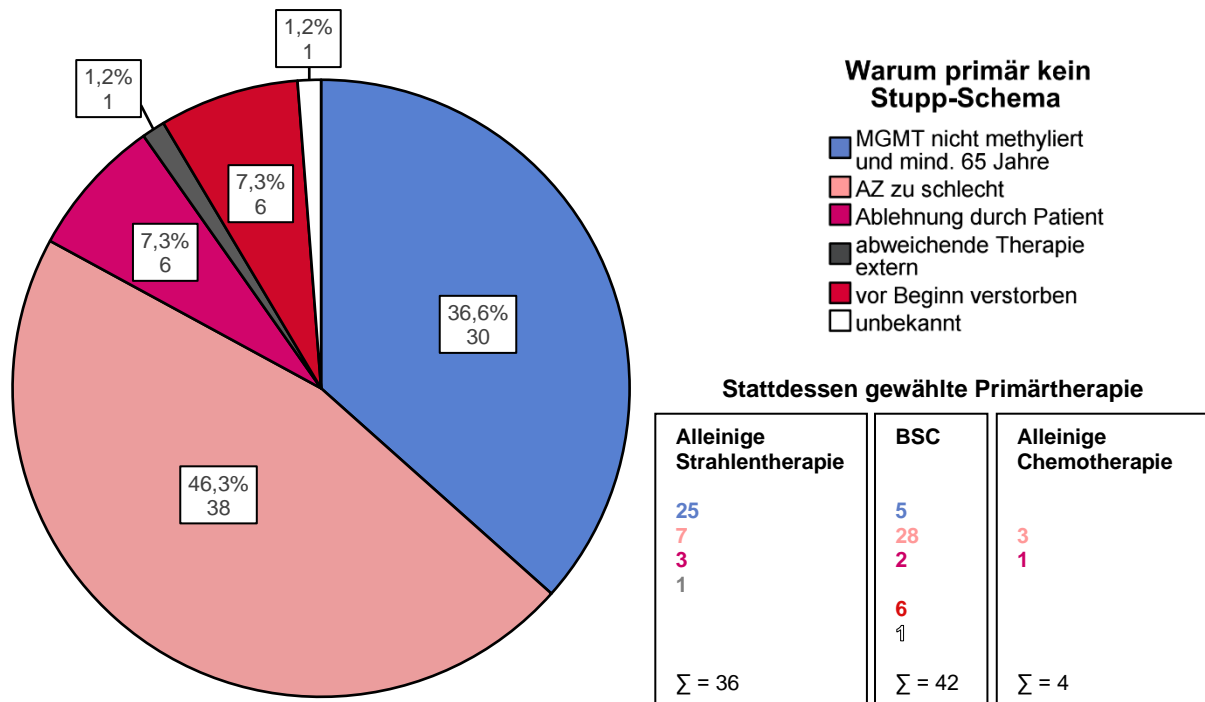


Abbildung 18: Gründe für nicht dem Stupp-Schema entsprechende Primärtherapie und Art der stattdessen gewählten Primärtherapie im Gesamtkollektiv (N=82)

Der häufigste Grund, aus dem Patient/-innen kein Stupp-Schema erhielten, war ein zu schlechter Allgemeinzustand. Diese Personen erhielten zum Großteil primär BSC. Ein weiterer häufiger Grund war ein nicht methylierter MGMT-Promotor in Kombination mit höherem Lebensalter. In dieser Gruppe wurde in den meisten Fällen stattdessen eine alleinige Strahlentherapie gewählt.

AZ = Allgemeinzustand

Für 8 Patient/-innen des Gesamtkollektivs (5 p53wt [4,0%], 3 p53mut [4,2%]) konnte die Primärtherapie nicht ermittelt werden. Diese wurden folglich in den weiterführenden Überlebenszeitanalysen nach Primärtherapie nicht berücksichtigt.

4.2.8.1 Stupp-Schema

Für 127 Personen im Gesamtkollektiv (80 p53wt [64,5% dieser Klasse], 42 p53mut [59,2%], 5 ohne p53-Status) sprach unser hausinternes interdisziplinäres Tumorboard primär die Empfehlung zur Therapie nach Stupp-Schema aus.

Insgesamt 112 Personen (70 p53wt [56,5%], 38 p53mut [53,5%], 4 ohne p53-Status), wurden tatsächlich primär nach dem Stupp-Schema therapiert, hierunter 107 entsprechend dem Tumorboard-Beschluss, 2 entgegen dem Tumorboard-Beschluss und 3, deren Erstdiagnose und Therapiebeginn extern erfolgte (hier lagen uns Primärtumor-Blöcke/-Schnitte vor oder die Vorstellung bei uns erfolgte vor einem Tumorprogress).

Die Zyklenzahl von Temozolomid nach dem 5/28-Schema (TMZ 5/28) war sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für p53wt und p53mut einzeln betrachtet bimodal verteilt. Wie Tabelle 10 zeigt, erhielten die Patient/-innen mit (anzunehmendem) p53-Wildtyp etwa 5 [2 bis 6] und diejenigen mit (anzunehmender) p53-Mutation ebenfalls etwa 5 [1 bis 6] Zyklen. In beiden p53-Statusklassen gab es Fälle, in denen die Therapie noch vor Gabe des 1. Zyklus TMZ 5/28 abgebrochen wurde, die Minima der Zyklenzahl lagen also für beide Klassen bei 0. Die Maxima lagen bei 21 (p53wt) bzw. 20 (p53mut). Lediglich 5 Personen (3 p53wt [2,4%], 2 p53mut [2,8%]) erhielten mehr als die empfohlenen 6 Zyklen TMZ 5/28.

Tabelle 10: Zyklenzahl Temozolomid nach dem 5/28-Schema für alle primär nach Stupp-Schema therapierten Patient/-innen

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	70	5	5,0	2	6	0	21
p53mut	38	3	5,0	1	6	0	20
ohne p53-Status	4	0	5,5	3	6	1	6
Gesamt	112	8	5,0	1	6	0	21

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte auf, dass kein statistisch signifikanter Unterschied in der TMZ 5/28-Zyklenzahl zwischen p53wt und p53mut bestand ($p=0,913$).

Der zeitliche Abstand zwischen der ersten Operation und der konkomitanten Radiochemotherapie war sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für p53wt und p53mut jeweils einzeln betrachtet rechtsschief verteilt. Wie aus Tabelle 11 ersichtlich wird, begann diese Therapie für p53wt nach etwa 25 [19 bis 34] Tagen und für p53mut nach etwa 21,5 [16 bis 28] Tagen. Der minimale Abstand lag bei 4 (p53wt) bzw. 9 (p53mut) und der maximale bei 58 (p53wt) bzw. 99 (p53mut) Tagen.

Tabelle 11: Abstand in Tagen zwischen der ersten Operation und dem Beginn der primären konkomitanten Radiochemotherapie nach Stupp-Schema

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	63	7	25,0	19	34	4	58
p53mut	36	2	21,5	16	28	9	99
ohne p53-Status	4	0	26,0	22	33	21	36
Gesamt	103	9	23,0	17	31	4	99

Der beschriebene Unterschied zwischen den p53-Statusklassen war statistisch nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test; $p=0,304$).

Die Dauer der Strahlentherapie (inklusive Pausentagen wie Wochenenden) im Stupp-Schema war für das Gesamtkollektiv symmetrisch verteilt, klassiert nach p53wt und p53mut einzeln betrachtet aber jeweils linksschief. Tabelle 12 zeigt, dass diese Strahlentherapie für p53wt etwa 44 [43 bis 45] Tage und für p53mut ebenfalls etwa 44 [43 bis 48] Tage dauerte. Die minimale Dauer lag bei 19 (p53wt) bzw. 10 (p53mut) Tagen und die maximale bei 50 (p53wt) bzw. 83 (p53mut) Tagen.

Tabelle 12: Dauer der Strahlentherapie als Bestandteil des primären Stupp-Schemas in Tagen

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	62	8	44,0	43	45	19	50
p53mut	35	3	44,0	43	48	10	83
ohne p53-Status	4	0	42,5	42	44	42	45
Gesamt	101	11	44,0	43	45	10	83

Auch für die Dauer dieser Strahlentherapie bestand zwischen p53wt und p53mut kein signifikanter Unterschied (Mann-Whitney-U-Test; $p=0,100$).

Der genaue Verlauf der Therapie nach Stupp-Schema für die betreffenden Patient/-innen des Gesamtkollektivs wird aus Abbildung 19 ersichtlich.

Für 50 Personen (31 p53wt [25,0%], 17 p53mut [23,9%], 2 ohne p53-Status) konnte das Stupp-Schema hinsichtlich der empfohlenen 6 Zyklen TMZ 5/28 als vollständig bezeichnet werden. Darunter waren 39 Personen (26 p53wt [21,0%], 12 p53mut [16,9%], 1 ohne p53-Status), die alle Therapiebestandteile in der empfohlenen Dosis erhielten und 11 (5 p53wt [4,0%], 5 p53mut [7,0%], 1 ohne p53-Status), bei denen mindestens ein Therapiebestandteil von der Empfehlung abwich. Genauer gesagt erhielten 4 Personen (2 p53wt [1,6%], 1 p53mut [1,4%], 1 ohne p53-Status) sowohl eine geringere Gesamt-Strahlendosis als auch eine verkürzte (weniger als 6 Wochen dauernde) konkomitante TMZ-Therapie, während als jeweils einziger Bestandteil bei einer Person (p53mut [1,4%]) die konkomitante TMZ-Therapie frühzeitig beendet, bei 4 (1 p53wt [0,8%], 3 p53mut [4,2%]) TMZ 5/28 geringer dosiert, bei einer (p53wt [0,8%]) die Bestrahlung geringer dosiert und bei einer (p53wt [0,8%]) gar kein konkomitantes TMZ verabreicht wurde.

In insgesamt 51 Fällen (33 p53wt [26,6%], 16 p53mut [22,5%], 2 ohne p53-Status) wurde die Therapie nach Stupp-Schema abgebrochen. Der 35 Patient/-innen (24 p53wt [19,4%], 10 p53mut [14,1%], 1 ohne p53-Status) betreffende und damit häufigste Grund dafür war, dass während der Therapie ein Progress auftrat. Weiterhin verstarben 8 Personen (4 p53wt [3,2%], 4 p53mut [5,6%]) vor Beendigung der Therapie, bei 3 (2 p53wt [1,6%], 1 ohne p53-Status)

erfolgte der Abbruch aufgrund von ausgeprägten Nebenwirkungen (rezidivierende Fieberschübe, Myelosuppression mit Lymphozytopenie, ausgeprägter respiratorischer Infekt), bei 2 (beide p53wt [1,6%]) aufgrund einer Allgemeinzustandsverschlechterung, bei einer (p53mut [1,4%]) auf eigenen Wunsch und bei 2 (1 p53wt [0,8%], 1 p53mut [1,4%]) wurde die Therapie extern nicht fortgeführt. In 11 Fällen (6 p53wt [4,8%], 5 p53mut [7,0%]) konnte nicht ermittelt werden, ob das Stupp-Schema vollständig verabreicht wurde.

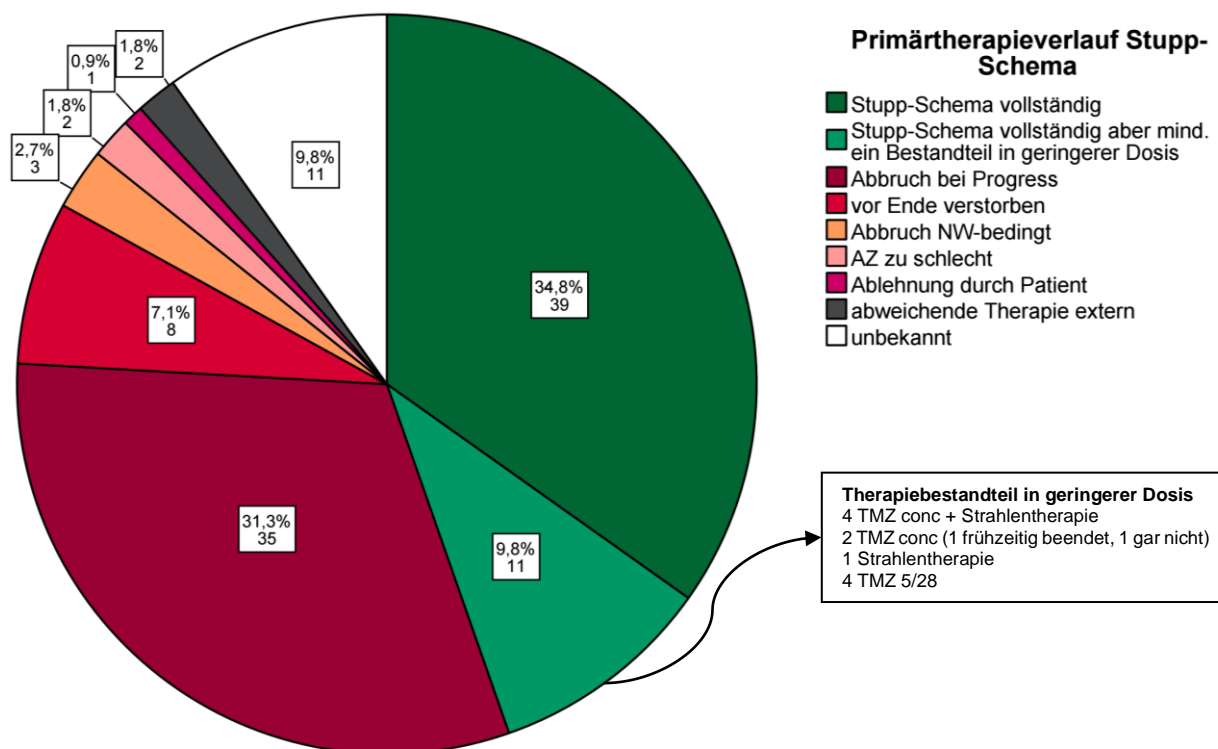


Abbildung 19: Primärtherapieverlauf für alle Patient/-innen primär unter Stupp-Schema im Gesamtkollektiv (N=112)

Bei 44,6 Prozent im Gesamtkollektiv wurde das Stupp-Schema als vollständig betrachtet, darunter ein Teil, welcher verschiedene Therapiebestandteile in geringerer Dosis erhielt. Bei den übrigen Patient/-innen wurde das Stupp-Schema abgebrochen, am häufigsten bei Progress.

4.2.8.2 Alleinige Strahlentherapie

Eine alleinige Strahlentherapie als Primärtherapie erhielten insgesamt 36 Patient/-innen (24 p53wt [19,4%], 11 p53mut [15,5%], 1 ohne p53-Status).

Der zeitliche Abstand zwischen der ersten Operation und dem Beginn dieser Strahlentherapie war im Gesamtkollektiv und für p53wt rechtsschief und für p53mut linksschief verteilt. Wie Tabelle 13 aufzeigt, vergingen zwischen der ersten Operation und dem Beginn dieser Therapie bei p53wt etwa 19 [15 bis 27] Tage und damit eine kürzere Zeit als für p53mut mit etwa 27 [21

bis 28] Tagen. Das Minimum lag für p53wt bei 12 und für p53mut bei 15 Tagen, das Maximum für p53wt bei 64 und für p53mut bei 35 Tagen.

Tabelle 13: Abstand in Tagen zwischen der ersten Operation und dem Beginn der primär alleinigen Strahlentherapie

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	23	1	19,0	15	27	12	64
p53mut	11	0	27,0	21	28	15	35
ohne p53-Status	1	0	35,0	35	35	35	35
Gesamt	35	1	21,0	16	28	12	64

Der beschriebene Unterschied dieses zeitlichen Abstandes zwischen den p53-Statusklassen war statistisch nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test; $p=0,065$).

Die Dauer der Strahlentherapie (inklusive Pausentagen) war sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für p53wt und p53mut jeweils einzeln betrachtet rechtsschief verteilt und betrug für p53wt 22 [17 bis 34] und für p53mut ebenfalls 22 [20 bis 29] Tage. Die minimale Dauer lag bei 2 (p53wt) bzw. 5 (p53mut) Tagen und die maximale bei 50 (p53wt) bzw. 52 (p53mut) Tagen (siehe Tabelle 14).

Tabelle 14: Dauer der primär alleinigen Strahlentherapie in Tagen

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	23	1	22,0	17	34	2	50
p53mut	11	0	22,0	20	29	5	52
ohne p53-Status	1	0	22,0	22	22	22	22
Gesamt	35	1	22,0	18	29	2	52

Die Dauer der alleinigen Strahlentherapie als Primärtherapie unterschied sich für p53wt und p53mut nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test; $p=0,637$).

4.2.8.3 Alleinige Chemotherapie

Bei lediglich 4 Personen (2 p53wt [1,6%], 1 p53mut [1,4%], 1 ohne p53-Status) wurde der Primärtumor mit einer alleinigen Chemotherapie behandelt, wobei es sich in 3 Fällen um eine Monotherapie mit TMZ nach dem 5/28-Schema handelte und in einem Fall (p53wt zugeordnet) um eine Kombinationstherapie mit Bevacizumab und CCNU.

Diejenigen Patient/-innen, welche primär TMZ 5/28 erhielten, bekamen im Median 4 [2 bis 5] Zyklen und dabei minimal 2 und maximal 5 Zyklen (siehe Tabelle 15).

Tabelle 15: Zyklenzahl Temozolomid nach dem 5/28-Schema für alle primär alleinig damit therapierten Patient/-innen

	N gültig	N fehlend	Median	Perzentil 25	Perzentil 75	Minimum	Maximum
p53wt	1	1	2,0	2	2	2	2
p53mut	1	0	4,0	4	4	4	4
ohne p53-Status	1	0	5,0	5	5	5	5
Gesamt	3	1	4,0	2	5	2	5

Die Gesamtzahl der primär mit TMZ-Monotherapie behandelten Personen war zu gering, um einen sinnvollen Test für den Unterschied zwischen den p53-Statusklassen durchzuführen.

Die Chemotherapie mit Bevacizumab und CCNU des einzig auf diese Weise primär therapierten Patienten dauerte 29 Tage.

Aufgrund der sehr geringen Fallzahl in dieser Primärtherapiegruppe, welche keine sinnvollen statistischen Tests ermöglichte und dem in beiden p53-Klassen vernachlässigbar geringen Anteil, wurden die betreffenden Personen bei den weiterführenden Analysen zum prognostischen Einfluss der Primärtherapie nicht betrachtet.

4.2.8.4 Best Supportive Care

Insgesamt 42 Patient/-innen (23 p53wt [18,5% dieser Klasse], 18 p53mut [25,4% dieser Klasse], 1 ohne p53-Status) erhielten primär Best Supportive Care (BSC).

Für 8 (5 p53wt [4,0%], 2 p53mut [2,8%], 1 ohne p53-Status) dieser Personen hatte das hausinternen Tumorboard eigentlich eine Therapie nach Stupp-Schema empfohlen und bei 2 Personen (1 p53wt [0,8%], 1 p53mut [1,4%]) war die Erstdiagnose extern gestellt worden.

4.2.9 Rezidivtherapie

Die meisten der primär mit BSC behandelten Patient/-innen erhielten auch nach Eintritt des ersten Tumorprogresses bzw. -rezidivs keine darüberhinausgehende Therapie. Hiervon gab es jedoch 3 Ausnahmen, nämlich einen Patienten, welcher erst mit dem zweiten Progress in unserem Haus vorstellig wurde und dann einer Therapie nach dem Stupp-Schema zugeführt werden konnte, einen anderen, welcher mit dem ersten Progress vorstellig wurde und daraufhin eine Strahlentherapie erhielt und einen dritten, welcher noch vor Beginn der Strahlentherapie einen frühen Progress erlitt, weswegen diese als Rezidivtherapie gewertet wurde.

Insgesamt wurde bei 7 Personen das Chemotherapeutikum TMZ (als Monotherapie oder im Rahmen des Stupp-Schemas) zum ersten Mal in der Rezidivtherapie verwendet. 29 Personen, die in der Primärtherapie nach Stupp-Schema therapiert worden waren, erhielten nach Progress

zu irgendeinem Zeitpunkt erneut TMZ, ebenso wie ein Patient, der primär eine TMZ-Monotherapie erhalten hatte.

Wie aus Tabelle 16 ersichtlich wird, wuchs fast mit jedem wiederholten MRT-Progress (mit Ausnahme von Progress 4) der Anteil der Patient/-innen, die statt einer spezifischen Therapie nur BSC erhielten. Bis auf eine Ausnahme – ein Patient, dessen Progress 3 nur mit BSC therapiert wurde und der nach Progress 4 und 5 jeweils Bevacizumab erhielt – wurde danach keine weiterführende Therapie mehr durchgeführt, sondern die Patient/-innen verblieben in der BSC-Kohorte.

Sowohl das Stupp-Schema als auch die TMZ-Monotherapie wurden vorwiegend in der Therapie der ersten Progressse gewählt und nicht mehr im sehr fortgeschrittenen Krankheitsverlauf. Dasselbe galt für die Fortführung von TMZ im selben Schema trotz Progressseintritt, wobei es sich genauer gesagt entweder um die Fortführung von TMZ im 5/28- oder 7/14-Schema handelte oder bei Feststellung eines Progresses direkt nach der konkomitanten Radiochemotherapie im Stupp-Schema teilweise auch um den Beginn von TMZ 5/28 trotz des Progresses.

Eine Strahlentherapie als Rezidivtherapie wurde für Progress 1 bis 4 zu einem ähnlichen Anteil gewählt. Allgemein galt aber, dass kein Patient mehr als zwei Bestrahlungen in derselben Region erhielt. Zwei Personen erhielten insgesamt 3 Bestrahlungen – einer davon sowohl primär als auch für den 1. und 2. Progress im Sinne einer kombinierten Radiochemotherapie laut Stupp-Schema, der andere primär als Stupp-Schema und für den 2. und 4. Progress als alleinige Bestrahlung –, jeweils eine dieser Bestrahlungen betraf jedoch die Region eines neuauftretenden distanten Satellitenherds. Bei einer Person handelte es sich bei der zweiten Bestrahlung um eine Cyberknife-Therapie.

Die Kombinationstherapie aus CCNU und Bevacizumab wurde ebenso wie die CCNU-Monotherapie vor allem in der Therapie der ersten Rezidive gewählt, während Bevacizumab als Monotherapie vor allem bei den höherrangigen Progressen zum Einsatz kam. Zwei Personen erhielten Bevacizumab im Verlauf spezifisch zur Reduktion einer Strahlennekrose. Diese Fälle sind aufgrund der parallel anderweitigen Behandlung des eigentlichen Malignoms – hier in beiden Fällen das Stupp-Schema, einmal noch vor Progress und einmal nach dem 3. Progress – in der Tabelle nicht unter Bevacizumab aufgeführt.

Bei den in der Tabelle genannten sonstigen Chemotherapien handelte es sich um BCNU, eine Kombinationstherapie mit Nivolumab und Parvoviren (jeweils für einen 1. Progress) und eine Chemotherapie unbekannter Art (für einen 2. Progress).

9 Patient/-innen (6 p53wt [4,8% dieser Klasse], 3 p53mut [4,2% dieser Klasse]) erhielten im Verlauf zusätzlich Tumortheraiefelder. Da teilweise nicht nachvollziehbar war, wann genau (sprich nach dem wievielten Progress) diese Therapie begonnen wurde und sie häufig über einen längeren Zeitraum additiv zu diversen Chemo- oder Strahlentherapien durchgeführt wurde, taucht diese Therapie nicht in der Tabelle auf.

Tabelle 16: Rezidivtherapie bei einmaligen und wiederholten MRT-Progressen im Gesamtkollektiv

	Progress 1		Progress 2		Progress 3		Progress 4		Progress 5	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
Fortführung TMZ im selben Schema trotz Progress	9	8,3%	5	9,1%	1	4,2%	0		0	
Stupp-Schema	17	15,7%	4	7,3%	1	4,2%	0		0	
TMZ	12	11,1%	6	10,9%	1	4,2%	0		0	
Strahlentherapie	13	12,0%	8	14,5%	3	12,5%	1	12,5%	0	
keine Therapie/BSC	27	25,0%	15	27,3%	12	50,0%	3	37,5%	1	50,0%
Bevacizumab + CCNU	5	4,6%	4	7,3%	0		0		0	
CCNU	9	8,3%	8	14,5%	2	8,3%	0		0	
Bevacizumab	0		1	1,8%	2	8,3%	3	37,5%	1	50,0%
sonstige Chemotherapie	2	1,9%	1	1,8%	0		0		0	
unbekannt	14	13,0%	3	5,5%	2	8,3%	1	12,5%	0	
Gesamt	108	100,0%	55	100,0%	24	100,0%	8	100,0%	2	100,0%

4.2.10 Epileptische Anfälle im Beobachtungszeitraum

In insgesamt 60 Fällen (37 p53wt [29,8% dieser Klasse], 21 p53mut [29,6% dieser Klasse], 2 ohne p53-Status) war ein epileptischer Anfall eines der Erstsymptome. Bei 27 (17 p53wt [13,7%], 10 p53mut [14,1%]) dieser Patient/-innen waren die Glioblastome temporal lokalisiert und es war somit fast die Hälfte aller Patient/-innen (40,9% [27/66]) mit temporaler Primärtumorlokalisation von einem epileptischen Anfall als Erstsymptom betroffen. Zwischen den p53-Statusklassen bestand hierin kein signifikanter Unterschied (Chi-Quadrat-Test; $p=0,969$).

Nach der Primärtumorresektion (inklusive der Fälle mit Nachresektion) erlitten 59 Personen (35 p53wt [28,2%], 20 p53mut [28,2%], 4 ohne p53-Status) mindestens einen Anfall. Bei 39 Personen (22 p53wt [17,7%], 14 p53mut [19,7%], 3 ohne p53-Status) davon war dies der erste epileptische Anfall und in 20 Fällen (13 p53wt [10,5%], 6 p53mut [8,5%], 1 ohne p53-Status) handelte es sich um wiederholte Anfälle bei bereits als Erstsymptom aufgetretenem Anfall. 35 (21 p53wt [16,9%], 13 p53mut [18,3%], 1 ohne p53-Status) der präoperativ betroffenen Patient/-innen blieben unter Antikonvulsiva-Einnahme (mindestens bis zu einer Rezidivresektion)

anfallsfrei und 5 (3 p53wt [2,4%], 2 p53mut [2,8%]) sogar ohne medikamentöse Therapie. Zudem gab es 20 Personen (11 p53wt [8,9%], 8 p53mut [11,3%], 1 ohne p53-Status), denen nach der ersten Resektion bei hohem Epilepsierisiko präventiv ein Antikonvulsivum verordnet worden war, unter dessen Einnahme sie auch anfallsfrei blieben. Auch für die epileptischen Anfälle nach Primärtumorresektion bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den p53-Statusklassen (Chi-Quadrat-Test; $p=0,829$).

Sinnbildlich für den späteren Krankheitsverlauf wurde untersucht, ob irgendwann nach der ersten Rezidivresektion epileptische Anfälle auftraten (wobei angemerkt werden muss, dass nur 53 Patient/-innen überhaupt eine Rezidivresektion erhielten). Dies war bei 13 Personen (8 p53wt [6,5%], 4 p53mut [5,6%], 1 ohne p53-Status) der Fall. Für diesen Zeitraum waren mehr Patient/-innen unter Antikonvulsiva anfallsfrei (28 gesamt; 21 p53wt [16,9%], 6 p53mut [8,5%], 1 ohne p53-Status) als ohne medikamentöse Therapie (12 gesamt; 8 p53wt [6,5%], 4 p53mut [5,6%]). Die Testvoraussetzungen für den Chi-Quadrat-Test und den exakten Test nach Fisher waren verletzt, da es sich nicht um eine 2x2 Tabelle handelte und 33,3% der Zellen eine erwartete Häufigkeit kleiner 5 hatten.

Über den Gesamtzeitraum betrachtet erlitten 102 Patient/-innen (61 p53wt [49,2%], 36 p53mut [50,7%], 5 ohne p53-Status) und somit etwa die Hälfte aller Patient/-innen zu irgendeinem Zeitpunkt mindestens einen epileptischen Anfall. Auch für den Gesamtzeitraum betrachtet gab es keinen signifikanten Unterschied im Auftreten epileptischer Anfälle zwischen p53wt und p53mut (Chi-Quadrat-Test; $p=0,839$).

4.3 Analyse des Gesamtüberlebens

4.3.1 Dauer des Follow-Ups und Gründe für unvollständiges Follow-Up

Die Follow-Up-Dauer (Zeit von der Diagnose bis zum letzten Kontakt oder Tod) betrug im Gesamtkollektiv im Median 9,28 Monate, wobei das Minimum bei 0,03 Monaten (also 1 Tag) und das Maximum bei 72,20 Monaten (also etwa 6 Jahren) lag.

Wie Abbildung 20 aufzeigt, war der Median (dargestellt durch die rote Linie) der Follow-Up-Dauer bei p53mut mit 6,72 Monaten etwas geringer als bei p53wt mit 10,05 Monaten, während Minima und Maxima nahezu gleich waren, wobei in p53mut nur für eine Person das Follow-Up länger als 51,34 Monate nach Diagnose war.

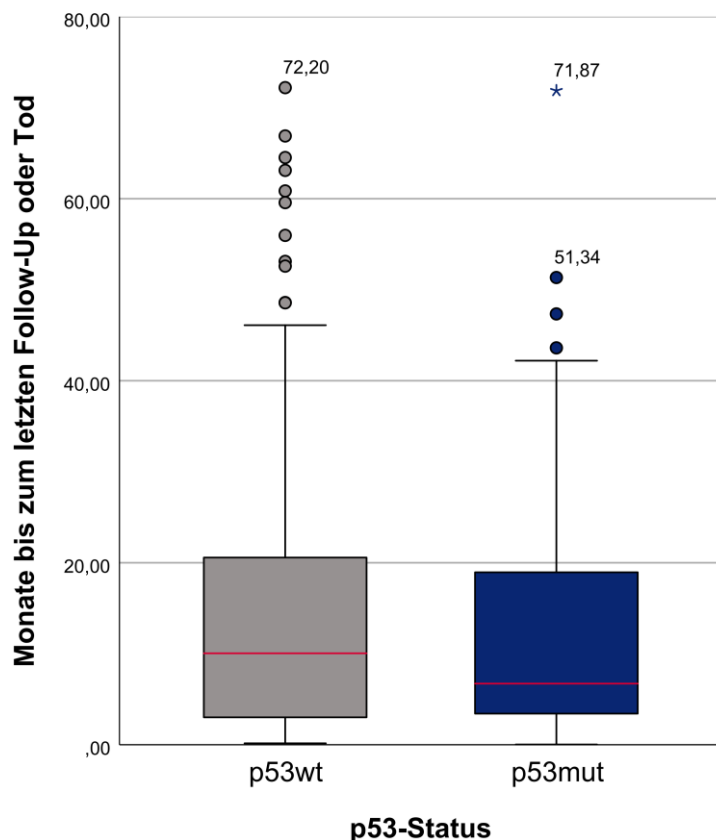


Abbildung 20: Boxplot der Follow-Up-Dauer klassiert nach p53-Status

Die rote Linie stellt den jeweiligen Median der Follow-Up-Dauer dar, welcher für p53wt bei 10,05 und für p53mut bei 6,72 Monaten lag. Bei p53mut war das Follow-Up nur in einem einzigen Fall länger als 51,34 Monate und dieser wurde durch das Statistikprogramm entsprechend als Ausreißer mit einem Sternchen gekennzeichnet.

Der beschriebene Unterschied in der Follow-Up-Dauer zwischen p53wt und p53mut war statistisch nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test; $p=0,336$).

Insgesamt 17 Patient/-innen (8,4%) des Gesamtkollektivs wurden als lost to Follow-Up klassifiziert. Von diesen waren 11 (5 p53wt [4,0%], 4 p53mut [5,6%], 2 ohne p53-Status) Selbstzahler aus dem Ausland, weswegen bei deutschen Einwohnermeldeämtern keine Statusanfrage gestellt werden konnte und im Verlauf häufig der Wunsch nach Therapie im Heimatland bestand. 4 Patient/-innen (2 p53wt [1,6%], 2 p53mut [2,8%]) waren laut dem Einwohnermeldeamt verzogen nach unbekannt und zu 2 Patient/-innen (1 p53wt [0,8%], 1 p53mut [1,4%]) erhielten wir keine Rückmeldung bezüglich des Überlebens.

4.3.2 Zensierungen

Innerhalb des Beobachtungszeitraums trat der Tod bei 172 Patient/-innen (85,1%, davon 4 ohne p53-Status) des Gesamtkollektivs ein. 13 Patient/-innen (6,4%, davon 1 ohne p53-Status) lebten bei Ende der Beobachtungszeit noch.

Bezogen auf die beiden p53-Klassen stellte sich der Überlebensstatus der Patient/-innen zu Beobachtungsende folgendermaßen dar: verstorben in p53wt 106 (85,5% dieser Klasse) vs. 62 (87,3% dieser Klasse) in p53mut, lebend in p53wt 10 (8,1%) vs. 2 (2,8%) in p53mut, lost to Follow-Up in p53wt 8 (6,5%) vs. 7 (9,9%) in p53mut. Für die Kaplan-Meier Analyse bedeutete dies 18 zensierte Fälle (14,5%) in p53wt und 9 zensierte Fälle (12,7%) in p53mut.

4.3.3 Univariate Überlebenszeitanalyse für das Gesamtüberleben nach p53-Status

Die Kaplan-Meier Überlebenskurven für das Gesamtüberleben (OS) nach p53-Status sind in Abbildung 21 visualisiert.

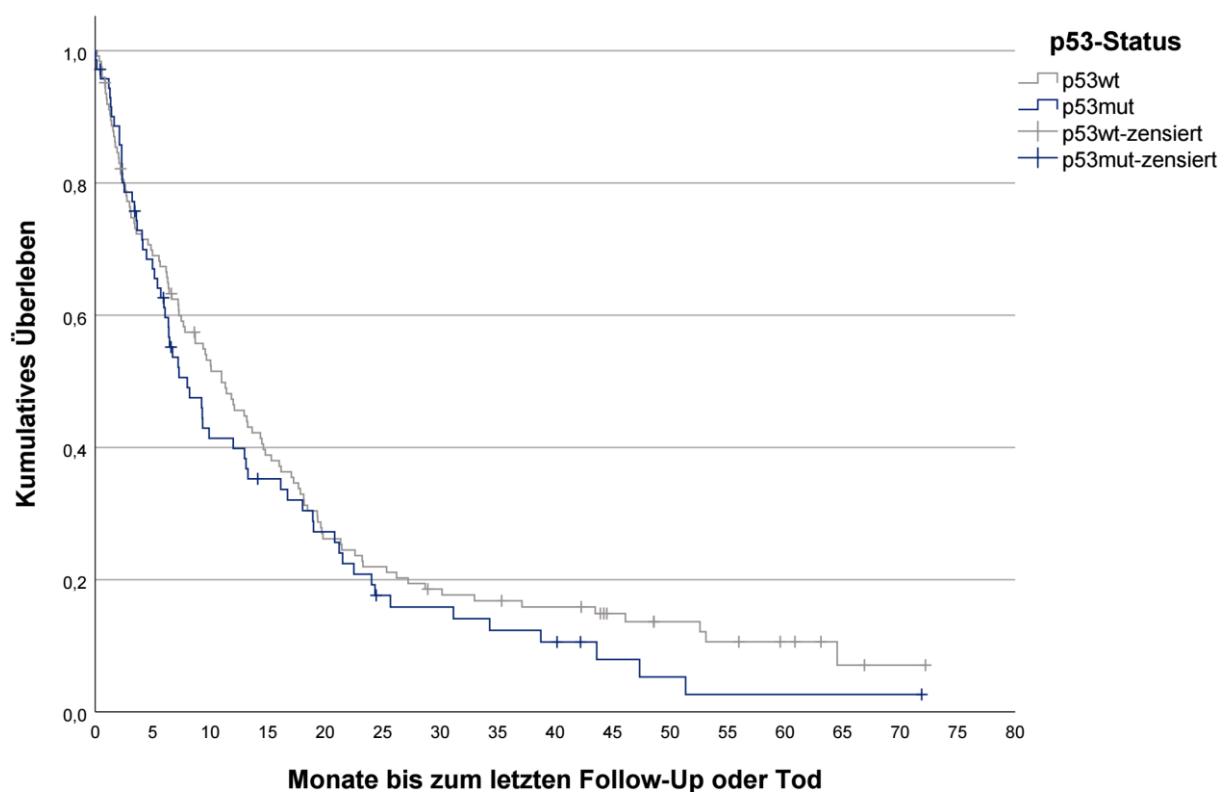


Abbildung 21: Kaplan-Meier Kurven für das Gesamtüberleben klassiert nach p53-Status

Die Kaplan-Meier Schätzer des medianen Gesamtüberlebens (mOS) in Monaten nach p53-Status werden in Tabelle 17 ersichtlich. Für p53wt betrug der Schätzer 10,98 Monate (95%-KI 7,52-14,44) und für p53mut 8,00 Monate (95%-KI 4,84-11,16). Eine (anzunehmende) p53-Mutation schien also tendenziell mit einer kürzeren Überlebenszeit einherzugehen, aber die 95%-Konfidenzintervalle überschneiden sich. Das 2-Jahres-Überleben betrug 22,0 ($\pm 3,8$) Prozent für p53wt und 20,8 ($\pm 5,1$) Prozent für p53mut, das 5-Jahres-Überleben lag bei 10,6 ($\pm 3,2$) Prozent für p53wt und 2,6 ($\pm 2,5$) Prozent für p53mut.

Tabelle 17: Medianes Gesamtüberleben in Monaten nach Kaplan-Meier klassiert nach p53-Status

	Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
p53wt	10,98	1,76	7,52	14,44
p53mut	8,00	1,61	4,84	11,16
Gesamt	9,67	1,38	6,97	12,37

Im Log-rank-Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen ergab sich für das OS kein signifikanter Unterschied zwischen p53wt und p53mut ($p=0,286$).

Die proportionale Hazards-Annahme war erfüllt und in der Cox-Regression mit p53wt als Referenzkategorie (HR 1,00) ergab sich für p53mut ein HR von 1,19 mit einem 95%-KI von 0,87 bis 1,63. Das geschätzte Risiko zu versterben war also mit zunehmender p53-Mutation um 19 Prozent größer, aber der Unterschied war nicht statistisch signifikant (1 im Konfidenzintervall; $p=0,287$).

4.3.4 Univariate Überlebenszeitanalyse für das Gesamtüberleben für andere mögliche prognostische Faktoren

Tabelle 18 zeigt die Ergebnisse der univariaten Analysen für alle Faktoren, von denen denkbar war, dass sie das OS beeinflussen könnten. Der angegebene p-Wert ist jeweils der der Cox-Regression (gilt als äquivalent zum p-Wert des Log-rank-Tests). Die proportionale Hazards-Annahme war für alle Faktoren erfüllt.

Die genaue histologische Diagnose als prognostischer Faktor wurde nicht untersucht, weil die Ereigniszahlen für die Glioblastom IDHwt-Varianten Riesenzell-Glioblastom (3 Ereignisse) und Gliosarkom (4 Ereignisse) so gering waren, dass eine Überlebenszeitanalyse nach Gruppen nicht aussagekräftig wäre. Ebenso verhielt es sich mit dem Hirnareal der Haupt-Tumormasse des Primärtumors (okzipital 8 Ereignisse und sonstige 5 Ereignisse), sodass nur die binäre Variable Primärtumor multifokal analysiert wurde. Bei der Variable Primärtherapie wurden nicht alle Fälle betrachtet, sondern die alleinige Chemotherapie aufgrund sehr geringer Ereigniszahl (3 Ereignisse) für diese Analyse als fehlend definiert. Die Immunreaktion gegen Ki-67 wurde lediglich klassiert (<30 oder ≥ 30 Prozent) aufgenommen.

Prognostisch signifikant negativ für das OS waren bei jeweils alleiniger Betrachtung eines Faktors die Ausprägungen Alter von mindestens 65 Jahren bei Diagnose ($p<0,001$; HR 2,43), beidseitige Lokalisation des Primärtumors ($p<0,001$; HR 2,82), multifokaler Primärtumor ($p=0,001$; HR 2,25), inkomplette Resektion (Biopsie und subtotale Resektion zusammengefasst) des

Primärtumors ($p < 0,001$; HR 2,02), prätherapeutischer KPS unter 70 Prozent ($p < 0,001$; HR 3,42), nicht methylierter MGMT-Promotor ($p = 0,006$; HR 1,56) und kein Stupp-Schema in der Primärtherapie ($p < 0,001$; HR alleinige Strahlentherapie 2,97; HR nur BSC 13,85).

Das Auftreten mindestens eines epileptischen Anfalls im Beobachtungszeitraum war prognostisch signifikant positiv für das OS ($p = 0,006$; HR 0,65).

Auch das Alter als stetige Größe war signifikant mit der Überlebenswahrscheinlichkeit assoziiert ($p < 0,001$; HR 1,06), insofern, als dass eine Alterszunahme von 10 Jahren mit einer Risikohöherung von ca. 72 Prozent einherging (berechnete HR 1,72 [$e^{10 \times 0,054}$]). Ebenso war der prätherapeutische KPS auch als ordinale Größe prognostisch signifikant ($p < 0,001$; HR 0,97) und ein um 10 Prozent höherer KPS war mit einer Risikosenkung um etwa 30 Prozent (berechnete HR 0,70 [$e^{10 \times (-0,035)}$]) assoziiert, wobei dies mit Einschränkungen zu interpretieren ist, weil der Score nur ordinal ist.

Das Geschlecht, ein epileptischer Anfall als Erstsymptom, ein Ki-67-Proliferationsindex von mindestens 30 Prozent und der ATRX-Status erwiesen sich als prognostisch nicht signifikant.

Tabelle 18: Univariate Analyse der möglichen prognostischen Faktoren für das Gesamtüberleben mit Kaplan-Meier-Schätzer, Log-rank-Test und Cox-Regression

Faktor	N Gesamt	N Ereignisse	N Zensurierungen (Prozentanteil)	mOS (Monate)	p	HR (95%-KI)
Alter metrisch	202	172	30 (14,9%)		<0,001	1,06 (1,04-1,07)
Alter klassiert	202	172	30 (14,9%)	9,90	<0,001	
<65 Jahre	86	66	20 (23,3%)	18,16		1,00
≥65 Jahre	116	106	10 (8,6%)	5,70		2,43 (1,78-3,32)
Geschlecht	202	172	30 (14,9%)	9,90	0,564	
männlich	111	94	17 (15,3%)	11,84		1,00
weiblich	91	78	13 (14,3%)	8,00		1,09 (0,81-1,48)
Primärtumor beidseits	202	172	30 (14,9%)	9,90	<0,001	
nein	172	145	27 (15,7%)	12,00		1,00
ja	30	27	3 (10,0%)	2,75		2,82 (1,83-4,33)
Primärtumor multifokal	202	172	30 (14,9%)	9,90	0,001	
nein	181	152	29 (16,0%)	11,41		1,00
ja	21	20	1 (4,8%)	6,66		2,25 (1,40-3,62)
Art der Primärtumor-Resektion	201+	171	30 (14,9%)	10,03	<0,001	
Komplettresektion	125	104	21 (16,8%)	14,62		1,00
inkomplette Resektion	76	67	9 (11,8%)	6,23		2,02 (1,47-2,76)
präoperativer KPS ordinal	196+	167	29 (14,8%)		<0,001	0,97 (0,96-0,98)

präoperativer KPS klassiert	196+	167	29 (14,8%)	9,87	<0,001	
≥70 Prozent	155	129	26 (16,8%)	13,28		1,00
<70 Prozent	41	38	3 (7,3%)	2,30		3,42 (2,35-4,97)
MGMT-Promotormethylierung	196+	167	29 (14,8%)	10,03	0,006	
ja	79	64	15 (19,0%)	14,62		1,00
nein	117	103	14 (12,0%)	9,38		1,56 (1,14-2,15)
Primärtherapie*	190+	165	25 (13,2%)	10,07	<0,001	
Stupp-Schema	112	91	21 (18,8%)	18,16		1,00
alleinige Strahlentherapie	36	34	2 (5,6%)	4,07		2,97 (1,98-4,45)
nur BSC	42	40	2 (4,8%)	1,64		13,85 (8,59-22,31)
Epileptischer Anfall präoperativ	202	172	30 (14,9%)	9,90	0,109	
nein	142	123	19 (13,4%)	8,69		1,00
ja	60	49	11 (18,3%)	13,18		0,76 (0,55-1,06)
Epileptischer Anfall Gesamtzeitraum	202	172	30 (14,9%)	9,90	0,006	
nein	100	86	14 (14,0%)	6,39		1,00
ja	102	86	16 (15,7%)	14,79		0,65 (0,48-0,88)
Ki-67-Immunreaktion klassiert	146+	123	23 (15,8%)	9,67	0,452	
<30 Prozent	65	57	8 (12,3%)	8,00		1,00
≥30 Prozent	81	66	15 (18,5%)	10,07		0,87 (0,61-1,24)
ATRX-Status	62	52	10 (16,1%)	10,03	0,830	
Erhalt	57	47	10 (17,5%)	7,28		1,00
Verlust	5	5	0 (0,0%)	17,67		0,90 (0,36-2,30)

+ = Gesamtzahl geringer, da Faktor nicht für alle Patient/-innen bekannt; * = alleinige Chemotherapie als fehlend gewertet

4.3.5 Multivariate Überlebenszeitanalyse für das Gesamtüberleben

In das multivariate Modell (siehe Tabelle 19) zur Analyse der tatsächlichen prognostischen Bedeutung der einzelnen Faktoren für das OS wurden neben dem p53-Status lediglich aus der Literatur bekannte prognostische Faktoren aufgenommen.

Es konnten insgesamt 171 Fälle (108 p53wt [87,1% dieser Klasse], 63 p53mut [88,7% dieser Klasse]) in das Modell einbezogen werden, für die keiner der Faktoren fehlte. Dabei handelte es sich um 150 Ereignisse und 21 Zensierungen (12,3% der einbezogenen Fälle).

Unabhängig von anderen Faktoren prognostisch negativ zeigten sich hier ein Alter bei Diagnose von mindestens 65 Jahren ($p < 0,001$; HR 1,92), der MGMT-Promotormethylierungsstatus ($p = 0,024$; HR unmethyliert 1,51), eine nicht dem Stupp-Schema entsprechende Primärtherapie

($p < 0,001$; HR alleinige Strahlentherapie 2,69, HR nur BSC 8,81) und ein prätherapeutischer KPS unter 70 Prozent ($p = 0,001$, HR 2,29).

Der p53-Status war auch im multivariaten Modell nicht prognostisch signifikant für das OS ($p = 0,647$; HR p53mut 1,09).

Ebenfalls nicht prognostisch signifikant im multivariaten Modell waren die Art der Primärtumorresektion ($p = 0,063$, HR inkomplette Resektion 1,48) und eine multifokale Lokalisation des Primärtumors ($p = 0,093$, HR 1,71).

Tabelle 19: Multivariate Analyse des p53-Status und der aus der Literatur bekannten prognostischen Faktoren für das Gesamtüberleben

Faktor	N gültig	p	HR (95%-KI)
p53-Status	171	0,647	
<i>p53wt</i>	108		1,00
<i>p53mut</i>	63		1,09 (0,76-1,55)
Altersklasse	171	<0,001	
<65 Jahre	72		1,00
≥65 Jahre	99		1,92 (1,32-2,80)
Primärtumor multifokal	171	0,093	
<i>nein</i>	153		1,00
<i>ja</i>	18		1,71 (0,91-3,21)
Art der Primärtumorresektion	171	0,063	
<i>Komplettresektion</i>	106		1,00
<i>inkomplette Resektion</i>	65		1,48 (0,98-2,25)
Art der Primärtherapie*	171	<0,001	
<i>Stupp-Schema</i>	104		1,00
<i>alleinige Strahlentherapie</i>	33		2,69 (1,69-4,27)
<i>nur BSC</i>	34		8,81 (4,91-15,82)
MGMT-Promotormethylierung	171	0,024	
<i>ja</i>	62		1,00
<i>nein</i>	109		1,51 (1,06-2,17)
prätherapeutischer KPS klassiert	171	0,001	
≥70 Prozent	139		1,00
<70 Prozent	32		2,29 (1,39-3,76)

* = alleinige Chemotherapie als fehlend gewertet

4.4 Analyse des progressionsfreien Überlebens

4.4.1 Zensierungen und Korrektur für zu große Follow-Up-Lücken

Bei lediglich 6 Patient/-innen (3,0%) im Gesamtkollektiv, wovon 5 p53wt (4,0% dieser Klasse) und einer p53mut (1,4% dieser Klasse) zugeordnet waren, trat im gesamten

Beobachtungszeitraum weder ein MRT-Progress noch der Tod ein und das klinische Follow-Up war bis zum Ende der Beobachtungszeit vollständig.

Dagegen war bei 185 Patient/-innen (91,6%) im Gesamtkollektiv (114 p53wt [91,9%], 65 p53mut [91,5%], 6 ohne p53-Status) das progressionsfreie Überleben (PFS) durch den Eintritt eines Ereignisses limitiert. Bei diesen Ereignissen handelte es sich um 108 MRT-Progresse (65 p53wt [52,4%], 39 p53mut [54,9%], 4 ohne p53-Status) und 77 Fälle (49 p53wt [39,5%], 26 p53mut [36,6%], 2 ohne p53-Status), in denen der Tod vor einem diagnostizierten MRT-Progress eintrat.

Es scheint an dieser Stelle wichtig anzumerken, dass bei einigen der letzteren Fälle vor Todes eintritt eine Lücke im klinischen Follow-Up vorlag, beispielsweise, wenn der weiterbehandelnde Arzt nicht zu ermitteln war, wir aber das Todesdatum durch das Einwohnermeldeamt erfuhren. Im für die Follow-Up-Qualität besten Fall verstarb der Patient am Tag der letzten klinischen Vorstellung und es entstand somit keine Follow-Up-Lücke. Ebensolche Fälle lagen sowohl bei p53wt als auch bei p53mut vor. Allerdings gab es auch in beiden p53-Klassen Fälle mit einer großen Follow-Up-Lücke. Für p53mut lag diese bei maximal 13,41 Monaten und für p53wt sogar bei 41,31 Monaten, also etwa dreieinhalb Jahren (siehe Tabelle 20).

Tabelle 20: Monate zwischen letztem klinischen Follow-Up und Tod für die Fälle, in denen der Tod dem 1. Progress entspricht

	N (Tod = 1. Progress)	Median	Minimum	Maximum
p53wt	49	1,54	,00	41,31
p53mut	26	1,54	,00	13,41
ohne p53-Status	2	1,95	,20	3,70
Gesamt	77	1,54	,00	41,31

Es erscheint möglich, dass innerhalb dieser Follow-Up-Lücke bei einigen der betreffenden Patient/-innen bereits ein Progress aufgetreten war, dieser aber in unserer Datenerhebung nicht ermittelt werden konnte, sodass das PFS fälschlicherweise zu lang eingeschätzt würde, wenn der Tod ohne Einschränkung als 1. Progress gewertet würde. Darum wurde entschieden, dass der Tod nur dann als 1. Progress verwertbar war, wenn die Follow-Up-Lücke einen Zeitraum von maximal 3 Monaten nicht überstieg. Fälle mit einer längeren Lücke wurden für die Kaplan-Meier-Methode zum Zeitpunkt des letzten klinischen Follow-Ups zusätzlich zensiert.

Letztendlich ergaben sich für die Kaplan-Meier-Methode insgesamt 24 Zensierungen in p53wt (19,4%) und 10 Zensierungen in p53mut (14,1%). Ein statistisch verwertbarer Progress

ereignete sich also bei 100 Patient/-innen in p53wt (80,6%) und 61 Patient/-innen in p53mut (85,9%).

4.4.2 Univariate Überlebenszeitanalyse für das progressionsfreie Überleben nach p53-Status

Die Kaplan-Meier-Kurven für das PFS in den beiden p53-Klassen sind in Abbildung 22 dargestellt.

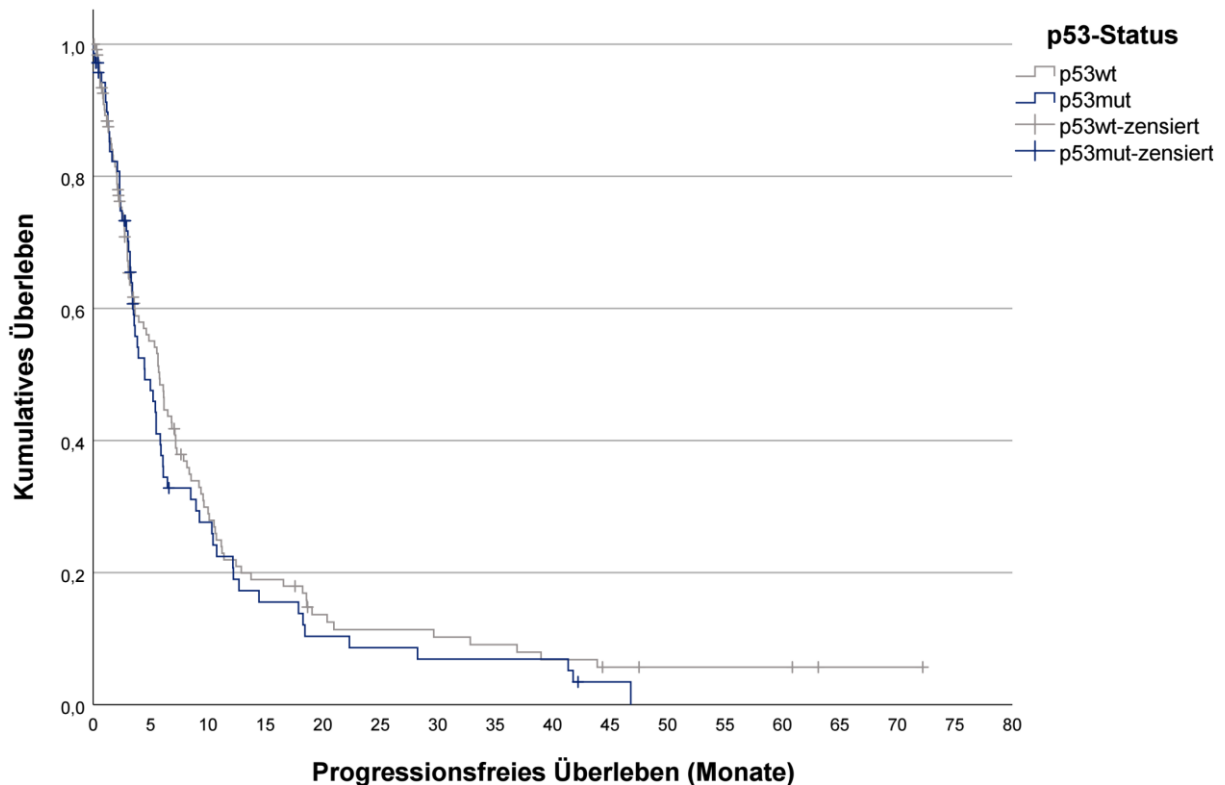


Abbildung 22: Kaplan-Meier Kurven für das progressionsfreie Überleben klassiert nach p53-Status

In Tabelle 21 wird ersichtlich, dass der Kaplan-Meier-Schätzer des medianen PFS für p53mut mit 4,49 Monaten (95%-KI 2,60-6,38) niedriger war als für p53wt mit 5,77 Monaten (95%-KI 4,60-6,94). Es fällt jedoch auf, dass die Konfidenzintervalle sich zu einem großen Teil überschneiden. Das 2-Jahres-Überleben ohne Progress betrug 11,4 ($\pm 3,2$) Prozent für p53wt und 8,6 ($\pm 3,7$) Prozent für p53mut, das 5-Jahres-Überleben ohne Progress lag dagegen bei lediglich 5,7 ($\pm 2,4$) Prozent für p53wt und 0 (± 0) Prozent für p53mut.

Tabelle 21: Medianes progressionsfreies Überleben in Monaten nach Kaplan-Meier klassiert nach p53-Status

	Schätzer	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
p53wt	5,77	,60	4,60	6,94
p53mut	4,49	,97	2,60	6,38
Gesamt	5,48	,53	4,44	6,52

Im Log-rank-Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen ergab sich für das PFS kein signifikanter Unterschied zwischen p53wt und p53mut ($p=0,387$).

Die proportionale Hazards-Annahme war erfüllt und die Cox-Regression mit p53wt als Referenzkategorie (HR 1,00) ergab ein HR von 1,15 für p53mut (95%-KI 0,84-1,58) mit einem p-Wert von 0,388. Das geschätzte Risiko für den Eintritt eines Progresses oder des Todes war also für Patient/-innen mit (anzunehmender) p53-Mutation um 15 Prozent höher als für solche mit p53-Wildtyp, aber der Unterschied war nicht statistisch signifikant.

4.4.3 Univariate Überlebenszeitanalyse für das progressionsfreie Überleben für andere mögliche prognostische Faktoren

Tabelle 22 zeigt die Ergebnisse der univariaten Analysen für alle Faktoren, von denen denkbar war, dass sie das PFS beeinflussen könnten.

Einen statistisch signifikanten prognostisch negativen Einfluss auf das PFS hatten die Faktorausprägungen Alter mindestens 65 Jahre ($p<0,001$; HR 2,07), beidseitige Lokalisation des Primärtumors ($p<0,001$; HR 2,35), multifokaler Primärtumor ($p=0,006$; HR 1,98), inkomplette Resektion des Primärtumors ($p<0,001$; HR 1,96), KPS prätherapeutisch unter 70 Prozent ($p<0,001$; HR 2,94), nicht methylierter MGMT-Promotor ($p=0,002$; HR 1,65) und kein Stupp-Schema in der Primärtherapie ($p<0,001$; HR nur Strahlentherapie 2,50; HR nur BSC 13,79).

Ein epileptischer Anfall im Gesamtzeitraum schien sich dagegen prognostisch positiv auszuwirken ($p=0,041$; HR 0,73).

Das Alter hatte auch als stetige Größe einen signifikanten Effekt auf das PFS ($p<0,001$; HR 1,05) und eine Alterszunahme von 10 Jahren war mit einem Risikoanstieg von etwa 57 Prozent assoziiert (berechnete HR 1,57 [$e^{10 \times 0,045}$]). Ebenso war der KPS als ordinale Größe prognostisch signifikant ($p<0,001$; HR 0,97), wobei ein um 10 Prozent höherer Wert mit einer Risikoabnahme um etwa 26 Prozent einherging (berechnete HR 0,74 [$e^{10 \times (-0,030)}$]) – jedoch wiederum mit Einschränkungen zu interpretieren aufgrund des ordinalen Messniveaus.

Für die Faktoren Geschlecht, epileptischer Anfall prätherapeutisch, Ki-67-Proliferationsindex mit Schwellenwert 30 Prozent und ATRX-Status ließ sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang ermitteln.

Tabelle 22: Univariate Analyse der möglichen prognostischen Faktoren für das progressionsfreie Überleben mit Kaplan-Meier-Schätzer, Log-rank-Test und Cox-Regression

Faktor	N Gesamt	N Ereignisse	N Zensurierungen (Prozentanteil)	mOS (Monate)	p	HR (95%-KI)
Alter stetig	202	166	36 (17,8%)		<0,001	1,05 (1,03-1,06)
Alter klassiert	202	166	36 (17,8%)	5,54	<0,001	
<65 Jahre	86	70	16 (18,6%)	9,57		1,00
≥65 Jahre	116	96	20 (17,2%)	3,41		2,07 (1,51-2,84)
Geschlecht	202	166	36 (17,8%)	5,54	0,739	
männlich	111	93	18 (16,2%)	5,64		1,00
weiblich	91	73	18 (19,8%)	5,21		1,03 (0,77-1,43)
Primärtumor beidseits	202	166	36 (17,8%)	5,54	<0,001	
nein	172	143	29 (16,9%)	5,84		1,00
ja	30	23	7 (23,3%)	2,39		2,35 (1,48-3,72)
Primärtumor multifokal	202	166	36 (17,8%)	5,54	0,006	
nein	181	147	34 (18,8%)	5,70		1,00
ja	21	19	2 (9,5%)	2,49		1,98 (1,22-3,22)
Art der Primärtumor- Resektion	200+	165	35 (17,5%)	5,54	<0,001	
Komplettresektion	125	101	24 (19,2%)	6,82		1,00
inkomplette Resektion	76	64	12 (15,8%)	3,21		1,96 (1,42-2,71)
präoperativer KPS ordinal	196+	160	36 (18,4%)		<0,001	0,97 (0,96-0,98)
präoperativer KPS klassiert	196+	160	36 (18,4%)	5,54	<0,001	
≥70 Prozent	155	129	29 (18,7%)	6,16		1,00
<70 Prozent	41	34	7 (17,1%)	2,07		2,94 (2,00-4,33)
MGMT- Promotormethylierung	196+	161	35 (17,9%)	5,64	0,002	
ja	79	60	19 (24,1%)	8,36		1,00
nein	117	101	16 (13,7%)	3,87		1,65 (1,19-2,29)
Art der Primärtherapie*	190+	163	27 (14,2%)	5,64	<0,001	
Stupp-Schema	112	94	18 (16,1%)	9,38		1,00
nur Strahlentherapie	36	29	7 (19,4%)	3,05		2,50 (1,63-3,84)
nur BSC	42	40	2 (4,8%)	1,34		13,79 (8,75-21,71)
Epileptischer Anfall prätherapeutisch	202	166	36 (17,8%)	5,54	0,296	
nein	142	116	26 (18,3%)	4,49		1,00
ja	60	50	10 (16,7%)	6,49		0,84 (0,60-1,17)

Epileptischer Anfall Gesamtzeitraum	202	166	36 (17,8%)	5,54	0,041	
<i>nein</i>	100	81	19 (19,0%)	3,57		1,00
<i>ja</i>	102	85	17 (16,7%)	7,11		0,73 (0,53-0,99)
Ki-67-Proliferationsindex	146+	121	25 (17,1%)	5,64	0,451	
<30 Prozent	65	52	13 (20,0%)	4,49		1,00
≥30 Prozent	81	69	12 (14,8%)	5,90		0,87 (0,61-1,25)
ATRX-Status	62+	53	9 (14,5%)	6,07	0,800	
<i>Erhalt</i>	57	48	9 (15,8%)	5,84		1,00
<i>Verlust</i>	5	5	0 (0,0%)	6,07		1,13 (0,44-2,86)

+ = Gesamtzahl geringer, da Faktor nicht für alle Patient/-innen bekannt; * = alleinige Chemotherapie als fehlend gewertet

4.4.4 Multivariate Überlebenszeitanalyse für das progressionsfreie Überleben

Wie schon zur Analyse des OS wurden in das multivariate Modell für das PFS (siehe Tabelle 23) zur besseren Untersuchung der tatsächlichen prognostischen Bedeutung der einzelnen Faktoren neben dem p53-Status lediglich die aus der Literatur bekannten prognostischen Faktoren aufgenommen, dabei wiederum stetige/ordinale Variablen nur klassiert nach dem jeweiligen in der Literatur genannten prognostischen Schwellenwert. Jedoch wurde in das multivariate Modell zur Analyse des PFS die multifokale Lokalisation des Primärtumors nicht integriert, da in der Literatur lediglich eine signifikante Auswirkung auf das OS, nicht aber auf das PFS, beschrieben ist (Haque et al., 2020; Kasper et al., 2021; Patil et al., 2012; Syed et al., 2018).

Es konnten insgesamt 171 Fälle (108 p53wt [87,1% dieser Klasse], 63 p53mut [88,7% dieser Klasse]) in das Modell einbezogen werden, für die keiner der Faktoren fehlte. Dabei handelte es sich um 146 Ereignisse und 25 Zensierungen (14,6% der einbezogenen Fälle).

Unabhängig von anderen Faktoren prognostisch negativ für das PFS zeigten sich hier ein Alter bei Diagnose von 65 Jahren oder mehr ($p=0,015$; HR 1,64), eine nicht dem Stupp-Schema entsprechende Primärtherapie ($p<0,001$; HR alleinige Strahlentherapie 2,42; HR nur BSC 9,74), ein unmethylierter MGMT-Promotor ($p=0,021$; HR 1,54) und ein prätherapeutischer KPS unter 70 Prozent ($p<0,001$; HR 2,19).

Der p53-Status war auch im multivariaten Modell nicht prognostisch signifikant für das PFS ($p=0,790$; HR p53mut 1,05).

Ebenfalls nicht prognostisch signifikant im multivariaten Modell war die Art der Primärtumorresektion ($p=0,286$; HR inkomplette Resektion 1,24).

Tabelle 23: Multivariate Analyse des p53-Status und der aus der Literatur bekannten prognostischen Faktoren für das progressionsfreie Überleben

Faktor	N gültig	p	HR (95%-KI)
p53-Status	171	0,790	
<i>p53wt</i>	108		1,00
<i>p53mut</i>	63		1,05 (0,74-1,48)
Altersklasse	171	0,015	
<65 Jahre	72		1,00
≥65 Jahre	99		1,64 (1,10-2,43)
Art der Primärtumorresektion	171	0,286	
<i>Komplettresektion</i>	106		1,00
<i>inkomplette Resektion</i>	65		1,24 (0,84-1,82)
Art der Primärtherapie*	171	<0,001	
<i>Stupp-Schema</i>	104		1,00
<i>alleinige Strahlentherapie</i>	33		2,42 (1,49-3,92)
<i>nur BSC</i>	34		9,74 (5,51-17,22)
MGMT-Promotormethylierung	171	0,021	
<i>ja</i>	62		1,00
<i>nein</i>	109		1,54 (1,07-2,22)
prätherapeutischer KPS klassiert	171	<0,001	
≥70 Prozent	139		1,00
<70 Prozent	32		2,19 (1,38-3,49)

* = alleinige Chemotherapie als fehlend gewertet

4.5 Analyse der Eignung des p53-Status als prädiktiver Marker

Es wurde mittels eines Interaktionstests in einer Cox-Regressionsanalyse überprüft, ob sich der p53-Status als prädiktiver Marker eignet, also ob sich durch den p53-Status ein signifikanter Unterschied bezüglich des Ansprechens auf eine Primärtherapie ergibt. Die Fälle, in denen keine Primärtherapie im eigentlichen Sinne durchgeführt wurde, sondern nur BSC, wurden als fehlend definiert.

In Tabelle 24 wird ersichtlich, dass sich bezogen auf das OS keine statistische Signifikanz für die Interaktion zwischen dem p53-Status und der Art der Primärtherapie ergab ($p=0,808$).

Tabelle 24: Interaktionstest zwischen p53-Status und Art der Primärtherapie bezogen auf das Gesamtüberleben

Faktor	N gültig	p	HR (95%-KI)
p53-Status	143	0,477	
<i>p53wt</i>	94		1,00
<i>p53mut</i>	49		1,17 (0,76-1,82)
Art der Primärtherapie*	143	<0,001	
<i>Stupp-Schema</i>	108		1,00
<i>alleinige Strahlentherapie</i>	35		2,90 (1,75-4,78)
p53-Status × Art der Primärtherapie	143	0,808	1,11 (0,47-2,61)

* = alleinige Chemotherapie und nur BSC als fehlend gewertet

Auch bezogen auf das PFS war, wie Tabelle 25 darstellt, die Wechselwirkung zwischen dem p53-Status und der Art der Primärtherapie nicht statistisch signifikant ($p=0,462$).

Tabelle 25: Interaktionstest zwischen p53-Status und Art der Primärtherapie bezogen auf das progressionsfreie Überleben

Faktor	N gültig	p	HR (95%-KI)
p53-Status	143	0,820	
<i>p53wt</i>	94		1,00
<i>p53mut</i>	49		1,05 (0,68-1,62)
Art der Primärtherapie*	143	0,001	
<i>Stupp-Schema</i>	108		1,00
<i>alleinige Strahlentherapie</i>	35		2,49 (1,44-4,29)
p53-Status × Art der Primärtherapie	143	0,462	1,40 (0,57-3,41)

* = alleinige Chemotherapie und nur BSC als fehlend gewertet

Zum Vergleich wurde der aus der Literatur als prädiktiver Marker bekannte MGMT-Promotor-methylierungsstatus bezüglich seiner Interaktion mit der Primärtherapie (wiederum ohne BSC, N=145) untersucht. Hierfür ergab sich in unserem Kollektiv für das PFS eine statistische Signifikanz ($p=0,048$; HR 3,21 (1,01-10,17)), für das OS jedoch knapp nicht ($p=0,057$; HR 2,83 (0,97-8,26)).

5 Diskussion

In der Aktualisierung der WHO-Klassifikation von 2021 zu ZNS-Tumoren spielen molekulare Marker eine zunehmend große Rolle (Louis et al., 2021). Wie bereits in der Einleitung erläutert, wirkt der Transkriptionsfaktor p53 als Tumorsuppressor und die Mutation des TP53-Gens kann zum Verlust dieser Tumorsuppressoraktivität führen. Vermutlich lässt sich so erklären, warum die TP53-Genmutation sich bei einigen anderen Tumorentitäten, wie beispielsweise bei Mammakarzinomen, signifikant prognostisch negativ auswirkt (Petitjean et al., 2007). Für Glioblastome dagegen konnte bisher kein ausreichend signifikanter Zusammenhang mit dem Überleben oder mit dem Therapieansprechen nachgewiesen werden (Zhang et al., 2018). Dies wurde in der vorliegenden Arbeit für die immunhistochemisch festgestellte p53-Mutation erneut überprüft.

5.1 Diagnostische Präzision der p53-Immunhistochemie bei Gliomen

Unser Ziel bei der Beurteilung der Immunreaktion mit dem Anti-p53-Antikörper war es, einen Schwellenwert festzulegen, der den bestmöglichen Rückschluss von der Immunreaktion auf eine zugrundeliegende TP53-Mutation erlaubt. In der Literatur fanden sich hierzu unterschiedliche Empfehlungen. Um die geeignetste Methode zu finden, wurden in Tabelle 26 einige Studien der letzten Jahre verglichen, welche sich mit der Konkordanz zwischen TP53-Genanalyse und p53-IHC in Gliomen befasst hatten. Zu beachten ist hier, dass sich die WHO-Klassifikation der ZNS-Tumoren im Laufe des weitgefassten Zeitraums (von 1993 bis 2019) mehrfach änderte und die histologischen Diagnosen somit nicht mit der aktuellen WHO-Klassifikation von 2021 übereinstimmen. Insbesondere umfassen die Studien, welche Glioblastome beinhalten, nicht nur IDH-Wildtyp Glioblastome, sondern auch sogenannte IDH-mutierte Glioblastome, welche heute den Astrozytomen, IDH-mutiert, zugeordnet würden (Louis et al., 2021). Exemplarisch wurde darum bei den Studien, in denen diese Angabe verfügbar war, separat angegeben, wie viele Glioblastome IDH-Wildtyp jeweils enthalten sind.

Die falsch-positiv-Rate reichte von 2,6 bis 58 Prozent und die Konkordanz-Rate zwischen Genanalyse und IHC von 54 bis 95 Prozent, wobei auffällt, dass in den aktuelleren Studien die Konkordanz-Rate tendenziell zunimmt bei eher abnehmender falsch-positiv-Rate. Als Grund für die teilweise schlechte Übereinstimmung wurde eine Komplexbildung von Wildtyp-p53 mit anderen Onkoproteinen vermutet, welche zur Stabilisierung oder zur post-translationalen Veränderung der Expression des p53 führt ohne eine zugrundeliegende Mutation (Koga et al., 1994; Louis et al., 1993; Newcomb et al., 1993; Saxena et al., 1992).

In beinahe allen Studien vor der Jahrtausendwende wurde der Anti-p53-Antikörper PAb 1801 verwendet, während in den aktuelleren Studien der Antikörper DO-7 zum Einsatz kam, der auch im Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie in domo standardmäßig in der Routinediagnostik verwendet wird. Bei beiden Antikörpern handelt es sich um monoklonale Maus-Antikörper, welche nur mit menschlichem p53 reagieren, dabei sowohl mit Wildtyp-p53 als auch mit mutiertem p53. DO-7 ist gegen ein N-terminal gelegenes Epitop des Proteins zwischen den Aminosäuren 1 und 45 gerichtet, PAb 1801 gegen ein Epitop zwischen den Aminosäuren 32 und 79. Der Antikörper PAb 1801 reagiert besser mit zytoplasmatischem p53 als DO-7, dafür ist er im Gegensatz zu DO-7 nicht spezifisch für p53, sondern zeigt teilweise Kreuzreaktionen mit anderen Proteinen. Aufgrund der hohen Spezifität und Anwendbarkeit in vielerlei Geweben (inklusive Hirngewebe) wurde DO-7 vielfach als der zuverlässigste Anti-p53-Antikörper bezeichnet. (Banks et al., 1986; Danks et al., 1998; Pillai et al., 2003; Vojtěšek et al., 1992)

In älteren Studien wurde zudem häufig die Methode des *Single-Strand Conformation Polymorphism* (SSCP) als Basisdiagnostik angewandt. Diese Methode ist bei der Detektion von TP53-Mutationen weniger sensitiv als eine Gensequenzierung, besonders da eine Konzentration von mindestens 5-10 Prozent mutierter DNA vonnöten ist, welche in gemischten Geweben wie Hirntumoren nicht zwangsläufig in den untersuchten Tumorproben vorliegt (Tolbert et al., 1999; Wu et al., 1993). Es scheint somit möglich, dass in den betreffenden Studien nicht alle Mutationen erkannt wurden. Die Methoden der Gensequenzierung wurden in den letzten Jahren deutlich verbessert und die seit 2005 entwickelten Methoden, welche unter dem Begriff *Next Generation Sequencing* (NGS) zusammengefasst werden, ermöglichen einen höheren Durchsatz als die direkte Sequenzierung nach Sanger und sind deutlich kosteneffizienter, was erklärt, warum in aktuelleren Studien die Gensequenzierung als Basisdiagnostik angewandt werden konnte (Margulies et al., 2005; Pareek et al., 2011). Sowohl aufgrund des verwendeten Antikörpers als auch aufgrund der präziseren Genanalyse scheint es also sinnvoll, die Auswahl der Methode auf die aktuelleren Studien zu stützen.

Tabelle 26: Komparative Studien zwischen p53-IHC und TP53-Genanalyse in Gliomen (Quellenangabe in der Spalte „Autor, Jahr“)

Autor, Jahr	Histologische Diagnose (ZNS WHO-Grad*)	N (davon GBM IDHwt)	Methode Genanalyse	Exon	Immunreaktion Schwellenwert**	Anti-p53-Antikörper	Konkordanz-Rate	Falsch-positiv-Rate
Louis et al., 1993	Astrozytome, GBM (1-4)	34 (n.a.)	SSCP	5-8	>0%	PAb 1801	59%	29,4%
Newcomb et al., 1993	GBM (4)	37 (n.a.)	SSCP	2-11	>0%	PAb 1801 + BP53.12	81%	18,9%
Koga et al., 1994	Gliome (2-4)	19 (n.a.)	SSCP + Seq	4-8	>0%	PAb 1801	74%	15,8%
Lang et al., 1994	Astrozytome (1-3)	31 (0)	SSCP + Seq	2-11	>0%	n.a.	55%	45,2%
Schiffer et al., 1995	Astrozytome und GBM im Kindesalter (1-4)	30 (n.a.)	SSCP + Seq	5-8	>0%	DO-1 + PAb 1801	73%	26,7%
Hagel et al., 1996	Oligodendrogliome + GBM mit oligodendroglialem Wachstumsmuster (2-4)	122 (n.a.)	SSCP + TGGE + Seq	5-9	>0%	DO-7	82%	12,3%
Kyritsis et al., 1996	Gliome (2-4)	61 (n.a.)	Seq	5-8	≥5%	PAb 1801	82%	11,5%
Watanabe et al., 1997	Astrozytome, GBM (2-4)	144 (0)	SSCP + Seq	4-11	>0%	PAb 1801	74%	18,1%
Simmons et al., 2001	GBM (4)	110 (n.a.)	SSCP + Seq	5-8	≥5%	DO-7	71%	35,2%
Walker et al., 2001	Gliome (1-4)	47 (n.a.)	Seq	1-11	≥10%	DO-7 + PAb 1801	70%	39,4%
Peraud et al., 2002	Astrozytome, Oligoastrozytome (2)	159 (0)	SSCP + Seq	5-8	>0%	DO-7	95%	2,6%
Gillet et al., 2014	Gliome (2)	59 (0)	Ion Torrent + Seq	1-11	≥10% stark	DO-7	78%	10,2%
Takami et al., 2015	Gliome (2-4)	157 (55)	Seq	4-10	≥10% stark ≥40%	DO-7	89% 86%	3,3% 9,9%
Roshandel et al., 2019	GBM (4)	41 (31)	Seq	2-11	≥10% ≥40%	DO-7	54% 93%	58% 9,1%

* = nach der zum Studienzeitpunkt geltenden WHO-Klassifikation; ** = wenn nicht anders spezifiziert Rate der immunreaktiven Tumorzellen jeglicher Intensität; n.a. = nicht angegeben; Seq = direkte DNA-Sequenzierung; SSCP = single strand conformation polymorphism; TGGE = temperature gradient gel electrophoresis

5.1.1 Mögliche Methode IRstark

Gillet et al. (2014) und Takami et al. (2015) etablierten unabhängig voneinander den Schwellenwert von ≥10 Prozent Immunreaktion starker Intensität (im Folgenden Methode IRstark) und erzielten damit vergleichsweise eine hohe Konkordanz und eine niedrige falsch-positiv-Rate – Takami et al. (2015) mit 3,3 Prozent sogar beinahe die niedrigste falsch-positiv-Rate aller betrachteten Studien. In Tabelle 27 wurden anhand der größeren und auch GBM umfassenden

Studie von Takami et al. weitere Testgütekriterien der Methode ermittelt. Die Sensitivität betrug 78,8 Prozent. Die 55 in der Studie enthaltenen IDHwt GBM-Fälle wurden gesondert betrachtet und es ergab sich eine noch höhere Sensitivität und Konkordanz-Rate, aber auch eine etwas höhere falsch-positiv-Rate (5,6%). Auf Takami et al. (2015) gestützt untersuchten auch Roshandel et al. (2019) den Schwellenwert von ≥ 10 Prozent, allerdings wurde hier nicht wie von den Autoren vorgeschlagen der Anteil nur stark immunreaktiver Nuklei, sondern der Anteil nukleärer Reaktion jeglicher Intensität quantifiziert, was die niedrige Konkordanz-Rate (54%) und die enorme falsch-positiv-Rate (58%) erklärt und keine weitere Bewertung der von Takami et al. (2015) propagierten Methode IRstark erlaubt.

Tabelle 27: Ergebniszusammenfassung für einen Schwellenwert von 10 Prozent Immunreaktion starker Intensität in der p53-IHC anhand einer detaillierten Berechnung mit den bereitgestellten ergänzenden Daten (basiert auf Takami et al., 2015, Supporting Information, Table S1)

	TP53-Mutation nachgewiesen	TP53-Mutation nicht nachgewiesen	Σ
IHC positiv ($\geq 10\%$ stark)	52 (19*)	3 (2*)	55 (21*)
IHC negativ ($< 10\%$ stark)	14 (0*)	88 (34*)	102 (34*)
Σ	66 (19*)	91 (36*)	157 (55*)
Sensitivität: 78,8% (100%*)		Spezifität: 96,7% (94,4%*)	Konkordanz: 89,2% (96,4%*)
		Falsch-positiv-Rate: 3,3% (5,6%*)	

* = nur GBM IDHwt

5.1.2 Mögliche Methode IRgesamt

Eine weitere Methode (im Folgenden Methode IRgesamt), die vielversprechend erschien, war die von Roshandel et al. (2019) vorgeschlagene Festlegung des Schwellenwertes auf ≥ 40 Prozent Immunreaktion jeglicher Intensität, womit ebenfalls eine niedrige falsch-positiv-Rate und die höchste Konkordanz-Rate (93%) aller betrachteten GBM enthaltenden Studien erzielt wurde – allerdings umfasste diese Studie eine vergleichsweise geringe Fallzahl (N=41). Bereits Takami et al. (2015) hatten diese Methode evaluiert, konnten aber mit der oben genannten Methode IRstark eine etwas höhere Konkordanz und weniger falsch positive Fälle vorweisen. In Tabelle 28 und Tabelle 29 wurden für Methode IRgesamt weitere Testgütekriterien ermittelt und jeweils für IDHwt GBM gesondert bestimmt. Die Sensitivität betrug 80,3 (Takami et al.) bzw. 100 Prozent (Roshandel et al.). Für die Kohorte der IDHwt GBM (55 Fälle bei Takami et al. und 31 bei Roshandel et al.) waren Sensitivität und Konkordanz im Vergleich zum jeweiligen Gesamtkollektiv gleichbleibend oder höher, während die falsch-positiv-Rate dafür bei Takami et al. etwas höher (13,9%) und bei Roshandel et al. etwas niedriger (7,4%) war.

Tabelle 28: Ergebniszusammenfassung für einen Schwellenwert von 40 Prozent Immunreaktion jeglicher Intensität in der p53-IHC anhand einer detaillierten Berechnung mit den bereitgestellten ergänzenden Daten (basiert auf Takami et al., 2015, Supporting Information, Table S1)

	TP53-Mutation nachgewiesen	TP53-Mutation nicht nachgewiesen	Σ
IHC positiv (≥40%)	53 (19*)	9 (5*)	62 (24*)
IHC negativ (<40%)	13 (0*)	82 (31*)	95 (31*)
Σ	66 (19*)	91 (36*)	157 (55*)
Sensitivität: 80,3% (100%*)		Spezifität: 90,1% (86,1%*)	Konkordanz: 86,0% (90,9%*)
Falsch-positiv-Rate: 9,9% (13,9%*)			

* = nur GBM IDHwt

Tabelle 29: Ergebniszusammenfassung für einen Schwellenwert von 40 Prozent Immunreaktion jeglicher Intensität in der p53-IHC (Roshandel et al., 2019, Table 3; Berechnungen zu GBM IDHwt basieren auf Roshandel et al., 2019, Supplementary Table 1)

	Funktionelle** TP53-Mutation nachgewiesen	Funktionelle TP53-Mutation nicht nachgewiesen	Σ
IHC positiv (≥40%)	8 (4*)	3 (2*)	11 (6*)
IHC negativ (<40%)	0 (0*)	30 (25*)	30 (25*)
Σ	8 (4*)	33 (27*)	41 (31*)
Sensitivität: 100% (100%*)		Spezifität: 90,9% (92,6%*)	Konkordanz: 92,7% (93,5%*)
Falsch-positiv-Rate: 9,1% (7,4%*)			

* = nur GBM IDHwt; ** = eine stille Mutation wurde als nicht funktionell gewertet

5.1.3 Begründung der Entscheidung für die Methode IRstark

Es wird vermutet, dass trunkierende TP53-Mutationen (wie *Nonsense*-, *Frameshift*- und *Splice*-Mutationen), welche ein verkürztes Genprodukt zur Folge haben, nicht zu einer p53-Akkumulation führen und somit auch schlechter durch IHC detektierbar sind (Tashiro et al., 1997). Bei den in der Studie von Takami et al. (2015) falsch negativen Fällen handelte es sich zum Großteil um derartige Mutationen. Eine Sensitivität von 100 Prozent durch die IHC ist somit eigentlich nicht zu erreichen – die Sensitivität von 100 Prozent in der Kohorte der IDHwt GBM (in Tabelle 27, Tabelle 28 und Tabelle 29) ist am ehesten durch die relativ niedrige Fallzahl in dieser Kohorte und die in der Einleitung angeführte sehr niedrige Frequenz trunkierender Mutationen bei IDHwt GBM erklärbar. Dies erlaubt die Schlussfolgerung, dass die Sensitivität vorwiegend vom Anteil trunkierender Mutationen im Kollektiv abhängt. Mit sinkender Sensitivität (bzw. im Umkehrschluss steigender falsch-negativ-Rate), sinkt wiederum die Konkordanz-Rate, dasselbe gilt für eine sinkende Spezifität (bzw. im Umkehrschluss für eine steigende falsch-positiv-

Rate). Es erschien uns daher am sinnvollsten, eine Methode zu wählen, welche eine möglichst niedrige falsch-positiv-Rate verspricht.

Dies war bei der von Takami et al. (2015) empfohlenen Methode IRstark (Immunreaktion starker Intensität ≥ 10 Prozent entspricht p53mut) der Fall, wonach die falsch-positiv-Rate lediglich 3,3 Prozent (bzw. bezogen auf IDHwt GBM 5,6 Prozent) betrug. Diese Studie war zudem mit 157 Gliomen mit die umfangreichste, umfasste auch Fälle der Entität IDHwt GBM (mit 55 Fällen die größte Anzahl unter den betrachteten Studien) und es wurde der gleiche Anti-p53-Antikörper wie in unserem Institut und eine verlässliche Methode der Gensequenzierung angewandt. Ebenso für diese Methode sprach, dass die Autoren eine hohe Reproduzierbarkeit von 98,7 Prozent für die Zuordnung in die gleiche Gruppe zwischen unterschiedlichen Untersuchern nachweisen konnten. Dies ist unserer Erfahrung nach bei einer Methode, welche die nukleäre Reaktion jeglicher Intensität bewertet, eher nicht erreichbar, weil gerade schwach gefärbte Nuklei von unterschiedlichen Untersuchern variabel bewertet werden. Aus den dargelegten Gründen entschieden wir uns, bei der Beurteilung der Schnitte anhand der Methode IRstark vorzugehen und diese als Grundlage für eine Klassierung in p53mut und p53wt zu nutzen.

5.2 Einordnung der Ergebnisse in die vorhandene Literatur

5.2.1 Einordnung der histopathologischen und molekulargenetischen Merkmale

Wir verglichen die Ergebnisse der Arbeit mit der vorhandenen Literatur, um Unterschiede und Gemeinsamkeiten aufzudecken. Die histopathologischen und molekulargenetischen Charakteristika des Kollektivs waren größtenteils vergleichbar mit den diesbezüglich bekannten Daten zu GBM.

Der auf Basis der Methode IRstark ermittelte Anteil von p53mut in unserem Kollektiv war mit 36,4 Prozent (71/195) etwas höher, als die in der Literatur berichtete mit Gensequenzierung festgestellte Prävalenz der TP53-Mutation bei primären GBM von 27 Prozent (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019). Die zwei Fälle im Kollektiv (einer p53mut, einer p53wt), für die eine TP53-Gensequenzierung vorlag, stimmten mit unserer Einordnung überein.

Eine Methylierung des MGMT-Promotors lag in unserer Arbeit bei 39,1 Prozent (79/202) der Primärtumoren vor und war damit in etwa vergleichbar mit den in der Literatur berichteten 45 Prozent bei primären Glioblastomen (Hegi et al., 2006). Es wurde berichtet, dass die TP53-Mutation in Gliomen signifikant mit einer MGMT-Promotormethylierung assoziiert ist (Bello et al., 2004). Einen solchen Zusammenhang konnten wir nicht nachweisen. Die prognostische und prädiktive Bedeutung des MGMT-Promotormethylierungsstatus ist hinreichend bekannt

(Stupp et al., 2009). Ein methylierter MGMT-Promotor war auch in der vorliegenden Arbeit ein prognostischer Marker und mit einem signifikant längeren OS (univariat $p=0,006$, multivariat $p=0,024$) und PFS (univariat $p=0,002$, multivariat $p=0,021$) assoziiert. Die prädiktive Bedeutung des Markers mit einem besseren Ansprechen auf das Stupp-Schema als auf eine alleinige Strahlentherapie konnten wir für das PFS ($p=0,048$) bestätigen, nicht jedoch für das OS ($p=0,057$).

Laut der COSMIC Datenbank liegt eine ATRX-Mutation bei GBM in etwa 10 Prozent der Fälle (194 von 1941 untersuchten Gewebeproben) vor, in unserem Kollektiv war der Anteil mit ATRX-Verlust in der IHC mit 8,1 Prozent etwas niedriger (Tate et al., 2019; Wellcome Sanger Institute, 2022). Dies lässt sich am ehesten dadurch erklären, dass der ATRX-Verlust in der Literatur signifikant mit IDH-Mutationen assoziiert ist und es sich bei den Fällen unseres Kollektivs um IDHwt handelt, in der Datenbank dagegen nicht nach IDH-Mutation gefiltert werden kann. Dass die IHC in unserem Kollektiv nur bei knapp einem Drittel durchgeführt wurde, vermindert zudem die Aussagekraft. Laut der Literatur ist der ATRX-Verlust signifikant mit TP53-Mutationen assoziiert, jedoch vorwiegend in IDH-mutierten Astrozytomen (bzw. teilweise auch nach der veralteten Nomenklatur als IDH-mutierte Glioblastome bezeichnet). Für Glioblastome einzeln betrachtet berichten Ikemura et al. (2016) von keiner signifikanten Assoziation zwischen den beiden Markern. Auch wir konnten anhand unserer Daten keinen signifikanten Zusammenhang feststellen. X.-Y. Liu et al. (2012) geben eine Frequenz von 7 Prozent mit ATRX-Alterationen bei IDH-Wildtyp GBM an, was gut mit unseren Ergebnissen übereinstimmt. (Ikemura et al., 2016; X.-Y. Liu et al., 2012; Reuss et al., 2015; Shao et al., 2016)

Eine hohe p53-Expression korreliert gemäß der Literatur mit einer höheren Ki-67-Expression und damit mit einer höheren Proliferationsrate (Birner et al., 2002; Ellison et al., 1995). Dies zeigt sich auch in unseren Ergebnissen (Chi-Quadrat-Test $p=0,005$ bei Ki-67 als metrische Variable, $p=0,004$ bei Ki-67 klassiert mit Schwellenwert 30 Prozent). Es muss kritisch angemerkt werden, dass die Ki-67-Färbung nur für ca. 70 Prozent der Fälle vorlag und dass die Werte aus vorbestehenden Befunden übernommen wurden, somit nicht alle durch denselben Untersucher erhoben sind und dadurch ggf. nicht so gut vergleichbar sein könnten.

5.2.2 Einordnung der klinischen Merkmale

Auch hinsichtlich der allgemeinen Patientencharakteristika waren unsere Ergebnisse weitestgehend vergleichbar mit den bekannten epidemiologischen Daten zu GBM, welche in der Einleitung erwähnt wurden – so das durchschnittliche Alter bei Diagnose von 66,32 bei uns vs. 57 bis 65 Jahren in der Literatur und auch das PFS von 5,48 vs. 6,2 Monaten. Dagegen gab es in

unserem Kollektiv verhältnismäßig mehr Frauen (Geschlechterverhältnis M:F von 1,22:1 vs. 1,5:1) und das mOS war mit 9,67 Monaten verglichen mit den in der Literatur angegebenen 13,5 Monaten deutlich kürzer. Dies könnte daran liegen, dass in der Metaanalyse von Marenco-Hillebrand et al. (2020) nicht nach IDH-Status differenziert wurde und somit sehr wahrscheinlich viele Tumoren enthalten sind, die nach der aktualisierten WHO-Klassifikation als IDH-mutierte Astrozytome eingeordnet werden würden und bekanntermaßen mit einer besseren Prognose einhergehen. Zudem liegt das durchschnittliche Alter bei Diagnose in unserem Kollektiv minimal höher als vorbeschrieben und auch der KPS liegt in unserer Arbeit mit im Median 80 bzw. im Durchschnitt 76,9 Prozent etwas geringer als z.B. bei Lamborn et al. (2004) mit im Median 90 bzw. im Durchschnitt 85,5 Prozent (berechnet anhand der von den Autoren bereitgestellten Daten). Dies könnte darauf hindeuten, dass in unserer Klinik überproportional viele Patienten mit prognostisch schlechterem Ausgangszustand operiert wurden, was ein kürzeres Überleben erklären würde. Auffallend war jedoch auch, dass das 2-Jahres-Überleben (22,1% bei uns vs. 18,5% bei Ostrom et al., 2019) und das 5-Jahres-Überleben (8,4% bei uns vs. 6,8% bei Ostrom et al., 2019 bzw. 5,8% bei Marenco-Hillebrand et al., 2020) in unserer Studie länger waren als in der Literatur angegeben. Zum 5-Jahres-Überleben muss allerdings angemerkt werden, dass nur 5 Patienten in unserem Kollektiv so lange überlebten und nicht lost to Follow-Up waren. Daher ist zumindest dieser Wert mit Einschränkungen zu verwenden. Möglicherweise sind in unserem Kollektiv überproportional viele Patienten zwischen einem Zeitraum von 2 bis 5 Jahren nach Erkrankungsbeginn verstorben oder waren dann nicht mehr für ein Follow-Up verfügbar. Insgesamt erscheint das mOS als der sinnvollere Vergleichswert. (Marenco-Hillebrand et al., 2020; Ostrom et al., 2019; Stupp et al., 2009)

Auffällig in der Untersuchung der prognostischen Bedeutung der klinischen Merkmale war, dass sich das Auftreten mindestens eines epileptischen Anfalls im Beobachtungszeitraum in der univariaten Analyse prognostisch signifikant positiv auf das OS und das PFS auswirkte. Es muss hier angemerkt werden, dass sich das Follow-Up bezüglich dieses Symptoms schwierig gestaltete und die Anfallsfreiheit teilweise nur angenommen wurde, weswegen es möglich scheint, dass in der Gruppe mit Epilepsie Patient/-innen mit sehr langem Krankheitsverlauf und vollständigem Follow-Up überrepräsentiert sind, wodurch das Ergebnis verfälscht sein könnte. Zudem steigt die Wahrscheinlichkeit, einen epileptischen Anfall zu erleiden mit der Dauer des Krankheitsverlaufs, was zu einer Verzerrung geführt haben könnte. Weiterhin ist es klinisch einfacher, epileptische Anfälle bei Patient/-innen in gutem Allgemeinzustand zu erkennen als bei Patient/-innen, die beispielsweise Vigilanz-gemindert oder in einem präfinalen Zustand sind, weshalb möglicherweise einige Patient/-innen, die kürzer lebten, fälschlicherweise als

anfallsfrei gewertet wurden. Prätherapeutisch kam epileptischen Anfällen keinerlei prognostische Bedeutung zu. In der Literatur wurde, wie auch in dieser Arbeit, kein signifikanter Zusammenhang zwischen der p53-Expression und präoperativen epileptischen Anfällen gefunden (Shen et al., 2020).

Die prognostisch positive Bedeutung eines jüngeren Alters bei Diagnose (OS uni-/multivariat und PFS univariat $p < 0,001$, PFS multivariat $p = 0,015$), eines höheren prätherapeutischen KPS (OS univariat und PFS uni-/multivariat $p < 0,001$, OS multivariat $p = 0,001$) und einer kombinierten Radiochemotherapie anstelle einer alleinigen Bestrahlung (OS/PFS uni-/multivariat $p < 0,001$) konnten wir bestätigen (Abdullah et al., 2015; Filippini et al., 2008; Lamborn et al., 2004; Stupp et al., 2009; Stupp et al., 2005).

Die Prävalenz von multifokalen bzw. multizentrischen Primärtumoren bei GBM wird etwa bei 10 bis 20 Prozent verortet, ebenso wie in dieser Arbeit mit 10,4 Prozent (21/202) (Giannopoulos & Kyritsis, 2010; Hassaneen et al., 2011). Terminologisch wird in manchen Quellen von multizentrischen Tumoren gesprochen, wenn kein sicherer Ausbreitungsweg zwischen Läsionen erkennbar ist und von multifokalen Tumoren nur dann, wenn eine Verbindung zwischen den verschiedenen Läsionen sichtbar ist, z.B. parenchymale Ausbreitung, jedoch scheinen multifokale Tumoren die Mehrzahl der Fälle darzustellen (Batzdorf & Malamud, 1963; Lasocki et al., 2016). In unserer Arbeit wurde zusammengefasst von multifokalen Tumoren gesprochen, jedoch wurden nur Tumoren mit deutlichem Abstand zwischen verschiedenen Herden in unterschiedlichen Hirnlappen als solche gewertet. Wir stellten eine Tendenz dahingehend fest, dass p53wt mit einem multifokalen Primärtumorwachstum ($p = 0,107$) und einer beidseitigen Primärtumorlokalisation ($p = 0,075$) assoziiert zu sein schien. In der Literatur wurde (in einer Studie mit relativ kleiner Fallzahl, GBM IDHwt $N = 224$, davon multifokale/multizentrische GBM $N = 31$) berichtet, dass multifokale GBM signifikant häufiger mit TP53-Mutationen einhergehen als multizentrische GBM, im Vergleich von unifokalen GBM mit multifokalen/multizentrischen GBM zusammengefasst zeigte sich jedoch kein signifikanter Zusammenhang oder auch nur eine Tendenz (Dono et al., 2020; Q. Liu et al., 2015). Im Verlauf der Beobachtungszeit lag bezüglich eines multifokalen Wachstums in unserem Kollektiv kein Unterschied mehr zwischen den p53-Statusklassen vor. Unifokale GBM sind in der Regel leichter operativ zugänglich und damit in der Regel mit einer besseren Prognose bezogen auf das OS assoziiert als solche, die gleichzeitig in mehreren Hirnregionen lokalisiert sind (Haque et al., 2020; Kasper et al., 2021; Patil et al., 2012; Syed et al., 2018). Dies können wir anhand unserer Daten zu OS (univariat $p = 0,001$) bestätigen und zudem auch für das PFS (univariat $p = 0,006$) nachweisen.

5.2.3 p53 als prognostischer Marker

Unsere Analysen erbrachten keine signifikante prognostische Relevanz des durch IHC bestimmten p53-Status auf das OS oder das PFS.

In vergleichbaren früheren Arbeiten zu GBM und anderen Gliomen, welche den p53-Status ebenfalls über die IHC bestimmten, ergaben sich unterschiedliche Ergebnisse, jedoch war auch die Festsetzung des Schwellenwertes der p53-Immunreaktion und die Verwendung des Anti-p53-Antikörpers nicht einheitlich, wie in Tabelle 30 dargestellt wird.

Tabelle 30: Vergleichbare Studien zur prognostischen Relevanz der TP53-Mutation mittels Genanalyse und/oder der p53-Überexpression mittels IHC in Gliomen (Quellenangabe in der Spalte „Autor, Jahr“)

Autor, Jahr	Histologische Diagnose (ZNS WHO-Grad*)	Anti-p53-Antikörper	Immunreaktion Schwellenwert	Signifikanter Einfluss der TP53-Mutation auf		Signifikanter Einfluss der p53-Überexpression auf	
				OS	PFS	OS	PFS
Ellison et al., 1995	Astrozytome, GBM (2-4)	DO-7	>60%			keiner	n.a.
Kyritsis et al., 1995	GBM (4) Anaplastische Gliome	PAb 1801	>0%			keiner	n.a.
		PAb 1801	>0%			⊕	n.a.
Bouvier-Labit et al., 1998	GBM (4)	DO-1	>0%			keiner	keiner
Simmons et al., 2001	GBM (4)	DO-7	≥5%	keiner	keiner	keiner	keiner
Birner et al., 2002	GBM (4)	n.a.	>50%			⊕	n.a.
Peraud et al., 2002	Astrozytome, Oligoastrozytome (2)	DO-7	>0%	keiner	⊖	n.a.	keiner
Shiraishi et al., 2002	GBM (4) Gliome (1-3)			keiner keiner	keiner keiner		
Pardo et al., 2004	Gliome (2-4)	PAb 1801	>25%	n.a.	n.a.	⊖	⊖
		DO-1	>10%			n.a.	⊖
Ständer et al., 2004	Astrozytome, Oligoastrozytome (2)	DO-7	>0%	⊖	⊖	keiner	⊖
Ruano et al., 2009	GBM (4)	DO-7	n.a.	n.a.	n.a.	⊖ (nur gemeinsam mit EGFR-Überexpression)	n.a.
Levidou et al., 2010 **	GBM (4)	verschiedene **	verschiedene **			keiner	
Chaurasia et al., 2016	GBM (4)	DO-7	>30%			⊖ (nur bei Pat. ≥45 Jahre)	⊖

* = nach der zum Studienzeitpunkt geltenden WHO-Klassifikation; ⊕ = statistisch signifikant länger; ⊖ = statistisch signifikant kürzer; n.a. = nicht angegeben; ** = Metaanalyse

Teils wurde bei GBM bei Vorliegen einer hohen p53-Expression über ein signifikant verlängertes OS, teils über ein signifikant kürzeres OS berichtet (Birner et al., 2002; Pardo et al., 2004). In den meisten Publikationen wurde jedoch – wie in dieser Arbeit – kein signifikanter prognostischer Zusammenhang zwischen der p53-IHC und dem OS nachgewiesen (Bouvier-Labit et al., 1998; Ellison et al., 1995; Levidou et al., 2010; Simmons et al., 2001).

Bei Kyritsis et al. (1995) ergab sich eine prognostisch positive Assoziation der p53-Überexpression mit dem OS nur bei anaplastischen Astrozytomen, nicht jedoch bei GBM. Chaurasia et al. (2016) berichteten von einer prognostisch negativen Auswirkung der p53-Überexpression bei GBM, jedoch ausschließlich bei älteren Patient/-innen und Ruano et al. (2009) ermittelten eine solche signifikant negative prognostische Bedeutung nur in Kombination mit einer EGFR-Amplifikation/-Überexpression.

Auch über die prognostische Signifikanz der p53-IHC auf das PFS bei GBM gab es in der Literatur verschiedene Aussagen. In einigen Arbeiten war eine p53-Überexpression assoziiert mit einem kürzeren PFS (Chaurasia et al., 2016; Pardo et al., 2004). Andere fanden – wie auch wir – keinen statistisch signifikanten Zusammenhang (Bouvier-Labit et al., 1998; Simmons et al., 2001).

Für die molekulargenetisch bestimmte TP53-Mutation bei GBM bestand in der Literatur kein signifikanter Zusammenhang mit dem OS oder dem PFS (Shiraishi et al., 2002; Simmons et al., 2001).

In einer Arbeit von Ständer et al. (2004) zu ZNS WHO-Grad 2 Astrozytomen und Oligoastrozytomen wirkte sich die TP53-Mutation signifikant negativ auf das OS und PFS aus, während der mittels IHC bestimmten p53-Überexpression (mit dem Antikörper DO-7) nur bezogen auf das PFS eine signifikante prognostische Bedeutung zukam. Die gleiche Arbeitsgruppe hatte vorab bei den gleichen Entitäten eine prognostisch negative Bedeutung der TP53-Mutation für das PFS berichtet, nicht jedoch für das OS und ohne Signifikanz der p53-Überexpression, in der neueren Studie wurde lediglich die Follow-Up-Dauer ausgeweitet (Peraud et al., 2002). An dieser Stelle erscheint es wichtig, anzumerken, dass in der aktuellen WHO-Klassifikation von 2021 die Entität „Oligoastrozytom“ nicht mehr vorkommt, da diese keine charakteristischen genetischen Merkmale aufwies (Weller et al., 2021). Das Vorliegen einer 1p/19q-Kodeletion wurde in den beiden Studien nicht untersucht. Somit handelt es sich möglicherweise bei einem Großteil der enthaltenen „Oligoastrozytome“ eigentlich um Oligodendrogliome, welche im Allgemeinen seltener TP53-Mutationen aufweisen als Astrozytome und mit einer besseren Prognose als diese vergesellschaftet sind (Andrade et al., 2022; ISB-CGC, 2019). Der beschriebene

negative Effekt der TP53-Mutation auf das OS und PFS könnte somit eher weniger mit der TP53-Mutation selbst zusammenhängen als damit, dass diese häufiger bei den prognostisch schlechteren Astrozytomen vorkommt als bei den eigentlichen Oligodendrogliomen.

5.2.4 p53 als prädiktiver Marker

In unserer Arbeit konnte kein signifikanter Einfluss des p53-Status auf das Therapieansprechen festgestellt werden, weder für das PFS noch für das OS.

Laut der Literatur scheinen eine TP53-Mutation bzw. der Verlust der Wildtyp-p53-Funktion zu einem signifikant schlechteren Ansprechen auf eine TMZ-Chemotherapie zu führen. In einer Studie von Hermisson et al. (2006) mit Gliom-Zelllinien wurde festgestellt, dass nach experimenteller Unterdrückung der Wildtyp-p53-Funktion die Tumorzellen auf TMZ deutlich resistenter waren, ohne dass die MGMT-Expression – welche ja bekanntermaßen zu TMZ-Resistenz führt – sich erhöhte. Die Wiederherstellung der Wildtyp-p53-Funktion bei einer TP53-mutierten Zelllinie führte dagegen zu gesteigerter TMZ-Chemosensitivität. Wurden die Zelllinien mit und ohne TP53-Mutation ohne experimentelle Änderungen verglichen, so zeigte sich kein Unterschied im Ansprechen auf TMZ. Korrespondierend dazu berichteten Nie et al. (2016), dass die Kombination aus TP53-Wildtyp und niedriger Expression des Transkriptionsfaktors BACH1 zu einem besseren Ansprechen auf eine TMZ-Chemotherapie führt. BACH1 kann laut dieser Studie p53 binden und führt dadurch, wenn es überexprimiert ist, zu einer höheren MGMT-Expression, welche wiederum mit TMZ-Resistenz einhergeht. Auch Wang et al. (2013) postulierten, dass eine TP53-Mutation die TMZ-Chemosensitivität reduziert, indem sie zu einer höheren MGMT-Expression führt.

5.3 Stärken und Limitationen der Arbeit

Die Stärken der vorliegenden Arbeit bestehen zum einen darin, dass uns insgesamt 202 Primärtumoren, davon 195 mit p53-Status, vorlagen und damit ein vergleichsweise großes Kollektiv. Zudem waren diese aus einem recht eng gefassten und aktuellen Zeitraum (Januar 2014 bis April 2017), was insbesondere deshalb wichtig erscheint, da anzunehmen ist, dass sich hier das Outcome nicht wesentlich durch wissenschaftliche Fortschritte im Bereich der Therapie unterscheidet. Die Follow-Up Dauer war mit 9,28 Monaten im Median relativ lang und lediglich 8,4 Prozent (17/202) des Gesamtkollektivs wurden bezogen aufs Überleben als lost to Follow-Up gewertet. Die Primärtumoren wurden nach der zum Zeitpunkt der Analysen aktuellsten vorliegenden WHO-Klassifikation von 2021 klassifiziert und es wurden darum auch lediglich IDHwt

GBM einbezogen (Louis et al., 2021). Wie oben dargestellt wurde, wurde die Klassenaufteilung nach p53-Status mittels der aktuell evidenzbasiert besten IHC-Auswertung durchgeführt.

Eine Limitation der Arbeit ist, dass bei der Analyse des PFS ein recht hoher Anteil der Fälle als lost to Follow-Up gewertet werden musste, nämlich bezogen aufs Gesamtkollektiv 15,8 Prozent (32/202). Zudem fußen unsere Ergebnisse auf der p53-IHC und daraus gezogenen Schlüssen auf das Vorliegen einer TP53-Mutation. Somit ist auf Basis der Ergebnisse nicht auszuschließen, dass der direkt nachgewiesenen TP53-Mutation eine Bedeutung als Marker zukommen würde.

5.4 Ausblick

Aufgrund der widersprüchlichen Studienlage bezüglich zu verwendender p53-IHC-Schwellenwerte bei GBM scheint es unvermeidlich, weitere komparative Studien zwischen der TP53-Genanalyse und der p53-IHC bei GBM durchzuführen und so in Zukunft eine möglichst gute diagnostische Präzision der p53-IHC als Rückschluss auf eine zugrundeliegende TP53-Mutation zu ermöglichen, bzw. möglicherweise die von Takami et al. (2015) proklamierte, auch in dieser Arbeit verwendete, Methode in einer größeren Studie zu validieren.

Bei den oben genannten Studien zur prädiktiven Bedeutung der TP53-Mutation handelt es sich allesamt um experimentelle Studien an Zelllinien. Hier wären weitere retrospektive klinische Studien interessant.

In der vorliegenden Arbeit wurde nicht untersucht, wie die EGFR-Mutation bzw. -Überexpression/-Amplifikation in der IHC mit der p53-Überexpression zusammenhängt, da in den pathologischen Befundberichten (zu den 77 der 202 Primärtumoren, in denen die Färbung durchgeführt worden war) sehr selten eine genaue Prozentzahl der EGFR-Immunreaktion angegeben war und darum keine vernünftige Klassierung angewandt werden konnte. Dies scheint für zukünftige Arbeiten eine spannende Fragestellung zu sein, da in der Literatur berichtet wird, dass sich die Kombination aus EGFR-Amplifikation und p53-Überexpression bei GBM signifikant prognostisch negativ auswirkt bzw. umgekehrt eine niedrige EGFR- und p53-Expression einen Überlebensvorteil darstellen (Abdullah et al., 2015; Ruano et al., 2009). Jedoch scheint eine EGFR-Amplifikation bei GBM sehr selten gemeinsam mit einer TP53-Mutation aufzutreten, oder zumindest weniger ausgedehnt als bei TP53-Wildtyp (Ohgaki & Kleihues, 2013; Okada et al., 2003; Watanabe et al., 1996). Die Prävalenz der EGFR-Mutation liegt bei GBM in der Literatur bei etwa 14 Prozent (516 von 3573 in der COSMIC Datenbank untersuchten Gewebeproben) (Tate et al., 2019; Wellcome Sanger Institute, 2022).

Weiterhin könnte es interessant sein, den TP53-Status bzw. die p53-Expression in multifokalen GBM-Rezidiven zu untersuchen. Es wurde berichtet, dass ein solches Rezidiv mit einer neu erworbenen TP53-Mutation einhergehen kann und mutmaßlich über diesen Mechanismus zu einer schlechteren Prognose führt, jedoch wurde nicht untersucht, wie häufig eine solche Mutation in multifokalen Progressen auftritt (Olafson et al., 2020).

6 Zusammenfassung

Es ist zu erwarten, dass molekulare Biomarker einen zunehmenden Einfluss auf die klinische Entscheidungsfindung bei Glioblastomen (GBM) haben werden und in Zukunft zu personalisierten Therapiestrategien führen werden. In einigen anderen Tumorentitäten dienen die TP53-Genmutation oder die p53-Immunreaktion als prognostischer Marker, der signifikant das Gesamtüberleben (OS) oder das progressionsfreie Überleben (PFS) beeinflusst (Petitjean et al., 2007). Eine solche Assoziation wurde bei GBM bisher nicht ausreichend bewiesen (Zhang et al., 2018). Jedoch gibt es bekannte prognostische Marker bei GBM, insbesondere die MGMT-Promotormethylierung, welche auch als prädiktiver Marker dient, da sie zu einem besseren Ansprechen auf Temozolomid-Chemotherapie führt (Stupp et al., 2009). Unser Ziel war es, retrospektiv herauszufinden, ob die mittels Immunhistochemie (IHC) bestimmte p53-Mutation als prognostischer oder prädiktiver Marker bei GBM dienen könnte.

Tumorproben von 195 Therapie-naiven Patient/-innen mit IDH-Wildtyp GBM, welche zuvor mit dem Anti-p53-Antikörper DO-7 gefärbt worden waren, wurden anhand der p53-IHC in 2 verschiedene Klassen aufgeteilt. Die Proben wurden als p53-mutiert (p53mut) gewertet, wenn eine starke Immunreaktion in ≥ 10 Prozent aller Tumorzellen festzustellen war und als p53-Wildtyp (p53wt), wenn diese bei < 10 Prozent lag. Daten zur Therapie, weitere molekulare Merkmale und Überlebensdaten wurden retrospektiv für alle Patient/-innen erhoben. Statistische Analysen wurden mit SPSS durchgeführt.

Der Anteil von p53mut lag bei 36,4 Prozent (71/195). Es fiel auf, dass p53mut Tumoren eine signifikant höhere Ki-67-Immunreaktion aufwiesen ($p=0,005$) und dass p53wt Tumoren primär häufiger multifokal zu wachsen schienen ($p=0,107$). Letzteres war jedoch nicht statistisch signifikant und in der Analyse der Rezidive bestand zwischen den p53-Klassen kein Unterschied mehr im multifokalen Wachstum. In der Zusammensetzung der Klassen p53wt und p53mut bestand kein signifikanter Unterschied bezüglich des Geschlechts, des Alters, der MGMT-Promotormethylierung, der ATRX-Immunreaktion, der Primärtherapie, dem Resektionsausmaß, der Progress-Anzahl und des Auftretens epileptischer Anfälle.

In den univariaten Überlebenszeitanalysen zeigten sich für das OS und das PFS signifikant jeweils günstig ein geringeres Alter, eine einseitige und eine nicht multifokale Lokalisation des Primärtumors, eine Kompletresektion, ein präoperativer KPS von mindestens 70 Prozent, das Vorliegen eines methylierten MGMT-Promotors und mindestens ein epileptischer Anfall im gesamten Beobachtungszeitraum. Das Stupp-Schema verlängerte das OS und das PFS zudem signifikant mehr als eine alleinige Strahlentherapie, welche jedoch wiederum signifikant

günstiger war als primär Best Supportive Care (BSC). In den multivariaten Analysen der Auswirkungen auf das OS und das PFS blieben jeweils ein Alter unter 65 Jahren, die Wahl der Primärtherapie (wiederum Stupp-Schema > alleinige Strahlentherapie > nur BSC), ein methylierter MGMT-Promotor und ein präoperativer KPS von mindestens 70 Prozent als unabhängige signifikant prognostisch günstige Kriterien übrig.

Der p53-Status zeigte weder in den univariaten noch in den multivariaten Analysen mit den aus der Literatur bekannten prognostischen Faktoren einen signifikanten Effekt auf das OS oder auf das PFS. Auch war der p53-Status nicht mit einem veränderten Ansprechen auf eine bestimmte Primärtherapie assoziiert.

Unserer Studie zufolge kam dem mittels IHC bestimmten p53-Status also keine Bedeutung als prognostischer oder prädiktiver Marker zu. Es gibt vorherige Arbeiten, die zur gleichen Schlussfolgerung kommen, wie auch solche mit widersprüchlichen Ergebnissen (Birner et al., 2002; Bouvier-Labit et al., 1998; Ellison et al., 1995; Kyritsis et al., 1995; Pardo et al., 2004; Simmons et al., 2001). Bemerkenswert ist die Uneinigkeit vieler Studien bezüglich des verwendeten Schwellenwerts bei der p53-Immunreaktion. Zukünftige Arbeiten sollten darauf abzielen, den Schwellenwert zu revalidieren und die Konkordanz zwischen der TP53-Genanalyse und der p53-IHC bei IDH-Wildtyp GBM zu verbessern.

Danksagung

Ich möchte an dieser Stelle all jenen Menschen danken, die mich im Rahmen meiner Doktorarbeit und meines Studiums auf meinem Weg begleitet und zum Gelingen beigetragen haben.

Mein Dank gilt an erster Stelle Frau PD Dr. Friederike Schmidt-Graf für die großartige Betreuung, ihr großes Engagement und ihre empathische Art. Sie hat einen großen Teil zu meiner Faszination für die Neurologie beigetragen, mein wissenschaftliches und klinisches Denken geprägt und ich habe sehr viel von ihr lernen können, was mich sicherlich in meiner weiteren Karriere begleiten wird.

Meiner Mentorin PD Dr. Friederike Liesche-Starnecker danke ich herzlich für ihre zahlreichen guten Ideen und ihr konstruktives Feedback. Sie hatte stets ein offenes Ohr für meine Fragen und Vorschläge, hat sich Zeit für mich genommen und mir viel über eine wissenschaftliche Arbeitsweise beigebracht.

Zudem danke ich der Arbeitsgruppe der Neuropathologie der TU München um Prof. Dr. med. Jürgen Schlegel, dass ich an vielen interessanten Lab-Meetings teilhaben konnte, viel wissenschaftlichen Input bekommen habe und ins Team aufgenommen wurde. Insbesondere danke ich Sandra Baur und Christian Schustetter für die tatkräftige Unterstützung bei der Archiv- und Laborarbeit. Karoline Meyer danke ich für die Kooperation bei der Datenerhebung, Claudia Walter für die Organisation der Treffen und Sophie Franzmeier dafür, dass ich ihren Arbeitsplatz und das Mikroskop mitbenutzen durfte.

Herrn PD Dr. Bernhard Haller vom Institut für medizinische Statistik und Epidemiologie der TU München möchte ich dafür danken, dass er sich im Rahmen eines ausführlichen Beratungsgesprächs viel Zeit genommen hat, mir wertvolle Tipps gegeben hat und alle meine statistischen Fragen klären konnte. Herrn Max Wiedemann vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie der LMU München danke ich dafür, dass er mir einen Zugang zum Tumorregister München ermöglicht hat und sich spezifische Daten nochmal genauer für mich angeschaut hat. Weiterhin danke ich Isabella Koska, Andrea Eberl und Joanna Bojanowska vom Sekretariat der Neurologie der TU München dafür, dass sie immer ihr Bestes gegeben haben, mir einen Arbeitsplatz zur Verfügung zu stellen.

Meiner Freundin und Mit-Doktorandin Stefanie Antoni gilt mein herzlicher Dank für die Kooperation bei der Datenerhebung, zahlreiche Gespräche über die Promotion und darüber hinaus und dafür, dass ich mich von ihr immer verstanden fühle. Meinen Freundinnen Hanna Wirsching, Elke Schollmayer und Alina Seiler danke ich für die schönen gemeinsamen Jahre im

Studium und dafür, dass sie immer für mich da sind. Franziska Freudig und Vincent Hill möchte ich für ihre großartige langjährige Freundschaft danken und dafür, dass sie mir immer zuhören, mich aufmuntern und mich in allen Lebenslagen unterstützen.

Meinem Freund Maximilian Fischer danke ich sehr für seine emotionale Unterstützung. Er hat mich stets angespornt, weiterzumachen und freut sich über meine Erfolge mindestens ebenso sehr wie ich selbst.

Zuletzt gilt mein herzlichster Dank meinen Eltern. Dafür, dass sie mich immer motiviert aber nie unter Druck gesetzt haben und vor allem für ihren unerschütterlichen Glauben an mich.

Literaturverzeichnis

- Abdullah, K. G., Ramayya, A., Thawani, J. P., Macyszyn, L., Martinez-Lage, M., O'Rourke, D. M. & Brem, S. (2015). Factors associated with increased survival after surgical resection of glioblastoma in octogenarians. *PloS one*, *10*(5), e0127202. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127202>
- Ahmed, A. A., Etemadmoghadam, D., Temple, J., Lynch, A. G., Riad, M., Sharma, R., Stewart, C., Fereday, S., Caldas, C., Defazio, A., Bowtell, D. & Brenton, J. D. (2010). Driver mutations in TP53 are ubiquitous in high grade serous carcinoma of the ovary. *The Journal of pathology*, *221*(1), 49–56. <https://doi.org/10.1002/path.2696>
- Andrade, K. C. de, Lee, E. E., Tookmanian, E. M., Kesserwan, C. A., Manfredi, J. J., Hatton, J. N., Loukissas, J. K., Zavadil, J., Zhou, L., Olivier, M., Frone, M. N., Shahzada, O., Longabaugh, W. J. R., Kratz, C. P., Malkin, D., Hainaut, P. & Savage, S. A. (2022). The TP53 Database: transition from the International Agency for Research on Cancer to the US National Cancer Institute. *Cell Death & Differentiation*, *29*(5), 1071–1073. <https://doi.org/10.1038/s41418-022-00976-3>
- Banks, L., Matlashewski, G. & Crawford, L. V. (1986). Isolation of human-p53-specific monoclonal antibodies and their use in the studies of human p53 expression. *European journal of biochemistry*, *159*(3), 529–534. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1986.tb09919.x>
- Batzdorf, U. & Malamud, N. (1963). The Problem of Multicentric Gliomas. *Journal of neurosurgery*, *20*, 122–136. <https://doi.org/10.3171/jns.1963.20.2.0122>
- Bello, M. J., Alonso, M. E., Amiñoso, C., Anselmo, N. P., Arjona, D., Gonzalez-Gomez, P., Lopez-Marin, I., Campos, J. M. de, Gutierrez, M., Isla, A., Kusak, M. E., Lassaletta, L., Sarasa, J. L., Vaquero, J., Casartelli, C. & Rey, J. A. (2004). Hypermethylation of the DNA repair gene MGMT: association with TP53 G:C to A:T transitions in a series of 469 nervous system tumors. *Mutation research*, *554*(1-2), 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.02.011>
- Benchimol, S., Lamb, P., Crawford, L. V., Sheer, D., Shows, T. B., Bruns, G. A. & Peacock, J. W. (1985). Transformation associated p53 protein is encoded by a gene on human chromosome 17. *Somatic cell and molecular genetics*, *11*(5), 505–510. <https://doi.org/10.1007/BF01534845>

- Birner, P., Piribauer, M., Fischer, I., Gatterbauer, B., Marosi, C., Ungersböck, K., Rössler, K., Budka, H. & Hainfellner, J. A. (2002). Prognostic relevance of p53 protein expression in glioblastoma. *Oncology reports*, *9*(4), 703–707.
- Blandino, G., Deppert, W., Hainaut, P., Levine, A. J., Lozano, G., Olivier, M., Rotter, V., Wiman, K. G. & Oren, M. (2012). Mutant p53 protein, master regulator of human malignancies: a report on the Fifth Mutant p53 Workshop. *Cell Death & Differentiation*, *19*(1), 180–183. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.148>
- Bouaoun, L., Sonkin, D., Ardin, M., Hollstein, M., Byrnes, G., Zavadil, J. & Olivier, M. (2016). TP53 Variations in Human Cancers: New Lessons from the IARC TP53 Database and Genomics Data. *Human mutation*, *37*(9), 865–876. <https://doi.org/10.1002/humu.23035>
- Bouvier-Labit, C., Chinot, O., Ochi, C., Gambarelli, D., Dufour, H. & Figarella-Branger, D. (1998). Prognostic significance of Ki67, p53 and epidermal growth factor receptor immunostaining in human glioblastomas. *Neuropathology and applied neurobiology*, *24*(5), 381–388. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2990.1998.00137.x>
- Brennan, C. W., Verhaak, R. G. W., McKenna, A., Campos, B., Noushmehr, H., Salama, S. R., Zheng, S., Chakravarty, D., Sanborn, J. Z., Berman, S. H., Beroukhi, R., Bernard, B., Wu, C.-J., Genovese, G., Shmulevich, I., Barnholtz-Sloan, J. S., Zou, L., Vegesna, R., Shukla, S. A., . . . Chin, L. (2013). The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell*, *155*(2), 462–477. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.034>
- Brosh, R. & Rotter, V. (2009). When mutants gain new powers: news from the mutant p53 field. *Nature reviews. Cancer*, *9*(10), 701–713. <https://doi.org/10.1038/nrc2693>
- Chaurasia, A., Park, S.-H., Seo, J.-W. & Park, C.-K. (2016). Immunohistochemical Analysis of ATRX, IDH1 and p53 in Glioblastoma and Their Correlations with Patient Survival. *Journal of Korean medical science*, *31*(8), 1208–1214. <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.8.1208>
- Cohen, J. (1992). A power primer. *Psychological Bulletin*, *112*(1), 155–159. <https://doi.org/10.1037//0033-2909.112.1.155>
- Dang, L., White, D. W., Gross, S., Bennett, B. D., Bittinger, M. A., Driggers, E. M., Fantin, V. R., Jang, H. G., Jin, S., Keenan, M. C., Marks, K. M., Prins, R. M., Ward, P. S., Yen, K. E., Liau, L. M., Rabinowitz, J. D., Cantley, L. C., Thompson, C. B., Vander

- Heiden, M. G. & Su, S. M. (2009). Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature*, *462*(7274), 739–744. <https://doi.org/10.1038/nature08617>
- Danks, M. K., Whipple, D. O., McPake, C. R., Lu, D. & Harris, L. C. (1998). Differences in epitope accessibility of p53 monoclonal antibodies suggest at least three conformations or states of protein binding of p53 protein in human tumor cell lines. *Cell death and differentiation*, *5*(8), 678–686. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400408>
- Dittmer, D., Pati, S., Zambetti, G., Chu, S., Teresky, A. K., Moore, M., Finlay, C. A. & Levine, A. J. (1993). Gain of function mutations in p53. *Nature genetics*, *4*(1), 42–46. <https://doi.org/10.1038/ng0593-42>
- Dono, A., Wang, E., Lopez-Rivera, V., Ramesh, A. V., Tandon, N., Ballester, L. Y. & Esquenazi, Y. (2020). Molecular characteristics and clinical features of multifocal glioblastoma. *Journal of neuro-oncology*, *148*(2), 389–397. <https://doi.org/10.1007/s11060-020-03539-z>
- Ellison, D. W., Steart, P. V., Bateman, A. C., Pickering, R. M., Palmer, J. D. & Weller, R. O. (1995). Prognostic indicators in a range of astrocytic tumours: an immunohistochemical study with Ki-67 and p53 antibodies. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, *59*(4), 413–419. <https://doi.org/10.1136/jnnp.59.4.413>
- Filippini, G., Falcone, C., Boiardi, A., Broggi, G., Bruzzone, M. G., Caldiroli, D., Farina, R., Farinotti, M., Fariselli, L., Finocchiaro, G., Giombini, S., Pollo, B., Savoiaro, M., Solero, C. L. & Valsecchi, M. G. (2008). Prognostic factors for survival in 676 consecutive patients with newly diagnosed primary glioblastoma. *Neuro-oncology*, *10*(1), 79–87. <https://doi.org/10.1215/15228517-2007-038>
- Gerson, S. L. (2002). Clinical relevance of MGMT in the treatment of cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, *20*(9), 2388–2399. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.06.110>
- Giannopoulos, S. & Kyritsis, A. P. (2010). Diagnosis and management of multifocal gliomas. *Oncology*, *79*(3-4), 306–312. <https://doi.org/10.1159/000323492>
- Gillet, E., Alentorn, A., Doukouré, B., Mundwiler, E., van Thuijl, H. F., Reijneveld, J. C., Medina, J. A. M., Liou, A., Marie, Y., Mokhtari, K., Hoang-Xuan, K., Sanson, M., Delattre, J.-Y. & Idbaih, A. (2014). TP53 and p53 statuses and their clinical impact in diffuse low grade gliomas. *Journal of neuro-oncology*, *118*(1), 131–139. <https://doi.org/10.1007/s11060-014-1407-4>

- Gravendeel, L. A. M., Kloosterhof, N. K., Bralten, L. B. C., van Marion, R., Dubbink, H. J., Dinjens, W., Bleeker, F. E., Hoogenraad, C. C., Michiels, E., Kros, J. M., van den Bent, M. J., Smitt, P. A. E. S. & French, P. J. (2010). Segregation of non-p.R132H mutations in IDH1 in distinct molecular subtypes of glioma. *Human mutation*, 31(3), E1186-99. <https://doi.org/10.1002/humu.21201>
- Hagel, C., Laking, G., Laas, R., Scheil, S., Jung, R., Milde-Langosch, K. & Stavrou, D. K. (1996). Demonstration of p53 protein and TP53 gene mutations in oligodendrogliomas. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 32(13), 2242–2248. [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(96\)00259-6](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(96)00259-6)
- Haque, W., Thong, Y., Verma, V., Rostomily, R., Butler, E. B. & Teh, B. S. (2020). Patterns of management and outcomes of unifocal versus multifocal glioblastoma. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 74, 155–159. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2020.01.086>
- Hartmann, C., Hentschel, B., Wick, W., Capper, D., Felsberg, J., Simon, M., Westphal, M., Schackert, G., Meyermann, R., Pietsch, T., Reifenberger, G., Weller, M., Loeffler, M. & Deimling, A. von (2010). Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: implications for classification of gliomas. *Acta Neuropathologica*, 120(6), 707–718. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0781-z>
- Hassaneen, W., Levine, N. B., Suki, D., Salaskar, A. L., Moura Lima, A. de, McCutcheon, I. E., Prabhu, S. S., Lang, F. F., DeMonte, F., Rao, G., Weinberg, J. S., Wildrick, D. M., Aldape, K. D. & Sawaya, R. (2011). Multiple craniotomies in the management of multifocal and multicentric glioblastoma. Clinical article. *Journal of neurosurgery*, 114(3), 576–584. <https://doi.org/10.3171/2010.6.JNS091326>
- Haupt, S., Berger, M., Goldberg, Z. & Haupt, Y. (2003). Apoptosis - the p53 network. *Journal of cell science*, 116(Pt 20), 4077–4085. <https://doi.org/10.1242/jcs.00739>
- Haupt, Y., Maya, R., Kazaz, A. & Oren, M. (1997). Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature*, 387(6630), 296–299. <https://doi.org/10.1038/387296a0>
- Hegi, M. E., Murat, A., Lambiv, W. L. & Stupp, R. (2006). Brain tumors: molecular biology and targeted therapies. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 17 Suppl 10, x191-7. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdl259>

- Hermisson, M., Klumpp, A., Wick, W., Wischhusen, J., Nagel, G., Roos, W., Kaina, B. & Weller, M. (2006). O6-methylguanine DNA methyltransferase and p53 status predict temozolomide sensitivity in human malignant glioma cells. *Journal of neurochemistry*, 96(3), 766–776. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03583.x>
- Ikemura, M., Shibahara, J., Mukasa, A., Takayanagi, S., Aihara, K., Saito, N., Aburatani, H. & Fukayama, M. (2016). Utility of ATRX immunohistochemistry in diagnosis of adult diffuse gliomas. *Histopathology*, 69(2), 260–267. <https://doi.org/10.1111/his.12927>
- ISB-CGC. (July 2019). *The TP53 Database*. <https://tp53.isb-cgc.org/>
- Joerger, A. C. & Fersht, A. R. (2010). The tumor suppressor p53: from structures to drug discovery. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(6), a000919. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000919>
- Kandoth, C., McLellan, M. D., Vandin, F., Ye, K., Niu, B., Lu, C., Xie, M., Zhang, Q., McMichael, J. F., Wyczalkowski, M. A., Leiserson, M. D. M., Miller, C. A., Welch, J. S., Walter, M. J., Wendl, M. C., Ley, T. J., Wilson, R. K., Raphael, B. J. & Ding, L. (2013). Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature*, 502(7471), 333–339. <https://doi.org/10.1038/nature12634>
- Kanehisa, M. (2022). *KEGG PATHWAY Database: Wiring diagrams of molecular interactions, reactions and relations*. <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>
- Kanehisa, M., Goto, S., Sato, Y., Furumichi, M. & Tanabe, M. (2012). KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. *Nucleic acids research*, 40(Database issue), D109-14. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr988>
- Karnofsky, D. A., Abelmann, W. H., Craver, L. F. & Burchenal, J. H. (1948). The use of the nitrogen mustards in the palliative treatment of carcinoma. With particular reference to bronchogenic carcinoma. *Cancer*, 1(4), 634–656. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(194811\)1:4<634::AID-CNCR2820010410>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1097-0142(194811)1:4<634::AID-CNCR2820010410>3.0.CO;2-L)
- Karsy, M., Neil, J. A., Guan, J., Mahan, M. A., Mark, M. A., Colman, H. & Jensen, R. L. (2015). A practical review of prognostic correlations of molecular biomarkers in glioblastoma. *Neurosurgical focus*, 38(3), E4. <https://doi.org/10.3171/2015.1.FOCUS14755>
- Kasper, J., Hilbert, N., Wende, T., Fehrenbach, M. K., Wilhelmy, F., Jähne, K., Frydrychowicz, C., Hamerla, G., Meixensberger, J. & Arlt, F. (2021). On the Prognosis of

- Multifocal Glioblastoma: An Evaluation Incorporating Volumetric MRI. *Current oncology (Toronto, Ont.)*, 28(2), 1437–1446. <https://doi.org/10.3390/curroncol28020136>
- Koga, H., Zhang, S., Kumanishi, T., Washiyama, K., Ichikawa, T., Tanaka, R. & Mukawa, J. (1994). Analysis of p53 gene mutations in low- and high-grade astrocytomas by polymerase chain reaction-assisted single-strand conformation polymorphism and immunohistochemistry. *Acta neuropathologica*, 87(3), 225–232. <https://doi.org/10.1007/BF00296737>
- Kyritsis, A. P., Bondy, M. L., Hess, K., Cunningham, J. E., Zhu, D., Amos, C. J., Yung, W. K. A., Levin, V. A. & Bruner, J. M. (1995). Prognostic significance of p53 immunoreactivity in patients with glioma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 1(12), 1617–1622.
- Kyritsis, A. P., Xu, R., Bondy, M. L., Levin, V. A. & Bruner, J. M. (1996). Correlation of p53 immunoreactivity and sequencing in patients with glioma. *Molecular carcinogenesis*, 15(1), 1–4. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2744\(199601\)15:1<1::AID-MC1>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2744(199601)15:1<1::AID-MC1>3.0.CO;2-O)
- Lamb, P. & Crawford, L. V. (1986). Characterization of the human p53 gene. *Molecular and cellular biology*, 6(5), 1379–1385. <https://doi.org/10.1128/mcb.6.5.1379-1385.1986>
- Lamborn, K. R., Chang, S. M. & Prados, M. D. (2004). Prognostic factors for survival of patients with glioblastoma: recursive partitioning analysis. *Neuro-oncology*, 6(3), 227–235. <https://doi.org/10.1215/S1152851703000620>
- Landis, J. R. & Koch, G. G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33(1), 159–174. <https://doi-org.eaccess.ub.tum.de/10.2307/2529310>
- Lang, F. F., Miller, D. C., Pisharody, S., Koslow, M. & Newcomb, E. W. (1994). High frequency of p53 protein accumulation without p53 gene mutation in human juvenile pilocytic, low grade and anaplastic astrocytomas. *Oncogene*, 9(3), 949–954.
- Lasocki, A., Gaillard, F., Tacey, M., Drummond, K. J. & Stuckey, S. (2016). Multifocal and multicentric glioblastoma: Improved characterisation with FLAIR imaging and prognostic implications. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 31, 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2016.02.022>
- Le Beau, M. M., Westbrook, C. A., Diaz, M. O., Rowley, J. D. & Oren, M. (1985). Translocation of the p53 gene in t(15;17) in acute promyelocytic leukaemia. *Nature*, 316(6031), 826–828. <https://doi.org/10.1038/316826a0>

- Lee, W., Harvey, T. S., Yin, Y., Yau, P., Litchfield, D. & Arrowsmith, C. H. (1994). Solution structure of the tetrameric minimum transforming domain of p53. *Nature structural biology*, 1(12), 877–890. <https://doi.org/10.1038/nsb1294-877>
- Levidou, G., El-Habr, E., Saetta, A. A., Bamias, C., Katsouyanni, K., Katsougiannis, K., Patsouris, E. & Korkolopoulou, P. (2010). P53 immunoexpression as a prognostic marker for human astrocytomas: a meta-analysis and review of the literature. *Journal of neuro-oncology*, 100(3), 363–371. <https://doi.org/10.1007/s11060-010-0204-y>
- Levine, A. J., Momand, J. & Finlay, C. A. (1991). The p53 tumour suppressor gene. *Nature*, 351(6326), 453–456. <https://doi.org/10.1038/351453a0>
- Li, F. P., Fraumeni, J. F., Jr., Mulvihill, J. J., Blattner, W. A., Dreyfus, M. G., Tucker, M. A. & Miller, R. W. (1988). A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer research*, 48(18), 5358–5362.
- Liu, Q., Liu, Y [Yuexin], Li, W., Wang, X [Xiaoguang], Sawaya, R., Lang, F. F., Yung, W. K. A., Chen, K., Fuller, G. N. & Zhang, W. (2015). Genetic, epigenetic, and molecular landscapes of multifocal and multicentric glioblastoma. *Acta Neuropathologica*, 130(4), 587–597. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1470-8>
- Liu, X.-Y., Gerges, N., Korshunov, A., Sabha, N., Khuong-Quang, D.-A., Fontebasso, A. M., Fleming, A., Hadjadj, D., Schwartzenuber, J., Majewski, J., Dong, Z., Siegel, P., Albrecht, S., Croul, S., Jones, D. T. W., Kool, M., Tonjes, M., Reifenberger, G., Faury, D., . . . Jabado, N. (2012). Frequent ATRX mutations and loss of expression in adult diffuse astrocytic tumors carrying IDH1/IDH2 and TP53 mutations. *Acta Neuropathologica*, 124(5), 615–625. <https://doi.org/10.1007/s00401-012-1031-3>
- Louis, D. N., Deimling, A. von, Chung, R. Y., Rubio, M.-P., Whaley, J. M., Eibl, R. H., Ohgaki, H., Wiestler, O., Thor, A. D. & Seizinger, B. R. (1993). Comparative study of p53 gene and protein alterations in human astrocytic tumors. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 52(1), 31–38. <https://doi.org/10.1097/00005072-199301000-00005>
- Louis, D. N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D. J., Cree, I. A., Figarella-Branger, D., Hawkins, C., Ng, H. K., Pfister, S. M., Reifenberger, G., Soffietti, R., Deimling, A. von & Ellison, D. W. (2021). The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-oncology*, 23(8), 1231–1251. <https://doi.org/10.1093/neu-onc/noab106>

- Malkin, D., Li, F. P., Strong, L. C., Fraumeni, J. F., Jr., Nelson, C. E., Kim, D. H., Kassel, J., Gryka, M. A., Bischoff, F. Z. & Tainsky, M. A. (1990). Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science (New York, N.Y.)*, 250(4985), 1233–1238. <https://doi.org/10.1126/science.1978757>
- Marenco-Hillebrand, L., Wijesekera, O., Suarez-Meade, P., Mampre, D., Jackson, C., Peterson, J., Trifiletti, D., Hammack, J., Ortiz, K., Lesser, E., Spiegel, M., Prevatt, C., Hawayek, M., Quinones-Hinojosa, A. & Chaichana, K. L. (2020). Trends in glioblastoma: outcomes over time and type of intervention: a systematic evidence based analysis. *Journal of neuro-oncology*, 147(2), 297–307. <https://doi.org/10.1007/s11060-020-03451-6>
- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W. E., Attiya, S., Bader, J. S., Bembien, L. A., Berka, J., Braverman, M. S., Chen, Y.-J., Chen, Z., Dewell, S. B., Du, L., Fierro, J. M., Gomes, X. V., Godwin, B. C., He, W., Helgesen, S., Ho, C. H., Irzyk, G. P., . . . Rothberg, J. M. (2005). Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437(7057), 376–380. <https://doi.org/10.1038/nature03959>
- Moll, U. M. & Petrenko, O. (2003). The MDM2-p53 interaction. *Molecular cancer research : MCR*, 1(14), 1001–1008.
- Muller, P. A. J. & Vousden, K. H. (2014). Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities. *Cancer cell*, 25(3), 304–317. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.01.021>
- Newcomb, E. W., Madonia, W. J., Pisharody, S., Lang, F. F., Koslow, M. & Miller, D. C. (1993). A correlative study of p53 protein alteration and p53 gene mutation in glioblastoma multiforme. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 3(3), 229–235. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1993.tb00749.x>
- Nie, E., Jin, X., Wu, W., Yu, T., Zhou, X., Zhi, T., Shi, Z., Zhang, J [Junxia], Liu, N. & You, Y. (2016). BACH1 Promotes Temozolomide Resistance in Glioblastoma through Antagonizing the Function of p53. *Scientific reports*, 6, 39743. <https://doi.org/10.1038/srep39743>
- Ohgaki, H. & Kleihues, P. (2013). The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 19(4), 764–772. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-3002>
- Okada, Y., Hurwitz, E. E., Esposito, J. M., Brower, M. A., Nutt, C. L. & Louis, D. N. (2003). Selection pressures of TP53 mutation and microenvironmental location influence

- epidermal growth factor receptor gene amplification in human glioblastomas. *Cancer research*, 63(2), 413–416.
- Olafson, L. R., Gunawardena, M., Nixdorf, S., McDonald, K. L. & Rapkins, R. W. (2020). The role of TP53 gain-of-function mutation in multifocal glioblastoma. *Journal of neuro-oncology*, 147(1), 37–47. <https://doi.org/10.1007/s11060-019-03318-5>
- Olivier, M., Goldgar, D. E., Sodha, N., Ohgaki, H., Kleihues, P., Hainaut, P. & Eeles, R. A. (2003). Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype. *Cancer research*, 63(20), 6643–6650.
- Ostrom, Q. T., Cioffi, G., Gittleman, H., Patil, N., Waite, K., Kruchko, C. & Barnholtz-Sloan, J. S. (2019). CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016. *Neuro-oncology*, 21(5), V1-V100. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz150>
- Pardo, F. S., Hsu, D. W., Zeheb, R., Efird, J. T., Okunieff, P. G. & Malkin, D. (2004). Mutant, wild type, or overall p53 expression: freedom from clinical progression in tumours of astrocytic lineage. *British journal of cancer*, 91(9), 1678–1686. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602161>
- Pareek, C. S., Smoczynski, R. & Tretyn, A. (2011). Sequencing technologies and genome sequencing. *Journal of applied genetics*, 52(4), 413–435. <https://doi.org/10.1007/s13353-011-0057-x>
- Parsons, D. W., Jones, S., Zhang, X., Lin, J. C.-H., Leary, R. J., Angenendt, P., Mankoo, P., Carter, H., Siu, I.-M., Gallia, G. L., Olivi, A., McLendon, R., Rasheed, B. A., Keir, S., Nikolskaya, T., Nikolsky, Y., Busam, D. A., Tekleab, H., Diaz, L. A., . . . Kinzler, K. W. (2008). An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science (New York, N.Y.)*, 1807–1812. <https://doi.org/10.1126/science.1164382>
- Patil, C. G., Yi, A., Elramsisy, A., Hu, J., Mukherjee, D., Irvin, D. K., Yu, J. S., Bannykh, S. I., Black, K. L. & Nuño, M. (2012). Prognosis of patients with multifocal glioblastoma: a case-control study. *Journal of neurosurgery*, 117(4), 705–711. <https://doi.org/10.3171/2012.7.JNS12147>
- Peller, S. & Rotter, V. (2003). TP53 in hematological cancer: low incidence of mutations with significant clinical relevance. *Human mutation*, 21(3), 277–284. <https://doi.org/10.1002/humu.10190>

- Peraud, A., Kreth, F. W., Wiestler, O., Kleihues, P. & Reulen, H.-J. (2002). Prognostic impact of TP53 mutations and P53 protein overexpression in supratentorial WHO grade II astrocytomas and oligoastrocytomas. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 8(5), 1117–1124.
- Petitjean, A., Achatz, M. I. W., Børresen-Dale, A.-L., Hainaut, P. & Olivier, M. (2007). TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene*, 26(15), 2157–2165. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210302>
- Pillai, G., Roberts, H., Gatter, K. & Pezzella, F. (2003). p53 expression in normal paraffin-embedded tissue using different antibodies and antigen retrieval buffer systems. *Histopathology*, 42(1), 83–87. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2559.2003.01563.x>
- Reich, N. C. & Levine, A. J. (1984). Growth regulation of a cellular tumour antigen, p53, in nontransformed cells. *Nature*, 308(5955), 199–201. <https://doi.org/10.1038/308199a0>
- Reuss, D. E., Sahm, F., Schrimpf, D., Wiestler, B., Capper, D., Koelsche, C., Schweizer, L., Korshunov, A., Jones, D. T. W., Hovestadt, V., Mittelbronn, M., Schittenhelm, J., Herold-Mende, C., Unterberg, A., Platten, M., Weller, M., Wick, W., Pfister, S. M. & Deimling, A. von (2015). ATRX and IDH1-R132H immunohistochemistry with subsequent copy number analysis and IDH sequencing as a basis for an "integrated" diagnostic approach for adult astrocytoma, oligodendroglioma and glioblastoma. *Acta Neuropathologica*, 129(1), 133–146. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1370-3>
- Roshandel, A. K., Busch, C. M., Van Mullekom, J., Cuoco, J. A., Rogers, C. M., Apfel, L. S., Marvin, E. A., Sontheimer, H. W. & Umans, R. A. (2019). The predictive capability of immunohistochemistry and DNA sequencing for determining TP53 functional mutation status: a comparative study of 41 glioblastoma patients. *Oncotarget*, 10(58), 6204–6218.
- Ruano, Y., Ribalta, T., Lope, A. R. de, Campos-Martín, Y., Fiaño, C., Pérez-Magán, E., Hernández-Moneo, J.-L., Mollejo, M. & Meléndez, B. (2009). Worse outcome in primary glioblastoma multiforme with concurrent epidermal growth factor receptor and p53 alteration. *American journal of clinical pathology*, 131(2), 257–263. <https://doi.org/10.1309/AJCP64YBDVCTIRWV>
- Saxena, A., Clark, W. C., Robertson, J. T., Ikejiri, B., Oldfield, E. H. & Ali, I. U. (1992). Evidence for the involvement of a potential second tumor suppressor gene on chromosome 17 distinct from p53 in malignant astrocytomas. *Cancer research*, 52(23), 6716–6721.

- Schendera, C. F. G. (2008). *Regressionsanalyse mit SPSS* (1. Aufl.). Oldenbourg.
- Schiffer, D., Cavalla, P., Di Sapio, A., Giordana, M. T. & Mauro, A. (1995). Mutations and immunohistochemistry of p53 and proliferation markers in astrocytic tumors of childhood. *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*, 11(9), 517–522. <https://doi.org/10.1007/BF00822841>
- Shao, L.-W., Pan, Y., Qi, X.-L., Li, Y.-X., Ma, X.-L., Yi, W.-N., Zhang, J [Jing], Zhong, Y.-F. & Chang, Q. (2016). ATRX loss in adult supratentorial diffuse astrocytomas correlates with p53 over expression and IDH1 mutation and predicts better outcome in p53 accumulated patients. *Histology and histopathology*, 31(1), 103–114. <https://doi.org/10.14670/HH-11-664>
- Shen, S., Bai, Y., Zhang, B., Liu, T., Yu, X. & Feng, S. (2020). Correlation of preoperative seizures with a wide range of tumor molecular markers in gliomas: An analysis of 442 glioma patients from China. *Epilepsy research*, 166, 106430. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106430>
- Shiraishi, S., Tada, K., Nakamura, H., Makino, K., Kochi, M., Saya, H., Kuratsu, J. & Ushio, Y. (2002). Influence of p53 mutations on prognosis of patients with glioblastoma. *Cancer*, 95(2), 249–257. <https://doi.org/10.1002/cncr.10677>.
- Simmons, M. L., Lamborn, K. R., Takahashi, M., Chen, P., Israel, M. A., Berger, M. S., Godfrey, T., Nigro, J., Prados, M., Chang, S. M., Barker, F. G. & Aldape, K. D. (2001). Analysis of complex relationships between age, p53, epidermal growth factor receptor, and survival in glioblastoma patients. *Cancer research*, 61(3), 1122–1128.
- Ständer, M., Peraud, A., Leroch, B. & Kreth, F. W. (2004). Prognostic impact of TP53 mutation status for adult patients with supratentorial World Health Organization Grade II astrocytoma or oligoastrocytoma: a long-term analysis. *Cancer*, 101(5), 1028–1035. <https://doi.org/10.1002/cncr.20432>
- Stupp, R. & Hegi, M. E. (2017). Sinnvolle Biomarker zur Diagnose und Therapiewahl von Gliomen. *pipette - Swiss Laboratory Medicine*(Nr. 2), 18–21.
- Stupp, R., Hegi, M. E., Mason, W. P., van den Bent, M. J., Taphoorn, M. J. B., Janzer, R. C., Ludwin, S. K., Allgeier, A., Fisher, B., Belanger, K., Hau, P., Brandes, A. A., Gijtenbeek, J., Marosi, C., Vecht, C. J., Mokhtari, K., Wesseling, P., Villa, S., Eisenhauer, E., . . . Mirimanoff, R.-O. (2009). Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a

- randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *The Lancet Oncology*, 10(5), 459–466. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70025-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70025-7)
- Stupp, R., Mason, W. P., van den Bent, M. J., Weller, M., Fisher, B., Taphoorn, M. J. B., Belanger, K., Brandes, A. A., Marosi, C., Bogdahn, U., Curschmann, J., Janzer, R. C., Ludwin, S. K., Gorlia, T., Allgeier, A., Lacombe, D., Cairncross, J. G., Eisenhauer, E. & Mirimanoff, R.-O. (2005). Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *The New England journal of medicine*, 352(10), 987–996. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043330>
- Stupp, R., Taillibert, S., Kanner, A. A., Read, W., Steinberg, D. M., Lhermitte, B., Toms, S. A., Idbaih, A., Ahluwalia, M. S., Fink, K. L., Di Meco, F., Lieberman, F., Zhu, J.-J., Stragliotto, G., Tran, D. D., Brem, S., Hottinger, A. F., Kirson, E. D., Lavy-Shahaf, G., . . . Ram, Z. (2017). Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 318(23), 2306–2316. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.18718>
- Syed, M., Liermann, J., Verma, V., Bernhardt, D., Bougatf, N., Paul, A., Rieken, S., Debus, J. & Adeberg, S. (2018). Survival and recurrence patterns of multifocal glioblastoma after radiation therapy. *Cancer management and research*, 10, 4229–4235. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S165956>
- Takami, H., Yoshida, A., Fukushima, S., Arita, H., Matsushita, Y., Nakamura, T., Ohno, M., Miyakita, Y., Shibui, S., Narita, Y. & Ichimura, K. (2015). Revisiting TP53 Mutations and Immunohistochemistry--A Comparative Study in 157 Diffuse Gliomas. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 25(3), 256–265. <https://doi.org/10.1111/bpa.12173>
- Tashiro, H., Isacson, C., Levine, R., Kurman, R. J., Cho, K. R. & Hedrick, L. (1997). p53 gene mutations are common in uterine serous carcinoma and occur early in their pathogenesis. *The American journal of pathology*, 150(1), 177–185.
- Tate, J. G., Bamford, S., Jubb, H. C., Sondka, Z., Beare, D. M., Bindal, N., Boutselakis, H., Cole, C. G., Creatore, C., Dawson, E., Fish, P., Harsha, B., Hathaway, C., Jupe, S. C., Kok, C. Y., Noble, K., Ponting, L., Ramshaw, C. C., Rye, C. E., . . . Forbes, S. A. (2019). COSMIC: the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer. *Nucleic acids research*, 47(D1), D941–D947. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1015>

- Tidow, H., Melero, R., Mylonas, E., Freund, S. M. V., Grossmann, J. G., Carazo, J. M., Svergun, D. I., Valle, M. & Fersht, A. R. (2007). Quaternary structures of tumor suppressor p53 and a specific p53 DNA complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(30), 12324–12329. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705069104>
- Tolbert, D. M., Noffsinger, A. E., Miller, M. A., DeVoe, G. W., Stemmermann, G. N., MacDonald, J. S. & Fenoglio-Preiser, C. M. (1999). p53 immunoreactivity and single-strand conformational polymorphism analysis often fail to predict p53 mutational status. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 12(1), 54–60.
- Vogelstein, B. & Kinzler, K. W. (1992). p53 function and dysfunction. *Cell*, 70(4), 523–526. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90421-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90421-8)
- Vojtěšek, B., Bártek, J., Midgley, C. A. & Lane, D. P. (1992). An immunochemical analysis of the human nuclear phosphoprotein p53. *Journal of Immunological Methods*, 151(1-2), 237–244. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(92\)90122-a](https://doi.org/10.1016/0022-1759(92)90122-a)
- Walker, C., Joyce, K. A., Thompson-Hehir, J., Davies, M. P. A., Gibbs, F. E. M., Halliwell, N., Lloyd, B. H., Machell, Y., Roebuck, M. M., Salisbury, J., Sibson, D. R., Du Plessis, D., Broome, J. & Rossi, M. L. (2001). Characterisation of molecular alterations in microdissected archival gliomas. *Acta Neuropathologica*, 101(4), 321–333. <https://doi.org/10.1007/s004010000259>
- Wang, X [Xiang], Chen, J., Liu, Y [Yan-hui], You, C. & Mao, Q. (2013). Mutant TP53 enhances the resistance of glioblastoma cells to temozolomide by up-regulating O(6)-methylguanine DNA-methyltransferase. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 34(8), 1421–1428. <https://doi.org/10.1007/s10072-012-1257-9>
- Watanabe, K., Sato, K., Biernat, W., Tachibana, O., Ammon, K. von, Ogata, N., Yonekawa, Y., Kleihues, P. & Ohgaki, H. (1997). Incidence and timing of p53 mutations during astrocytoma progression in patients with multiple biopsies. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 3(4), 523–530.
- Watanabe, K., Tachibana, O., Sato, K., Yonekawa, Y., Kleihues, P. & Ohgaki, H. (1996). Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the

- evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 6(3), 217-23; discussion 23-4. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1996.tb00848.x>
- Wellcome Sanger Institute. (2022). *COSMIC - Catalogue of Somatic Mutations in Cancer*. <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>
- Weller, M., van den Bent, M. J., Preusser, M., Le Rhun, E., Tonn, J.-C., Minniti, G., Bendzus, M., Balana, C., Chinot, O., Dirven, L., French, P. J., Hegi, M. E., Jakola, A. S., Platten, M., Roth, P., Rudà, R., Short, S., Smits, M., Taphoorn, M. J. B., . . . Wick, W. (2021). EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18(3), 170–186. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-00447-z>
- Wells, M., Tidow, H., Rutherford, T. J., Markwick, P., Jensen, M. R., Mylonas, E., Svergun, D. I., Blackledge, M. & Fersht, A. R. (2008). Structure of tumor suppressor p53 and its intrinsically disordered N-terminal transactivation domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(15), 5762–5767. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801353105>
- Wu, J. K., Ye, Z. & Darras, B. T. (1993). Sensitivity of single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis in detecting p53 point mutations in tumors with mixed cell populations. *American journal of human genetics*, 52(6), 1273–1275.
- Xue, Y., San Luis, B. & Lane, D. P. (2019). Intratumour heterogeneity of p53 expression; causes and consequences. *The Journal of pathology*, 249(3), 274–285. <https://doi.org/10.1002/path.5328>
- Yan, H., Parsons, D. W., Jin, G., McLendon, R., Rasheed, B. A., Yuan, W., Kos, I., Batinic-Haberle, I., Jones, S., Riggins, G. J., Friedman, H. S., Friedman, A. H., Reardon, D. A., Herndon, J., Kinzler, K. W., Velculescu, V. E., Vogelstein, B. & Bigner, D. D. (2009). IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *The New England journal of medicine*, 360(8), 765–773. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808710>
- Zhang, Y., Dube, C., Gibert, M., Cruickshanks, N., Wang, B., Coughlan, M., Yang, Y., Setiady, I., Deveau, C., Saoud, K., Grello, C., Oxford, M., Yuan, F. & Abounader, R. (2018). The p53 Pathway in Glioblastoma. *Cancers*, 10(9), 1–18. <https://doi.org/10.3390/cancers10090297>